



ORANGE JOURNAL

ISSN: 2710-995X

Periodicidad: semestral

Vol. 3 Num. 6  
Julio - Diciembre  
2021



**PRIMMATE**

# ORANGE JOURNAL

Revista Científica Virtual

## Equipo editorial

Reyber Parra  
Editor en jefe

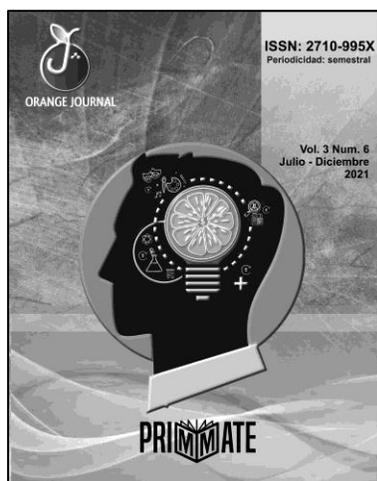


IMAGEN DE PORTADA

Diseño: Julie

Editado por:

**PRIMMATE**

Bogotá - Colombia-Suramerica



# ORANGE JOURNAL

REVISTA CIENTIFICA VIRTUAL

<http://www.orangejournal.info>

VOLUMEN 3, NUMERO 6

## CONTENIDO

- 4-13 Etnofarmacología de plantas medicinales con efectos sedantes en la comunidad Songo, Santiago de Cuba  
*Imilci Urdaneta-Laffita, Lourdes Padró-Rodríguez, Enieyis Tur-Naranjo, Iliana Nápoles-Garzón*
- 14-20 Influencia de la asimetría en el patrón de la marcha en sujetos cubanos  
*Joyce Eduardo Taboada Díaz, Tania Rodríguez Moliner, Carlos Díaz Novo, Maylin Hernández Ricardo*
- 21-33 Análisis de desempeño de segmentación sobre imágenes de muestras de sangre periférica  
*Henry Tomás Brown Grandales, Yaima Paz Soto, Silena Herold García*
- 34-47 Herramienta para la obtención de Patrones de Conectividad Cerebral en Pacientes con Deterioro Cognitivo  
*Roddiel Merino Yan, Miriam Marañón Cardonne, Enrique J. Marañón Reyes, Antonio García Leyva*
- 48-57 Sistema de Transmisión Interhospitalaria de Imágenes Médicas  
*Asday Savón Berenguer, Henry Blanco Lores*
- 58-69 Reformulación y estabilidad de la tintura del fruto de Citrus limon (L.) Osbeck al 20%  
*Georgina Igarza Vázquez, Irina Licea Jiménez, Reynier San Román, Ania Ochoa Pacheco*

**Periodicidad**

Semestral

Creación: Enero de 2019

**Equipo editorial**

Editor en jefe: – PhD. Idelsy Chil Núñez, Universidad de Oriente, Cuba  
 PhD. Julio César Escalona Arranz, Universidad de Oriente, Cuba  
 PhD. Ivette Reyes Hernández, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México  
 PhD. Carlos Manuel Dutok Sánchez, Universidade Federal de Amapá, Brasil  
 PhD. Eduardo Saguier, Washington University, St. Louis, Missouri (USA), Argentina  
 PhD. Reyber Parra, Universidad del Zulia, Venezuela  
 PhD. Ania Ochoa Pacheco, Universidad de Oriente, Cuba

**Comité científico**

PhD. Arelis Ábalos Rodríguez, Universidad de Oriente, Cuba  
 PhD. Isis Betriz Bernúdez Camps, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México  
 PhD. Irma Leonor Ortega López, Universidad de Oriente, Cuba  
 PhD. Janielle da Silva Melo, Universidade Federal de Amapá, Brasil  
 PhD. Niurka Dupotey Varela, Universidad de Oriente, Cuba  
 PhD. Yamilé Heredia Díaz, Universidad de Oriente, Cuba  
 PhD. José Sávio Bicho de Oliveira, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil  
 PhD. Maraelis Morales González, Universidad de Oriente, Cuba  
 PhD. Fabio Rodrigues Trindade, Universidade Federal do Piauí, Brasil  
 PhD. Alina González Marañón, Universidad de Oriente, Cuba  
 PhD. Yunior Ramón Velázquez Labrada, Universidad de Oriente, Cuba

El contenido de los artículos y reseñas publicadas es responsabilidad de los autores y no refleja el punto de vista u opinión de Orange

**Orange Journal está indexada en:**



**Powered by:**



DOI: <https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2021.6.01>

Urdaneta-Laffita, I., Padró-Rodríguez, L., Tur-Naranjo, E., & Nápoles-Garzón, I. (2021). Etnofarmacología de plantas medicinales con efectos sedantes en la comunidad Songo, Santiago de Cuba. *Orange Journal*, 3(6), 4-13. <https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2021.6.01>

## Etnofarmacología de plantas medicinales con efectos sedantes en la comunidad Songo, Santiago de Cuba

### Ethnopharmacology of medicinal plant with sedative effects at Songo community, Santiago de Cuba

Recibido: 22 de octubre de 2021      Aceptado: 15 de diciembre de 2021

Escrito por:

**Urdaneta-Laffita Imilci<sup>1</sup>**

<https://orcid.org/0000-0002-5047-5771>

**Padró-Rodríguez Lourdes<sup>2</sup>**

<https://orcid.org/0000-0002-1256-8547>

**Tur-Naranjo Enieyis<sup>3</sup>**

<https://orcid.org/0000-0003-4626-1962>

**Nápoles-Garzón Iliana<sup>4</sup>**

<https://orcid.org/0000-0002-8764-2350>

#### Resumen

En los últimos años la medicina tradicional ha recibido un gran impulso, sobre todo el estudio de las plantas medicinales. En nuestro país se hace cada vez más creciente el uso de plantas medicinales resultando aún insuficiente la información etnofarmacológica que conduzca a la identificación de aquellas especies vegetales con potencialidades para la búsqueda de nuevos principios activos con propiedades sedantes. El objetivo de este estudio fue caracterizar el estado actual de la utilización de plantas medicinales con efectos sedantes en la comunidad Songo del municipio Songo- La Maya, provincia de Santiago de Cuba. Se entrevistaron 200 personas. Se identificaron las especies vegetales más empleadas por la población, efectuándose el cálculo de los índices de valor de uso y nivel de uso significativo. Se reportaron un total de 10 plantas medicinales empleadas en la comunidad como sedantes, siendo las hojas la parte de la planta más utilizada, en estado fresco mayormente. La forma de preparación más reportada fue la infusión. Las plantas con mayores índices de valor de uso y mayor nivel de uso significativo fueron *Ocimum tenuiflorum* L., *Justicia pectoralis* Jacq. y *Lawsonia inermis* L. Estas especies son una fuente potencial para dar continuidad a los estudios, con la finalidad de desarrollar nuevas alternativas terapéuticas.

**Palabras clave:** efecto sedante; etnofarmacología; índices etnobotánicos; plantas medicinales; usos tradicionales.

#### Abstract

In the last years, traditional medicine have been rise up significantly, especially about the study of medicinal plants. In Cuba, growing usage of phytomedicinal resources is not yet correlated with enough ethnopharmacological information which leads to the identification of relevant vegetables species with potentialities in the search of new active principles with sedative properties. The objective of this study was to characterize the current state of the use of medicinal plants with sedative effects in the community Songo in the municipality Songo - La Maya, Santiago de Cuba province. 200 people were interviewed. Plant species most used by the population, carrying out the calculation of the index value in use and significant

<sup>1</sup> MSc. Universidad de Oriente, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Farmacia, Santiago de Cuba, Cuba.

<sup>2</sup> MSc. Universidad de Oriente, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Farmacia, Santiago de Cuba, Cuba.

<sup>3</sup> MSc. Universidad de Oriente, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Farmacia, Santiago de Cuba, Cuba.

<sup>4</sup> Lic. Universidad de Oriente, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Departamento de Farmacia, Santiago de Cuba, Cuba.

level of use were identified. A total of 10 medicinal plants used in the community as sedatives were reported, the leaves being the part of the plant most used, mainly in fresh state. The most reported preparation form was infusion. Plants with higher rates of use value and more significant level of use were *Ocimum tenuiflorum* L., *Justicia pectoralis* Jacq. y *Lawsonia inermis* L. These species constituting a potential source to provide continuity to studies in order to develop new therapeutic alternatives.

**Key Words:** ethnobotanical indices; ethnopharmacology; medicinal plants; sedative effect, traditional uses.

## Introducción

Durante las últimas décadas la utilización de las plantas medicinales y productos que se originan de ellas se han extendido en el mundo y han ganado una gran popularidad, sin embargo, muy pocas especies y productos se han estudiado con fines médicos y un número menor cuenta con estudios realizados sobre su seguridad, eficacia y calidad (González, Ramírez y Jacobo, 2007; Khajoei y Reza, 2014).

La búsqueda de compuestos activos a partir de especies vegetales y con efectos sedante, hipnótico o ansiolítico, constituye una de las principales alternativas para el tratamiento de diversas afecciones del sistema nervioso y a su vez, un valioso aporte a la tarea de evaluar el uso de nuestra flora medicinal. Sin embargo, el uso popular de estas plantas medicinales sin un sustento científico, puede propiciar grandes efectos dañinos en la vida humana, ya que no se asegura la eficacia y seguridad que se requiere para la aplicación terapéutica de estas especies vegetales que, aunque puedan aliviar diversas afecciones en el sistema nervioso, también pueden conllevar a la aparición de reacciones adversas e intoxicaciones o hasta producir la muerte; por otro lado, es evidente que el consumo de plantas medicinales con efectos sedantes por nuestra población está en aumento a causa del estrés tanto laboral, social y emocional, que pueden provocar problemas de salud físico y mental, y otras como las enfermedades cardíacas, gastrointestinales y la hipertensión arterial (Del Hoyo, 2004).

Tomando en consideración lo expuesto anteriormente se hace necesario incrementar la búsqueda de información sobre el uso de plantas medicinales con efectos sedantes en una comunidad del municipio Songo - La Maya, provincia Santiago de Cuba, con vistas a conocer el estado actual del uso tradicional de dichas especies, y al desarrollo de futuras investigaciones dirigidas a la búsqueda de compuestos activos para ser usados como alternativas terapéuticas, por lo que el objetivo de la presente investigación es caracterizar el uso de plantas medicinales con efectos sedantes en una comunidad del municipio Songo-La Maya, provincia Santiago de Cuba.

## Marco teórico

**Etnofarmacología:** Es considerada como el estudio científico de los usos tradicionales de plantas y otros organismos con fines médicos. La Etnofarmacología es un concepto surgido en la década de los 60's en el ámbito de los agentes psicoactivos definiéndose como "La exploración interdisciplinaria de los agentes biológicos activos tradicionalmente empleados por el hombre" (Schultes and Reis, 1995, p. 14-27). La Etnofarmacología es una ciencia interdisciplinaria, ya que abarca la identificación, la descripción, la observación e investigación experimental de los efectos de las drogas utilizadas en la medicina tradicional, así como, el estudio fitoquímico que es muy importante para aislar los compuestos activos presentes en las plantas". Esta ciencia va a depender de mitos o leyendas, formando parte de las costumbres y tradiciones, que en conjunto constituyen el folklore de un pueblo (Dorado, 2020).

**Indicadores etnobotánicos cuantitativos:** El análisis de los indicadores en la etnobotánica permiten una mayor precisión en la búsqueda y selección de las especies candidatas para la obtención de productos bioactivos, a partir de la información del uso tradicional de las plantas medicinales obtenida de primera mano (Martínez, Arena y Barboza, 2007). Existen diferentes indicadores empleados principalmente en las regiones tropicales como el índice de valor de uso (IVU) y el nivel de uso significativo (NUS), aunque se utilizan otros (Marín, Cárdenas y Suárez, 2005).

**Índice de valor de uso:** Este índice expresa la importancia o valor cultural de una especie determinada para todos los entrevistados

**Nivel de uso significativo:** Plantea que aquellos usos medicinales que son citados con una frecuencia superior o igual al 20%, por los entrevistados que usan plantas como primer recurso para un determinado problema de salud, pueden considerarse significativos desde el punto de vista de su aceptación cultural y, merecen su evaluación y validación científica (Bermúdez, Bravo, Abreu y Kanga, 2019).

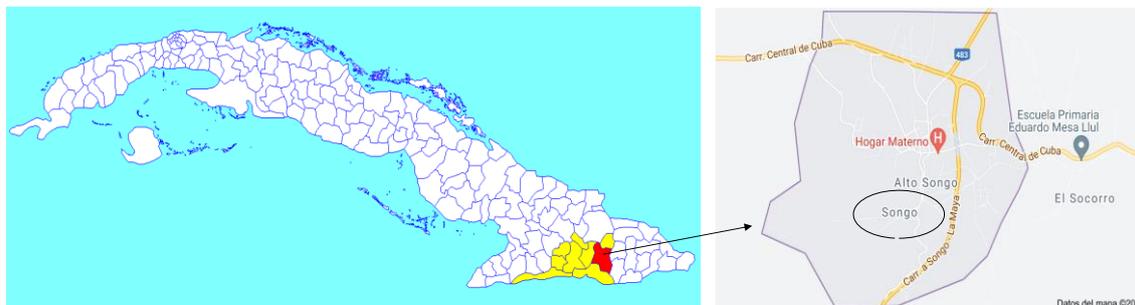
## Metodología

### Características de la investigación

Se realizó un estudio etnofarmacológico de plantas medicinales con efectos sedantes, en el período comprendido entre los meses de febrero a mayo del 2018 en la comunidad “Songo”, perteneciente al municipio Songo-La Maya, provincia Santiago de Cuba, Cuba.

### Ubicación del Municipio Songo – La Maya

El municipio Songo-La Maya se encuentra ubicado en el extremo sur del Valle Central y la Vertiente meridional de la Sierra Maestra, en su sección Gran Piedra. Limita al Norte con el municipio Segundo Frente, al Sur con el Municipio Santiago de Cuba, al Este con los municipios El Salvador y Niceto Pérez en la provincia de Guantánamo y al Oeste con el municipio San Luis. Se encuentra a una distancia de la cabecera provincial a 29 km, y 973 km de Ciudad de La Habana (ONEI, 2019). La figura 1 muestra la ubicación geográfica de la Comunidad “Songo”, perteneciente al municipio Songo – La Maya, provincia Santiago de Cuba.



**Figura 1.** Ubicación geográfica del área de estudio, comunidad “Songo” del municipio Songo– La Maya, provincia Santiago de Cuba. Tomado del archivo: Songo-La Maya (Google Maps, 2021).

### Universo y muestra de estudio

El universo de estudio estuvo compuesto por los pobladores de la comunidad Songo, del municipio Songo – La Maya, Santiago de Cuba. La muestra fue seleccionada a través de un muestreo no probabilístico, constituida por personas de ambos sexos, mayores de 20 años, incluyendo a trabajadores, jubilados, amas de casas, yerberos y conocedores de plantas medicinales en el área de estudio. Siempre teniendo en cuenta que los informantes dieran su consentimiento para colaborar con la investigación.

### Recolección e identificación taxonómica de las especies vegetales

El material vegetal se recolectó en la comunidad “Songo” del municipio Songo-La Maya. La identificación taxonómica se realizó por especialistas del Centro Oriental de Ecosistemas y Biodiversidad (BIOECO), provincia Santiago de Cuba.

### Recogida de la información

La información se obtuvo mediante una entrevista apoyada de una encuesta semiestructurada establecida por el Programa de Investigación aplicada a la Medicina Popular del Caribe (TRAMIL, 2018), con algunas modificaciones que responde a los objetivos de este estudio.

### Procesamiento de la información

La muestra de estudio fue caracterizada atendiendo a la distribución del número total de entrevistados por sexo y edad, nivel de escolaridad, ocupación y conocimiento de las plantas medicinales con efecto sedante. Las plantas colectadas fueron clasificadas y agrupadas por familia y nombre científico. Se determinaron las partes de las plantas, estado o forma de utilización, así como, los métodos de preparación, vía de administración y los usos medicinales de las plantas informadas.

### Cálculo de indicadores etnobotánicos cuantitativos:

Para el análisis cuantitativo se determinaron los índices etnobotánicos: índice de valor de uso (IVU) y nivel de uso significativo (NUS), los cuales se relacionan a continuación.

**Índice de valor de uso (IVU):** El cálculo se realizó para cada una de las especies vegetales, según la metodología propuesta por Phillips (1996).

$$IVUs = \Sigma Uvis / Nis$$

Donde: *Uvis*: número de usos mencionados por cada informante (i) por cada especie (s).

*Nis*: número de informantes entrevistados

**Nivel de uso significativo (NUS):** Para estimar el Nivel de uso significativo para cada especie y verificar su aceptación cultural, se utilizó la metodología propuesta por Germosén-Robineau (1995).

$$NUS = Uso especie (s) \times 100 / Nis$$

Donde: *Uso especie (s)*: número de citas para cada especie.

*Nis*: número de informantes entrevistados.

## Resultados

### Características sociodemográficas de la muestra de estudio

La muestra quedó conformada por 200 pobladores de la comunidad Songo, de ellos 116 pertenecen al sexo femenino (58%) y 84 al masculino (42%). Los entrevistados fueron distribuidos en seis grupos etarios (1) 20-30, (2) 31-40, (3) 41-50, (4) 51-60, (5) 61-70 y (6) >70 años, predominando el grupo con edades comprendidas entre los 51-60 años con 53 personas. Prevalen el nivel escolar de Bachiller y los trabajadores representando el 29% y 42% respectivamente, en el total de los entrevistados.

### Recolección e identificación de las plantas informadas

Fueron informadas por los entrevistados un total de 10 especies vegetales para fines medicinales, específicamente como sedantes. Las mismas fueron identificadas taxonómicamente corroborándose que las plantas informadas se correspondían con las clasificadas por el taxónomo.

### Comportamiento del conocimiento y uso de las plantas medicinales con efecto sedante

Del total de entrevistados, 161 personas resultaron conocedores de plantas medicinales con efectos sedantes representando el 80,5%. De este grupo de conocedores, se encontró que sólo 130 de ellos (81,36 %) las utilizan para dicho efecto terapéutico.

### Reportes de plantas con efectos sedantes y sus usos

A partir de las entrevistas realizadas se obtuvo información de 10 especies vegetales empleadas con fines sedantes, distribuidas en siete familias. La familia Lamiaceae fue la más representada con tres especies, seguida de la Asteraceae para la cual se reportaron dos. En la Tabla 1 se presenta la información referida al nombre científico, familia botánica, nombre común, además de los usos reportados para las especies reportadas.

**Tabla 1.**

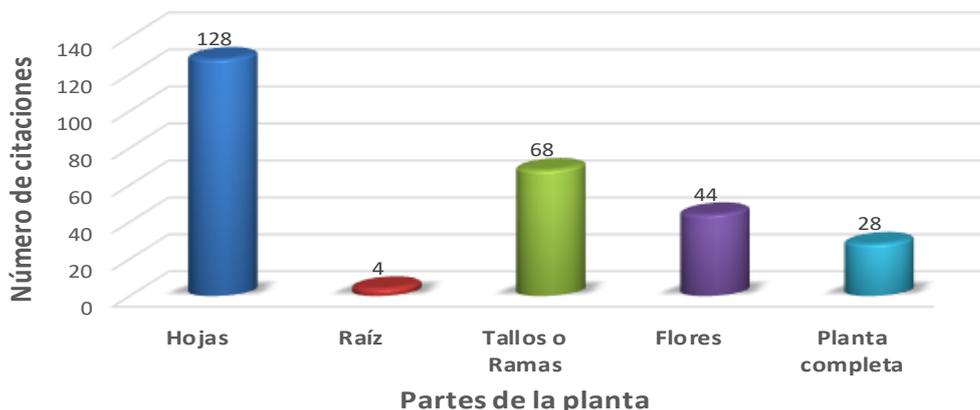
*Plantas medicinales reportadas por los entrevistados.*

Nombre científico	Familia	Nombre común	Usos
<i>Justicia pectoralis</i> Jacq.	Acanthaceae	Carpintero o Tilo	Sedante, para tratar el insomnio, digestivo e inmuno estimulante.
<i>Pluchea carolinensis</i> (Jacq.) D.Don.	Asteraceae	Salvia	Inflamación, para tratar infecciones en la garganta, y los desórdenes digestivos.
<i>Matricaria chamomilla</i> L.	Asteraceae	Manzanilla	Sedante, para la inflamación y cicatrizante.
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Lamiaceae	Albahaca blanca	Sedante, dolor de cabeza y para el insomnio.
<i>Ocimum tenuiflorum</i> L.	Lamiaceae	Albahaca morada	Sedante, bajar la presión, digestiva, dolor de cabeza, bajar fiebre, inflamación y para el insomnio.
<i>Plectranthus hadiensis</i> (Forssk.) Schweinf. Ex Sprenger	Lamiaceae	Meprobamato	Sedante.
<i>Lawsonia inermis</i> L.	Lythraceae	Resedá	Sedante.
<i>Passiflora rubra</i> L.	Passifloraceae	Pasiflora	Sedante, para el dolor, infecciones, ayudar la función del corazón y digestiva.
<i>Eragrostis unioloides</i> (Retz.) Nees & Meyen	Poaceae	Lloviznita o frescura	Sedante y para el insomnio.
<i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E. Br. ex Britton & P. Wilson	Verbenaceae	Menta	Sedante, relajante muscular, para el dolor, desórdenes digestivos y laxante.

Fuente: Elaborado por los autores

### Partes de las plantas, estado o forma de utilización, métodos de preparación y vías de administración

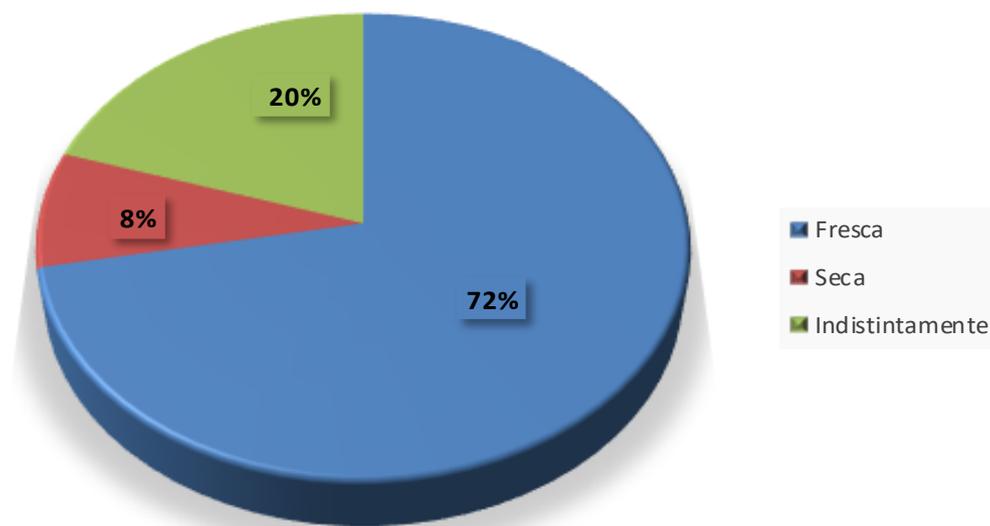
Las partes de las plantas empleadas con fines medicinales se muestran en la figura 2. Se puede observar que la parte más citada por la población resultó ser las hojas, con un total de 128 citaciones; en orden decreciente le siguieron los tallos o ramas, las flores, la planta completa y la raíz con números de citaciones de 68, 44, 28 y 4 respectivamente.



**Figura 2.** Partes de las plantas empleadas.

Fuente: Elaborado por los autores

En cuanto al estado o forma de utilización de las plantas medicinales citadas por los entrevistados, se evidencia que la más común se corresponde con el uso del material vegetal en estado fresco (72%), indistintamente el 20% y sólo un 8% lo utiliza en estado seco, según se muestra en la figura 3.



**Figura 3.** Forma de utilización de las plantas.

Fuente: Elaborado por los autores

Los métodos de preparación de las plantas medicinales que resultaron ser mayormente empleadas por la comunidad “Songo” fueron la infusión y la decocción, representando el 52% y el 48%, respectivamente. Empleándose como única vía de administración la oral.

Atendiendo a la cantidad administrada del medicamento herbario por los entrevistados, se detectó gran variedad en las unidades de medida de consumo de la preparación los cuales lo realizan de forma empírica sin una medida establecida, refiriendo principalmente una a dos tazas o medio vaso, con frecuencias de administración de una a tres veces al día.

De las 130 personas que usaban o consumían los preparados medicinales a partir de las especies vegetales, 74 personas (56,92%) la utilizaban principalmente en períodos de crisis de la enfermedad y 56 (43,08%) por tiempo indefinido.

## Indicadores cuantitativos

### Índice de valor de uso (IVU) y nivel de uso significativo (NUS)

En la Tabla 2 se muestran las especies citadas por la población con efectos sedantes, y los índices de uso calculados para cada planta. En el presente estudio, solo 3 de las 10 especies reportadas obtuvieron valores por encima del 20 % del NUS que se corresponden a *Ocimum tenuiflorum* L (39%), *Justicia pectoralis* Jacq. (35 %) y *Lawsonia inermis* L. (21 %).

**Tabla 2.**

*Especies citadas por la población con efectos sedantes, y los índices de uso calculados para cada planta.*

Nombre científico	Nombre común	No. Citaciones	IVU	NUS (%)
<i>Justicia pectoralis</i> Jacq.	Carpintero o Tilo	70	0,35	35
<i>Pluchea carolinensis</i> (Jacq.) D.Don.	Salvia	2	0,01	1
<i>Matricaria chamomilla</i> L.	Manzanilla	4	0,02	2
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Albahaca blanca	14	0,07	7
<i>Ocimum tenuiflorum</i> L.	Albahaca morada	78	0,39	39
<i>Plectranthus hadiensis</i> (Forssk.) Schweinf. Ex Sprenger	Meprobamato	31	0,155	15,5
<i>Lawsonia inermis</i> L.	Resedá	42	0,21	21
<i>Passiflora rubra</i> L.	Pasiflora	19	0,095	9,5
<i>Eragrostis uniolooides</i> (Retz.) Neesex Steud.	Lloviznita o frescura	35	0,175	17,5
<i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E. Br. Ex Britton & P. Wilson	Menta	17	0,085	8,5

Fuente: Elaborado por los autores

## Discusión

Al estudiar el comportamiento del conocimiento y uso de las plantas medicinales con efectos sedantes en la muestra de estudio, se observó que en esta región o comunidad existe una elevada cultura acerca del manejo y uso de plantas medicinales para el tratamiento de las enfermedades nerviosas, principalmente la ansiedad y el insomnio. Este nivel cultural pudo estar influenciado por las condiciones económicas excepcionales en la que se encontraba el país en la década de los 90, lo que propició a un mayor uso de la medicina natural como vía alternativa para la cura de diversas enfermedades (Soto, 2002). La difusión de este conocimiento permite que los pobladores tengan acceso al mismo en su propia región, y que se generalice en las distintas comunidades, a fin de que su uso se difunda y con ello la necesidad de preservar las especies en las fincas y en los huertos familiares (Escamilla y Moreno, 2015).

La representatividad de las familias Lamiaceae y Asteraceae con tres y dos especies cada una, respectivamente, coincide con los estudios etnobotánicos realizados en Holguín por Heredia et al. (2018), y en Camagüey por Beyra et al. (2004); mientras que Acanthaceae, Lythraceae, Passifloraceae, Poaceae y Verbenaceae se observaron, con resultados similares, en estudios llevados a cabo en otras regiones de Cuba (Hernández y Volpato, 2004; Pérez et al., 2011; Escalona, Tase, Estrada y Almaguer, 2015). Estos resultados demuestran la diversidad de especies medicinales que abundan en el área de estudio y que los habitantes de la comunidad las utilizan por sus propiedades medicinales en el tratamiento de las enfermedades.

En general se informaron 10 especies usadas como sedantes, sin embargo, sólo tres de ellas (tilo, manzanilla y pasiflora) se encuentran incluidas en el Formulario Nacional de Fitofármacos y Apifármacos del Ministerio de Salud Pública de la República de Cuba (MINSAP, 2014), para tratar esta afección nerviosa cuya actividad biológica ha sido demostrada. La especie albahaca blanca fue excluida de este formulario

en el año 2010, por existir reportes de mutagenicidad y citotoxicidad moderada (García, Vizoso, Ramos y Piloto, 2020), por lo que se hace necesario alertar a las autoridades sanitarias acerca del uso frecuente de esta especie por parte de la población. El resto de las plantas medicinales citadas carecen de comprobación experimental para la actividad sedante, aunque su uso tradicional para este fin se encuentra reportado en la literatura (Beyra et al., 2004; Hernández y Volpato, 2004; Roig, 2012; Heredia et al., 2018).

Además del uso sedante de las plantas, se reportan otros fundamentalmente para tratar el insomnio, los problemas digestivos, dolores en general e inflamaciones. Con menor frecuencia se encuentran los usos como laxante, relajante muscular, cicatrizante, inmunoestimulante, ayudar la función del corazón y tratar las infecciones, bajar la presión y la fiebre. Estos usos medicinales están en correspondencia con lo consultado en la literatura especializada para cada una de las especies citadas (Beyra et al., 2004; Hernández y Volpato, 2004; Carmona, López, González, Fernández, Barzaga, 2009; Zambrano, Buenaño, Mancera y Jiménez, 2015; Heredia et al., 2018).

Resulta común que las hojas constituyan el órgano de la planta más utilizada por los entrevistados. Este resultado pudiera estar asociado a que las hojas es la parte de la planta más abundante, asequible y que se regenera más rápido, contribuyendo a la preservación de las especies vegetales (Fuentes, 1981). Este resultado coincide con el estudio etnobotánico realizado por Chilquillo, Albán y Muñoz (2018), donde reportan que las hojas era la parte de la planta usada con mayor frecuencia por los pobladores de varias comunidades del Amazonas. Así mismo en el estudio llevado a cabo por Jiménez et al (2019), se hace referencia que la parte de la planta más empleada en la preparación de tratamientos medicinales correspondió a las hojas, en el área estudiada. El trabajo realizado por Rodríguez, Fuentes, Morales, Villate y Carmona, (2007), sobre un inventario florístico de plantas medicinales a través de entrevistas efectuadas a los pobladores del municipio San Luis, provincia de Pinar del Río, también reportaron las hojas seguida de los tallos como partes de las plantas más utilizadas por los entrevistados.

Con respecto al estado en que son utilizadas las plantas, se evidenció que es el fresco el que prevalece. Esto coincide con lo planteado por Martínez, Yesid y Cáceres (2000) y Rodríguez et al., (2007), los que opinan que las plantas medicinales se pueden utilizar en estado fresco, aunque el clima tropical húmedo de Cuba permite su colecta durante todo el año sin necesidad de secado. Por otra parte, es bueno resaltar que la población acostumbra a emplear las plantas medicinales en estado fresco, luego de su colecta, y no a realizar procesos de secado previo a su consumo, por su fácil accesibilidad (Claus y Tyler, 1989).

Atendiendo a la forma de preparación y vía de administración más empleada, prevaleció la infusión; siendo la vía oral la de mayor reporte. La infusión es considerada como uno de los métodos usualmente reportados en la literatura para la obtención de preparados o extractos de origen vegetal. Beyra, et al., (2004) realizaron un estudio en siete comunidades de la provincia de Camagüey, Cuba, sobre el uso popular e indicaciones de plantas medicinales, reportándose la decocción y la infusión como los métodos más comunes de preparación de los medicamentos herbarios; estos resultados, concuerdan además con los reportados por Pérez, et al., (2011) respecto a la forma de obtención de plantas medicinales.

Las especies con un valor de nivel de uso significativo (NUS) por encima del 20%, (*Ocimum tenuiflorum* L., *Justicia pectoralis* Jacq. y *Lawsonia inermis* L) refleja la importancia que tienen las mismas como productos alternativos en el tratamiento de las alteraciones nerviosas. Por otra parte, tributan a la validación de su uso etnofarmacológico que permitan hacer un uso más racional, seguro y eficaz de las mismas, cubriendo el déficit que existe en el cuadro básico de medicamentos convencionales con actividad ansiolítica (Boffill, 2008). De acuerdo con Bermúdez y Velásquez, (2002), estos datos pueden utilizarse como indicadores del grado de uso de las especies y como evidencia del nivel cultural sobre la utilización de las plantas medicinales en la comunidad investigada.

## Conclusiones

El 80,5% de los entrevistados mostraron tener conocimiento sobre el uso de plantas medicinales con efectos sedantes. Se informaron un total de 10 especies vegetales, siendo la familia Lamiaceae la más representada con tres especies. Las hojas fue el órgano de las plantas más empleado, predominando la infusión como forma de preparación, en estado fresco preferentemente, administrada por vía oral. Las especies con

mayores índices de valor de uso y nivel de uso significativo fueron *Ocimum tenuiflorum* L., *Justicia pectoralis* Jacq. y *Lawsonia inermis* L.

### Referencias Bibliográficas

- Bermúdez del Sol, A., Bravo, S.L.B., Abreu, N.R. & Kanga, E.F. (2019). Uso tradicional de las plantas medicinales por la población del municipio de Santa Clara, Cuba. *Revista Institucional de Investigación Metanoia: Ciencia, Tecnología, Innovación*, 5(7), 87-100.
- Bermúdez, A., & Velásquez, D. (2002). Etnobotánica médica de una comunidad campesina del estado Trujillo, Venezuela: un estudio preliminar usando técnicas cuantitativas. *Rev Fac Farm Univ Cent Venez.*, 44, 2 – 6.
- Beyra, A., León, M.C., Iglesias, E., Ferrándiz, D., Herrera, R., Volpato, G., et al. (2004). Estudios etnobotánicos sobre plantas medicinales de Camagüey (Cuba). *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 61(2), 185-204.
- Boffill, M.A. (2008). Plantas medicinales usadas en Cuba con efecto diurético comprobado experimentalmente. *Medicentro Electrónica*, 12(1), 1-4.
- Carmona, F.R., López, H.O.D, González, S.M.L; Fernández, N.E.G. & Barzaga, F.P. (2009). Optimización de un proceso de obtención de extracto acuoso de *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada). *Rev Cubana Plant Med*, 14(3), 14-22.
- Chilquillo, T.E.A., Albán, J. & Muñoz, A. (2018). Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas en comunidades adyacentes al Área de Conservación Privada San Antonio, Chachapoyas, Amazonas, Perú. *Revista de Investigación Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 1(1), 65-73, 201.
- Claus, E.P. & Tyler, V.E. (1989). *Farmacognosia*. Cuba: Ed. Revolucionaria. pp: 3-64.
- Del Hoyo, M.A. (2004). Estrés laboral. Documento divulgativo. Madrid: Ed. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. ISBN: 84-7425-474-4. Disponible en: <https://www.sesst.org/wp-content/uploads/2018/08/estres-laboral-guia.pdf> [Revisado: 12 may. 2019]
- Dorado, M.C. (2020). Etnofarmacología, riqueza terapéutica de México para el desarrollo social sostenible. *Ecociencia Internacional Journal*, 2(3), 54-66.
- Escalona, C.L.J, Tase, A.A, Estrada, M.A. & Almaguer, M.M.L. (2015). Uso tradicional de plantas medicinales por el adulto mayor en la comunidad serrana de Corralillo Arriba. *Guisa, Granma. Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 20(4), 429-439.
- Escamilla, P.B.E. & Moreno, C.P. (2015). *Plantas medicinales de La Matamba y El Piñonal, municipio de Jamapa, Veracruz*. 1ra Ed. México: Instituto Literario de Veracruz, S.C.
- Fuentes, F.V. (1981). Recursos cubanos de plantas medicinales II. Malas hierbas. Estación Experimental de Plantas Medicinales. Güira de Melena. *Rev Cub Farm*, 15(1), 12-25.
- García, L.A., Vizoso, P.A., Ramos, R.A., Piloto, F.J. (2000). Estudio Toxicogenético de un extracto fluido de *Ocimum basilicum* L. (Albahaca blanca). *Rev. Cub. Plant. Med*, 5 (3), 78-83.
- González, M., Ramírez, D. & Jacobo O.L. (2007). Antecedentes y situación reguladora de la medicina herbaria en Cuba. *BLACPMA*, 6 (4), 118 – 24.
- Google Maps. (2021). Songo – La Maya [Mapa online]. Recuperado de <https://www.google.com/maps/place/Songo/@20.1688206,75.7260777,14z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x8ece8a80af02502b:0xd33616b60996b00c!8m2!3d20.1640993!4d-75.7080727>. Consultado el 12 de mayo de 2021.
- Germosén-Robineau, L. (1995). *Hacia una farmacopea vegetal caribeña*. Edición TRAMIL 7. Santo Domingo: Enda Caribe, UAG & Universidad de Antioquia.
- Heredia, D.Y., et al. (2018). Estudio etnobotánico de las plantas medicinales usadas por los habitantes de Holguín, Región Oriental, Cuba. *BLACPMA*, 17 (2), 160 – 196.
- Hernández, C.J. & Volpato, G. (2004). Herbal mixtures in the traditional medicine of Eastern Cuba. *J. Ethno pharmacol*, 90, 293–316.
- Jiménez, R.E.M. Et al. (2019). Estudio etnobotánico y comercialización de plantas medicinales del bosque protector Murocomba y su área de influencia del cantón Valencia, Ecuador. *Cienc Tecnol Agropecuaria, Mosquera (Colombia)*, 20(3), 491-506.
- Khajoei, N.F. & Reza, K. A. (2014). Ethnobotanical study of medicinal plants of Sirjan in Kerman Province, Iran., 154, 190 - 197.

- Marín, C.C., Cárdenas, L.D., Suárez, S.S. (2005). Utilidad del valor de uso en etnobotánica. Estudio en el departamento de Putumayo. *Caldasia*, 27 (1), 89-101.
- Martínez, A.J.V, Yesid, B.H. & Cáceres, A. (2000). Fundamentos de Agrotecnología de Cultivo de Plantas Medicinales Iberoamericanas. *Rev Cub Plant Med.*, 5 (3).
- Martínez, J.G., Arenas, P., Barboza, G. (2007). Las Solanáceas en la etnobotánica médica de los tobas de la región del Chaco Central. *BLACPMA*, 6 (5), 205-206.
- MINSAP. (2014). *Formulario Nacional de Fitofármacos y Apifármacos*. 2da Ed. Cuba: Editorial Ciencias Médicas.
- Oficina Nacional de Estadística e Información de la República de Cuba (ONEI) (2019). *Anuario Estadístico Songo La Maya 2018*. Ed. 2019. Disponible en: <http://www.onei.gob.cu/taxonomy/term/545.pdf>. [Revisado: 12 may. 2019]
- Pérez, M.M. et al. (2011). Estudio etnobotánico de las plantas más utilizadas como diuréticas en la Provincia de Villa Clara, Cuba. *BLACPMA*, 10 (1), 46-55.
- Phillips, O. (1996). Some quantitative methods for analyzing ethnobotanical knowledge. In Alexiades, M.N. (ed.). *Selected guidelines for ethnobotanical research: A field manual*. New York: The New York Botanical Garden, Bronx.
- Rodríguez, G.Y., Fuentes, M.J.E, Morales, C.S, Villate G.M. & Carmona, T.D. (2007). Contribución etnobotánica de plantas medicinales en el municipio de San Luis, Pinar del Río, Cuba. *Revista Centro Agrícola*, 34(4), 5-10.
- Roig, M.J.T. (2012). *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba*. 2ed. La Habana, Cuba: Editorial Científico – Técnica.
- Schultes, R.E. and Reis, S.V. (eds.). (1995). *Ethnobotany: Evolution of a discipline*. Editor Porland, Oregon USA: Dioscorides Press/Timbre Press.
- Soto, O.R. (2002). La domesticación de las plantas medicinales en Cuba: importancia y Experiencias concretas. *Biocenosis*, 16 (1-2), 66-70.
- Zambrano, L.F., Buenaño, M.P., Mancera, N.J. & Jiménez, E. (2015). Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la Parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador. *Rev Univ. Salud*, 17(1), 97-111.

DOI: <https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2021.6.02>

Taboada Díaz, J.E., Rodríguez Moliner, T., Díaz Novo, C., & Hernández Ricardo, M. (2021). Influencia de la asimetría en el patrón de la marcha en sujetos cubanos. *Orange Journal*, 3(6), 14-20. <https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2021.6.02>

## Influencia de la asimetría en el patrón de la marcha en sujetos cubanos

### Influence of asymmetry in gait pattern in Cuban subjects

Recibido: 4 de septiembre de 2021

Aceptado: 20 de noviembre de 2021

Escrito por:

**Joyce Eduardo Taboada Díaz**<sup>5</sup>

<https://orcid.org/0000-0003-0288-3663>

**Tania Rodríguez Moliner**<sup>6</sup>

<https://orcid.org/0000-0001-6995-2948>

**Carlos Díaz Novo**<sup>7</sup>

<https://orcid.org/0000-0003-1466-0969>

**Maylin Hernández Ricardo**<sup>8</sup>

<https://orcid.org/0000-0002-3818-9844>

#### Resumen

Este trabajo presenta los elementos esenciales a tener en cuenta para el análisis de la manifestación de la asimetría en el patrón biomecánico de la marcha y tiene como objetivo describir los parámetros de flexo extensión de rodilla y tobillo con la intención de proporcionar un criterio de ayuda para la obtención de un patrón de marcha que contenga el estudio de las asimetrías y contribuya al diagnóstico y tratamiento de patologías. Para ello se realizó una comparación de los datos cuantitativos que caracterizan los parámetros cinemáticos de la marcha, obtenidos en un laboratorio de captura de movimiento con sistema Vicon. Esta comparación se realizó usando una muestra de 5 sujetos de diferentes edades, peso, estatura y sexo. La importancia radica en que a partir de los resultados obtenidos en esta comparación se puede asumir algunos criterios que influirán en la correcta determinación del patrón biomecánico de la marcha en sujetos sanos. Estos estándares ofrecen una invaluable ayuda en el desarrollo clínico e investigativo, permitiendo detectar alteraciones, ejecutar control y seguimiento, evaluar la efectividad de los tratamientos indicados, o determinar modelos en el diseño en la ingeniería biomédica.

**Palabras claves:** Marcha, Parámetros de marcha, Asimetría, Patrón de marcha, cinemática y cinética.

#### Abstract

This work presents the essential elements to take into account for the analysis of the manifestation of asymmetry in the biomechanical pattern of gait and aims to describe the knee and ankle flexion extension parameters in order to deliver an acceptable reference for the construction of a gait pattern that includes the importance of the asymmetries and that can be transferred to the study and evaluation. For this, a comparison was made of the quantitative data that characterize the kinematic parameters of gait, obtained in a motion capture laboratory with the Vicon system. This comparison was made using a sample of 5 subjects of different ages, weight, height, and sex. The importance it is in the fact, based on the results obtained in this comparison, some criteria can be assumed that will influence the correct determination of the biomechanical pattern of gait in healthy subjects. These standards offer invaluable help in clinical and research development, allowing to detect alterations, execute control and follow-up, evaluate the effectiveness of the indicated treatments, or determine models in the design in biomedical engineering.

**Keywords:** Gait, Gait parameters, Asymmetry, Gait pattern, kinematics and kinetics.

<sup>5</sup> Universidad Tecnológica de La Habana "José Antonio Echeverría", CUJAE. La Habana, Cuba.

<sup>6</sup> Universidad Tecnológica de La Habana "José Antonio Echeverría", CUJAE. La Habana, Cuba.

<sup>7</sup> Universidad Tecnológica Suroeste ITR UTEC, Uruguay.

<sup>8</sup> Universidad de Ciencias Pedagógicas "Enrique J. Varona", La Habana, Cuba.

## Introducción

La marcha humana requiere de una relación estrecha entre las fuerzas producidas por los músculos, las articulaciones y el sistema neuro motor (Ramírez, et al., 2018). Muchas de las variables que contribuyen a permitir la marcha han sido medidas y cuantificadas desde hace mucho tiempo. Éstas incluyen la cinemática, la cinética, la actividad electromiográfica e incluso el costo de energía metabólica. Los estudios exhaustivos realizados sobre la marcha normal y patológica han permitido obtener una comprensión de los mecanismos biomecánicos utilizados para caminar y correr. (Andrade, Villarroya-Aparicio y Morales, 2018).

Varios de estos mecanismos claves se relacionan con los métodos utilizados por el cuerpo para mitigar el movimiento horizontal y vertical tomando como referencia el centro de gravedad (CG) del cuerpo humano. (Bennett Fleenor y Weinhandl, 2018). Debido a su importancia fundamental para la biomecánica de la marcha, se les ha llamado a estos mecanismos las invariantes o determinantes de la marcha. Estas presentan dos objetivos principales: reducir el desplazamiento horizontal y el desplazamiento vertical del centro de gravedad, lo cual tributa a un menor gasto de energía en el proceso de la marcha. (Kuo, 2007).

Se necesita tener en cuenta los elementos cuantitativos de la marcha, los rasgos distintivos de personas sanas para poder entender: a) el significado filosófico de los componentes de la marcha; b) poder obtener objetivamente el desempeño de los componentes en la marcha; c) explicar acertadamente las modificaciones que se suscitan en los componentes de la marcha patológica.

Una de las restricciones en el presente es que el patrón de marcha se obtiene con datos unidos de las partes izquierda y derecha, considerando sin sostén que ocurre una total simetría. Investigaciones han revelado que esa simetría no es completa. (Bravo, Rengifo y Agredo, 2016). Por lo tanto, se hace imprescindible determinar numéricamente la magnitud de la asimetría en cada muestra de estudio.

El objetivo de este trabajo es describir los parámetros de flexo extensión de rodilla y tobillo con la intención de proporcionar un criterio de ayuda para la obtención de un patrón de marcha que contenga el estudio de las asimetrías y contribuya al diagnóstico y tratamiento de patologías.

## Marco teórico

El organismo humano no presenta una igualdad total en sus partes componentes. Muchas partes son impares y no todas ellas están en la parte central, algunos de ellos están en la parte la derecha o izquierda (hígado, bazo). ¿Se puede asegurar que existe una simetría total? Investigaciones concluyen que las asimetrías tienden a ser más grades en el tren superior. Las diferencias en las asimetrías están alrededor del 1% en el cuerpo humano, pequeñas diferencias en el lado izquierdo o derecho, a la larga, desembocarán en cambios significativos en la asimetría del cuerpo. (Vélez, Duque, Mora, Marín y Jiménez, 2016).

Las asimetrías pueden ser: morfológica, funcional y dinámica:

En la marcha el centro de gravedad se desplaza tanto en sentido vertical como horizontal se efectúa gracias a los movimientos coordinados de los segmentos que conforman las extremidades inferiores, en lo cual influye la asimetría que pueda existir entre miembros. (Sutherland, Olshen y Biden, 1997).

El ciclo de la marcha, recoge una serie de sucesos que inicia con el toque del talón al suelo y acaba con el subsiguiente contacto del mismo talón con el suelo. En un ciclo de marcha, ocurren dos fases: apoyo y balanceo.

Se está en fase de apoyo cuando el pie está en contacto con el suelo constituyendo alrededor del 60% del ciclo y se ocurre la fase de balanceo cuando no hay contacto, del pie, con el suelo y constituye el 40% restante.

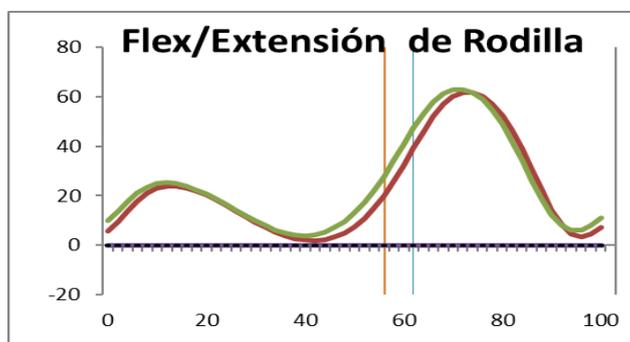
Los parámetros cinemáticos versan sobre el análisis del movimiento sin atender la fuerza y los momentos que lo inducen, es entonces el desplazamiento angular que experimentan los segmentos que conforman el

cuerpo humano en los tres planos, fundamentalmente a nivel de las extremidades inferiores lo que caracterizará la marcha a nivel cinemático. (Barreto, Villarroya, Contreras, Brito y Loaiza, 2017).

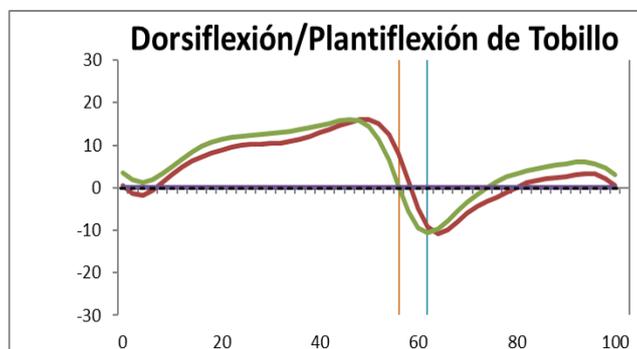
Los ángulos de las articulaciones son extremadamente importantes para el estudio de la marcha y el diagnóstico de patologías. Se pueden expresar como ángulos absolutos con respecto a una referencia en el espacio o como ángulos relativos de las articulaciones entre segmentos adyacentes. En posición anatómica u ortostática, se considera que las articulaciones están en posición “cero”

Estas mediciones de ángulos articulares de las extremidades inferiores difieren entre hombres y mujeres y entre individuos de diferentes años de edad. De ciclo a ciclo, en un sujeto determinado, los cambios angulares articulares varían en cualquier instante dado del ciclo de la marcha. (Leboeuf, Sangeux y Baker, 2017).

En este proceso los parámetros de la marcha normal que se atenderán, debido a que son los más afectados en patologías como reumatologías, parálisis cerebral (PC) y accidentes cerebro vasculares, son los de flexión de rodilla: La rodilla se ubica en una discreta flexión en el momento en que el cuerpo pasa por encima de la pierna que apoya. Desde el momento que el fémur pasa de la fase de extensión durante el contacto del talón a la flexión, la rodilla que también se encontraba en extensión pasa a una flexión de 15-20° durante el apoyo plantar en el suelo, de no ser así la cadera se elevaría exageradamente y con ello el CG con el consiguiente gasto energético. (Bennett, Fleenor y Weinhandl, 2018). Como se aprecia en la Figura No 1.



**Figura 1.** Flexo-extensión de rodilla. Grados vs ciclo de Marcha. Elaboración propia.



**Figura 2.** Dorsiflexión-plantiflexión Grados vs ciclo de Marcha. Elaboración del tobillo. Grados vs ciclo de Marcha. Elaboración propia.

Flexo extensión del tobillo: durante el momento de choque del talón la rodilla se flexiona contra una creciente contracción del cuádriceps y el pie realiza una planti-flexión hacia la acción del tibial anterior ambos movimientos acortan la pierna y absorben el impacto producido por el choque del talón con el suelo. (García-Vázquez, Skiadopoulos y Caro-Puértolas, 2018). Ver Figura No 2.

### Metodología

Caracterización de la marcha por técnicas videográficas. Los estudios de caracterización de la marcha fueron practicados a una muestra de 5 sujetos, como se observa en la tabla No. 1

**Tabla 1.**  
*Medidas antropométricas de los sujetos.*

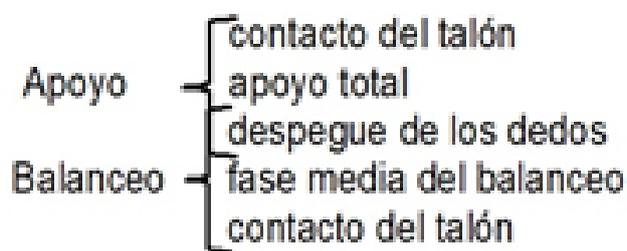
Sujetos	Peso (Kg)	Talla (m)	Edad	Sexo
1	55	1.56	50	Femenino
2	70	1.70	60	Masculino
3	75	1.73	42	Masculino
4	89	1.90	27	Masculino
5	94	1.98	30	Masculino

Elaboración propia.

Se le realizaron tres capturas de marcha a cada uno en un laboratorio de captura de movimiento 3D Vicon con 24 cámaras infrarrojas, 4 cámaras digitales, además sincronizado a 5 plataformas de fuerza Kistler y un equipo de Electromiografía (EMG). Para la captura se utilizó el software vicon nexus 2.9.0 y para el procesamiento de los resultados el software vicon polygon 4.4.4. El sistema Vicon es definido como uno de los sistemas más importantes en el análisis óptico de la marcha por ser muy exacto, por su exploración de la persona y por qué reduce considerablemente el enmascaramiento de los marcadores. Teniendo en cuenta el área de captura concreta, y el alto grado de especialización, este sistema se utiliza en situaciones que se requiere una extremada exactitud. Se utilizó el protocolo Helen Hyde con 18 marcadores incluidos los marcadores medios para la determinación de los ejes de rotación de las articulaciones.

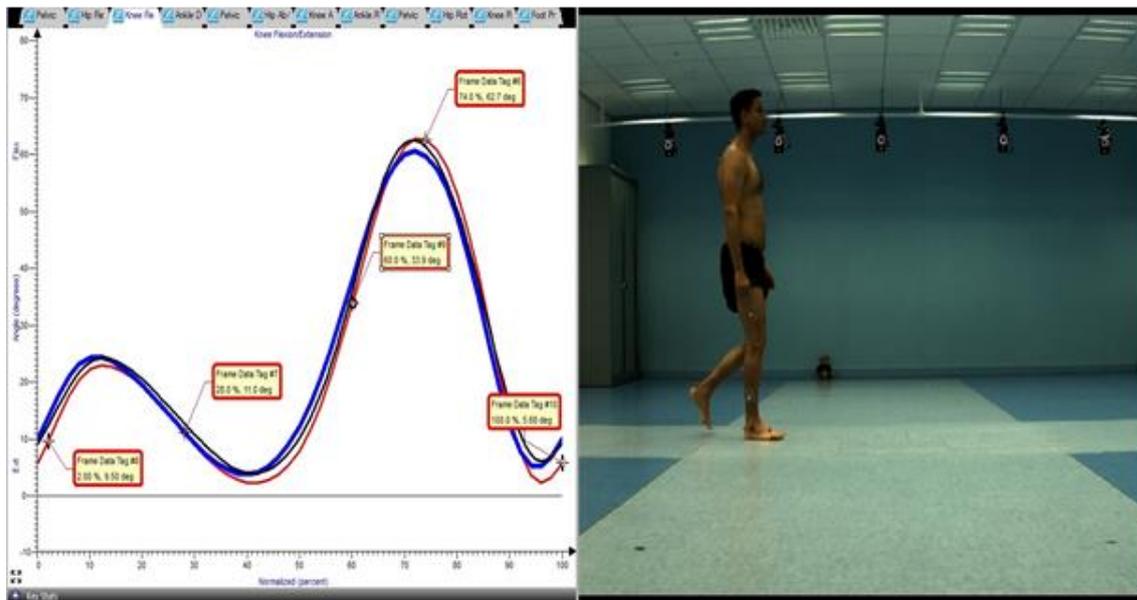
Para el análisis se utilizaron 10 capturas validadas de cada una de las tres sesiones realizadas con cada sujeto.

Se determinaron los instantes a analizar durante el ciclo de la marcha, los cuales representan momentos decisivos en el complejo proceso de marcha del ser humano, estos puntos emanan de las fases y subfases del ciclo de marcha y se decidió comenzar en el contacto del talón y culminar en el nuevo contacto del talón la selección se muestra en el esquema No 1.



**Esquema No. 1.** Puntos de análisis de la marcha. Elaboracion propia.

Se realiza una representación de los puntos seleccionados en la trayectoria que describe de una de estas invariantes (flexo-extensión de rodilla) como se aprecia en la figura No 3.



**Figura 3.** Representación de los puntos seleccionados en la trayectoria que describe el flexo-extensión de rodilla. Elaboración propia a partir de los resultados del programa polygon.

### Resultados y discusión

Se realizó el procesamiento de los parámetros de la marcha flexo-extensión de rodilla (FER) y flexo-extensión de tobillo (FET) a partir de las mediciones cuantitativas que se obtuvieron en el laboratorio empleado, así como en los puntos seleccionados del ciclo de la marcha, la comparación se realizó entre las capturas de marcha realizadas a los distintos sujetos, se llegó a obtener los valores de los parámetros que identificaron la marcha de cada individuo y se realizó el estudio. Se describen los resultados alcanzados en el análisis de las invariantes de la marcha estudiadas en cada uno de los puntos del ciclo seleccionado para el estudio ver tablas 2 y 3, estas son las invariantes que reducen el movimiento vertical del centro de gravedad.

**Tabla 2.**

*Manifestación de la flexo-extensión de la rodilla en los puntos escogidos del ciclo de marcha.*

Parámetro	Pierna	Contacto Talón 0%				
		sujeto 1	sujeto 2	sujeto 3	sujeto 4	sujeto 5
FER	Izquierda	7.19 ±2.09	12.00 ±1.13	5.98 ±1.08	8.98 ±1.01	12.98 ±1.10
	Derecha	9.72 ±3.48	14.70 ±2.69	9.85 ±0.70	10.85 ±0.60	14.85 ±0.80
	Apoyo Total 28%					
	Izquierda	9.09 ±2.44	15.25 ±0.21	10.88 ±1.34	12.88 ±1.44	12.88 ±1.24
	Derecha	13.67 ±3.43	21.40 ±1.70	11.73 ±0.75	15.73 ±0.85	15.73 ±0.65
	Despegue de los Dedos 60%					
	Izquierda	37.23 ±3.69	40.65 ±3.04	34.61 ±1.87	38.61 ±2.87	40.61 ±1.47
	Derecha	37.20 ±3.73	41.65 ±0.92	37.85 ±1.97	40.85 ±1.56	41.85 ±1.57
	Fase Media Balanceo 74%					
	Izquierda	68.60 ±2.50	63.30 ±4.38	62.88 ±1.20	65.88 ±1.50	64.88 ±1.40
	Derecha	68.13 ±2.77	64.10 ±0.57	61.14 ±1.24	64.14 ±1.44	66.14 ±1.64
	Contacto del Talón 100%					
	Izquierda	7.12 ±2.31	12.20 ±1.27	5.88 ±1.17	8.88 ±1.47	12.88 ±1.37
	Derecha	9.70 ±3.70	14.50 ±2.83	10.03 ±0.71	10.45 ±0.91	14.03 ±0.61

Elaboración propia.

**Tabla 3.**  
*Manifestación de la flexo-extensión del tobillo (FET) en los puntos escogidos del ciclo de marcha.*

Parámetro	Pierna	Contacto Talón 0%				
		sujeto 1	sujeto 2	sujeto 3	sujeto 4	sujeto 5
FER	Izquierda	-10.36 ±4.17	-0.57 ±0.81	-1.04 ±0.51	-0.75 ±0.89	-6.31 ±0.69
	Derecha	-8.34 ±1.91	-7.09 ±3.41	1.97 ±1.03	4.87 ±1.46	4.57 ±1.40
	Apoyo Total 28%					
	Izquierda	2.38 ±4.27	10.54 ±1.64	9.50 ±0.84	3.58 ±0.70	8.60 ±0.79
	Derecha	5.52 ±1.61	9.82 ±2.66	11.79 ±0.71	8.70 ±0.90	14.89 ±0.89
	Despegue de los Dedos 60%					
	Izquierda	-14.27 ±1.19	-12.65 ±1.48	-4.49 ±1.48	-3.89 ±1.69	-5.99 ±1.68
	Derecha	-11.03 ±0.45	-17.85 ±5.16	-6.37 ±1.43	-7.57 ±1.99	-9.57 ±1.67
	Fase Media Balanceo 74%					
	Izquierda	-13.57 ±4.46	-0.52 ±1.93	-3.42 ±0.94	-2.82 ±0.86	-4.82 ±0.89
	Derecha	-12.33 ±2.10	-6.05 ±1.92	-1.50 ±0.46	-1.30 ±0.37	-2.30 ±0.58
	Contacto del Talón 100%					
	Izquierda	-10.49 ±4.09	-0.51 ±0.78	-1.20 ±0.90	-1.10 ±0.80	-6.40 ±0.99
	Derecha	-8.26 ±2.04	-6.93 ±3.93	2.39 ±0.34	3.01 ±0.58	4.98 ±0.45

Como se muestra en los datos se aprecian los valores del parámetro analizado de cada una de las articulaciones, tanto de la pierna derecha como de la pierna izquierda, proporcionado por el software.

En el apoyo del talón al inicio del ciclo y al comienzo del próximo ciclo las asimetrías entre la misma pierna son extremadamente pequeñas en un rango por  $< 1^0$ , lo que posibilita la correcta entrada de miembro al contacto con el suelo y no demanda del sujeto modificaciones de la postura y gasto innecesario de energía. En el apoyo total del pie se aprecian asimetría en un rango de 3 a 4 grados en el flexo extensión de rodilla lo que tiende a reajustar el peso del cuerpo cuando se pasa del apoyo total de un miembro al otro con el consiguiente reajuste en la postura, en el flexo extensión del tobillo no se aprecian asimetrías considerables  $< 2^0$ .

En el despegue de los dedos donde se necesita de una fuerza de empuje para llevar la pierna hacia delante las asimetrías se encuentran un rango de 3 a 5 grados tanto en la flexo extensión de rodilla como de tobillo los que incide en que el cuerpo humano debe reajustar las fuerzas de empuje a realizar de una pierna a otra esto puede incidir en la fuerza a realizar en la pierna para mantenerla en el aire y en la fatiga de los músculos específicos y su consiguiente afectación del patrón de marcha.

La asimetría que se observa en la fase media de balanceo, donde la flexión de la rodilla es la mayor para que no exista arrastre del pie, es  $< 2^0$  lo que incide en que no existan modificaciones de la marcha en este punto. La flexo extensión del tobillo presenta un comportamiento similar al de la rodilla, existiendo pequeñas a asimetrías  $< 2^0$ .

En el contacto del talón existen pequeñas asimetrías entre los miembros  $< 2^0$  lo que conlleva a una correcta entrada del pie al contacto con el suelo demandando gasto mínimo de energía y poco ajuste de la postura y el patrón de marcha.

Estudios realizados por Pulido-Valdeolivasa y Gómez-Andrésa manifiestan similitudes en la asimetría encontrada en la fase oscilante de la rodilla y el tobillo con nuestra investigación y parecen confirmar la hipótesis de que la asimetría es localizada y formula ajustes musculares que dependen de la lateralidad o de pequeñas diferencias osteoarticulares.

## Conclusiones

Utilizando la división de las etapas del ciclo de la marcha como puntos de análisis en la trayectoria se obtuvo que:

- No existieron diferencias marcadas en las asimetrías flexo extensión de rodilla y tobillo entre la misma pierna en el contacto del talón ni entre pierna derecha e izquierda en este mismo instante.
- Las mayores dispersiones en la asimetría se encuentran en la rodilla en el momento de apoyo total del pie y demanda de un esfuerzo distinto entre las distintas piernas y repercute en la altura que alcanza el centro de gravedad en su movimiento vertical.
- Los resultados obtenidos presentan similitudes en los rangos de valores con estudios realizados en poblaciones españolas y ponderan que la asimetría es localizada.

## Referencias bibliográficas

- Andrade, J., Villarroya-Aparicio, A., y Morales, S. (2018). Biomecánica de la marcha atlética, análisis cinemático de su desarrollo y comparación con la marcha normal. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 36(2), 1-21.
- Barreto, J., Villarroya, A., Contreras, T., Brito, V., y Loaiza, E. (2017). Biomecánica de la marcha atlética. Análisis de las presiones plantares durante su desarrollo, revisión actualizada. *Lecturas: educación física y deporte*, 21(217), 1-15.
- Bennett, H., Fleenor, K., y Weinhandl, J. (2018). A normative database of hip and knee joint biomechanics during dynamic tasks using anatomical regression prediction methods. *Journal of Biomechanics*, 16(81), 122-131.
- Bravo, D., Rengifo, C., y Agredo, W. (2016). Comparación de dos Sistemas de Captura de Movimiento por medio de las Trayectorias Articulares de Marcha. *Revista Mexicana de Investigaciones Biomédica*, 37(2), 149-160.
- García-Vázquez, J., Skiadopoulos, A., y Caro-Puértolas, B. (2018). Análisis cinemático tridimensional de la marcha en pacientes con diplejía espástica. *Rehabilitación*, 52(1), 10-20.
- Kuo, A. (2007). The six determinants of gait and the inverted pendulum analogy: A dynamic walking perspective. *Human Movement Science*, 26(4), 617-656.
- Leboeuf, F., Sangeux, M., y Baker, R. (2017). Direct kinematics and kinematic fitting provide very similar outputs when using the conventional gait model. *Gait & Posture*, 57(1), 196.
- Ramírez, R., Carmona, D., Hernández, K., Velázquez, J., Morales, A., y Vega-González, A. (2018). Cinemática de la Marcha en Adultos Jóvenes con Peso Normal, Sobrepeso y Obesidad. *Memorias Del Congreso Nacional De Ingeniería Biomédica*, 5(1), 366-369.
- Sutherland, D., Olshen, R., y Biden, E. (1997). The development of mature walking. *Clin. Develop. Med. Oxford*, 105. *Gait and Posture*, 62(3), 336-53.
- Vélez, J., Duque, J., Mora, M., Marín, N., y Jiménez, I. (2016). Descripción de los parámetros espaciotemporales y cinemáticos de referencia de la marcha en adultos de la población colombiana residente en Antioquia entre 18 y 25 años de edad. *Colombia UCM*, Recuperado de <http://hdl.handle.net/10946/2745>

DOI: <https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2021.6.03>

Brown Grandales, H.T., Paz Soto, Y., & Herold García, S. (2021). Análisis de desempeño de segmentación sobre imágenes de muestras de sangre periférica. *Orange Journal*, 3(6), 21-33.  
<https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2021.6.03>

## Análisis de desempeño de segmentación sobre imágenes de muestras de sangre periférica

### Performance analysis of segmentation on images of peripheral blood samples

Recibido: 4 de septiembre de 2021

Aceptado: 20 de noviembre de 2021

Escrito por:

**Henry Tomás Brown Grandales<sup>9</sup>**

<https://orcid.org/0000-0003-0940-4426>

**Yaima Paz Soto<sup>10</sup>**

<https://orcid.org/0000-0002-5006-6580>

**Silena Herold García<sup>11</sup>**

<https://orcid.org/0000-0001-9238-3472>

#### Resumen

La sickleemia es una enfermedad con alta incidencia en la población cubana. Se caracteriza por la deformación del eritrocito y puede estudiarse empleando técnicas automatizadas para análisis de imágenes de sangre, que dependen de la calidad de los bordes detectados. En este trabajo se propone un estudio comparativo sobre el desempeño de cuatro métodos de segmentación (Umbralización, Mean-Shift, Level-Set y Chan-Vese) aplicados a este tipo de imágenes. La experimentación permitió demostrar la superioridad del método Mean-Shift, los resultados fueron evaluados empleando métricas de media, varianza, distancia de Baddeley e índice de Jaccard y Dice.

**Palabras clave:** Mean-Shift, métricas, muestras de sangre periférica, segmentación y sickleemia.

#### Abstract

Sickle Cell Disease have a high incidence in the Cuban population. It is characterized by the deformation of the erythrocyte and can be studied using automated techniques for analysis of blood images, which depend on the quality of the edges detected by segmenting the cells. In this work we propose a comparative study on the performance of four segmentation methods (Threshold, Mean-Shift, Level-Set and Chan-Vese) applied to this type of images. The experimentation allowed to demonstrate the superiority of the Mean-Shift method, the results were evaluated using metrics of mean, variance, Baddeley distance and Jaccard and Dice index.

**Key Words:** Mean-Shift, metrics, peripheral blood samples, segmentation, sickle cell disease.

#### Introducción

Los eritrocitos son células de la sangre encargadas del transporte del oxígeno a los órganos y tejidos, y del dióxido de carbono para su eliminación, estos pueden presentar un gran número de variaciones en su tamaño, forma y color. Específicamente, la variación en su forma constituye uno de los primeros indicadores de la existencia de determinadas enfermedades en los seres humanos. Una de estas enfermedades es la anemia drepanocítica, sickleemia o enfermedad de las células falciformes, enfermedad

<sup>9</sup> Prof. Asistente. Universidad de Guantánamo. Profesor. Procesamiento digital de imágenes médicas, Cuba.

<sup>10</sup> Prof. Auxiliar. Universidad de Guantánamo. Profesor. Procesamiento digital de imágenes médica, Cuba.

<sup>11</sup> Prof. Titular. Universidad de Oriente. Profesor. Procesamiento digital de imágenes médicas, Cuba.

genética que provoca la deformación de los glóbulos rojos, los cuales adoptan forma de hoz o media luna a la vez que se tornan rígidos pues pierden flexibilidad debido a la falta de oxígeno que presentan. Esta enfermedad se caracteriza por un incremento de la susceptibilidad a las infecciones, retraso del crecimiento y desarrollo de crisis vaso oclusivas dolorosas lo que provoca la aparición de nuevas lesiones inflamatorias en los pacientes que la padecen (Fernández, Pérez, Fragoso & Rivero, 2012). En la actualidad es la hemoglobinopatía más frecuente, por esta razón la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera la misma como un problema de salud a nivel mundial, principalmente en países con ascendencia africana (WHO, 2001), entre los cuales se encuentra Cuba. Estudios estadísticos han demostrado que la frecuencia de portadores en nuestro país oscila entre el 3 y el 8 % en las diferentes regiones (Fernández et al, 2012), destacándose la provincia de Guantánamo como la de mayor incidencia, donde la tasa de portadores se eleva hasta cerca de 51 por cada 1000 habitantes, constituyendo todavía un problema social y de salud pública.

En tal sentido, en los laboratorios de hematología del Hospital General Docente “Dr. Agostinho Neto” de la provincia de Guantánamo, para el seguimiento a pacientes con esta patología se valoran exámenes complementarios entre los que están el hemograma y los frotis de sangre periférica. Estas muestras de sangre son observadas en el microscopio por parte del especialista en hematología, este proceso resulta demasiado complejo y tedioso pues consume mucho tiempo ya que el análisis de las muestras es agotador y propenso a la ocurrencia de errores, cuya frecuencia crece a medida que aumenta el número de muestras a analizar. Además, la eficiencia del reconocimiento se ve afectada por otros factores subjetivos como la experiencia del especialista en hematología, que es el factor determinante en la emisión de un criterio valorativo sobre la deformación celular que presenta el paciente, pues la dificultad del proceso complejiza obtener un criterio cuantitativo de eritrocitos deformados en la sangre, únicamente se aporta una valoración personal del experto en hematología sobre el nivel de daño del paciente en este sentido.

En aras de obtener un criterio cuantitativo sobre el nivel de deformación celular presente en las muestras de sangre de pacientes con anemia drepanocítica, el procesamiento de imágenes es un paso fundamental para esta tarea, y en este caso la detección eficiente de los bordes y regiones de los cuerpos que forman parte de las muestras de sangre mediante el proceso de segmentación constituye una etapa crítica, debido a que el posterior procesamiento que pueda realizarse para el análisis de las formas a partir de estos bordes segmentados depende de la calidad con que se obtienen los mismos. En el caso específico del análisis automatizado de muestras de sangre, en el período 2014 – 2020 fueron empleados diferentes algoritmos de segmentación, entre los más populares estuvieron: Umbralización, Mean-Shift, Level-Set y Chan-Vese. También se pudo constatar que la selección de los métodos para la realización de la segmentación de imágenes de muestras de sangre carece de una adecuada evaluación comparativa mediante el uso de métricas de segmentación que garanticen una mejor elección de los algoritmos, para obtener óptimos resultados en la selección de las regiones de interés de estas imágenes. Para valorar la calidad de la segmentación obtenida fueron utilizadas cinco métricas de evaluación de similitud: la media y la varianza (métricas de evaluación estadísticas), distancia de Baddeley (métrica de evaluación geométrica) y el índice de Jaccard y Dice (estadísticos que miden el grado de similitud entre dos conjuntos).

Este proceso además está condicionado a las características de la imagen, tamaño, niveles de ruido, iluminación y textura, estas dependen en gran medida del proceso de preparación de las muestras y adquisición de las imágenes; las imágenes a procesar son muestras de sangre completa que presentan gran cantidad de artefactos lo que incrementa la dificultad al realizar la segmentación. Hasta el momento, no se ha realizado un estudio valorativo de la efectividad de este tipo de métodos de segmentación en imágenes de muestras de sangre obtenidas bajo condiciones de preparación en laboratorios de entidades de salud pública de nuestro país, que, por nuestras propias características, asociadas muchas veces a las propiedades de los recursos disponibles para su preparación, en muchos casos, tienen una alta presencia de objetos extraños, zonas con iluminación diferente, etc.

De esta forma se pretende realizar el análisis de imágenes médicas de muestras de sangre de pacientes con anemia drepanocítica obtenidas bajo las condiciones de los laboratorios clínicos del Hospital General Docente “Dr. Agostinho Neto” de la provincia de Guantánamo y se pretende determinar de los métodos de segmentación Umbralización, Mean-Shift, Level-Set y Chan-Vese cuál brinda una mejor respuesta ante este tipo de imágenes médicas. Por tanto, este trabajo investigativo está dirigido a la evaluación de

desempeño de los métodos de segmentación antes mencionados, mediante el empleo de métricas adecuadas de valoración para la segmentación.

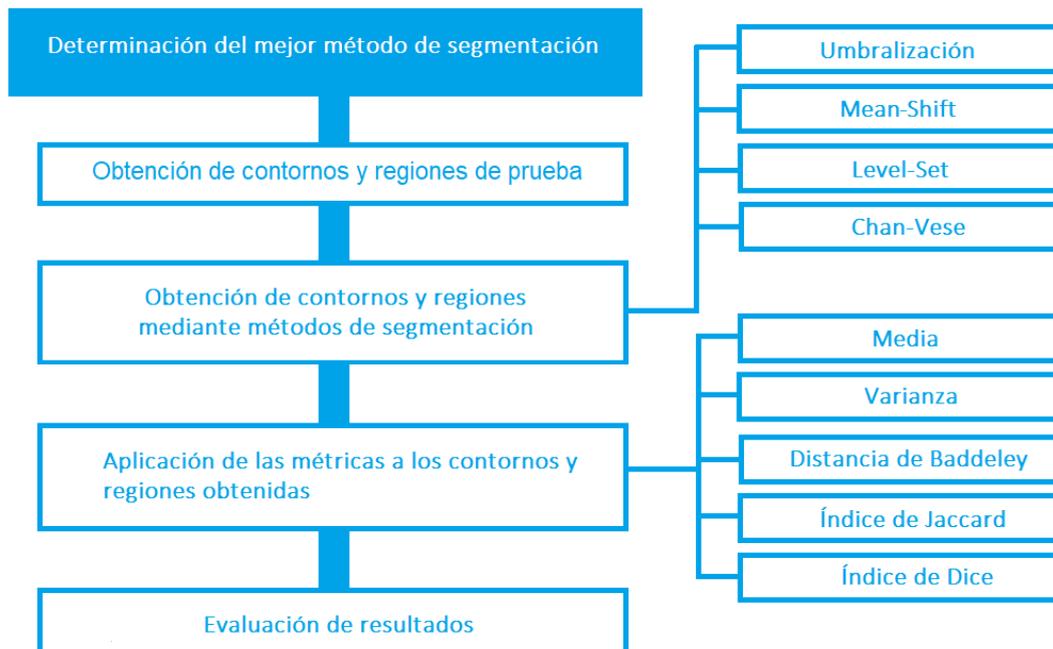
### Marco Teórico

Para el desarrollo de la investigación se considera el período comprendido entre el año 2016 y el 2020. Los términos de búsqueda definidos para esta investigación son: eritrocitos, muestras de sangre, enfermedades en la sangre, anemia drepanocítica y sicklemlia. Luego de realizar una búsqueda breve, se encontraron algunos artículos de los que se extrajeron nuevas palabras clave. Estas palabras clave son: forma de eritrocitos, morfología, segmentación de imágenes de muestras de sangre. Combinando las palabras claves encontradas con los primeros términos de búsqueda, formamos la cadena de consulta final de la siguiente manera: análisis de imágenes sobre muestras de sangre con anemia drepanocítica, preprocesamiento de imagenes y segmentación de imágenes de muestras de sangre con drepanocitosis. Para esta revisión, se escogieron artículos y referencias publicadas a partir de 2016, considerando los que tienen los siguientes criterios: artículos con objetivos de investigación bien definidos, con detalles sobre el proceso de segmentación, evaluación de la segmentación, la extracción y presentación de los datos en análisis de muestras de sangre de pacientes con anemia drepanocítica y que se hayan publicado en revistas o conferencias escritas en español o inglés.

Los siguientes tipos de documentos fueron excluidos: artículos bajo el proceso de discusión o que fueron remitidos a otros tipos de componentes de la sangre y no incluye los eritrocitos. Encuentros informales de literatura (sin preguntas de investigación definidas, sin proceso de búsqueda, sin proceso definido de extracción o análisis de datos). No se valoraron artículos que, aunque se refieren a patologías relacionadas con eritrocitos, no afectan como tal la forma de estos (por ejemplo: la malaria).

### Metodología

Para enfrentar el proceso de determinar qué método de segmentación de imágenes posee mejor prestación al ser aplicados en imágenes de muestras de sangre de pacientes con anemia drepanocítica, la metodología aplicada se dividió en cuatro pasos fundamentales:

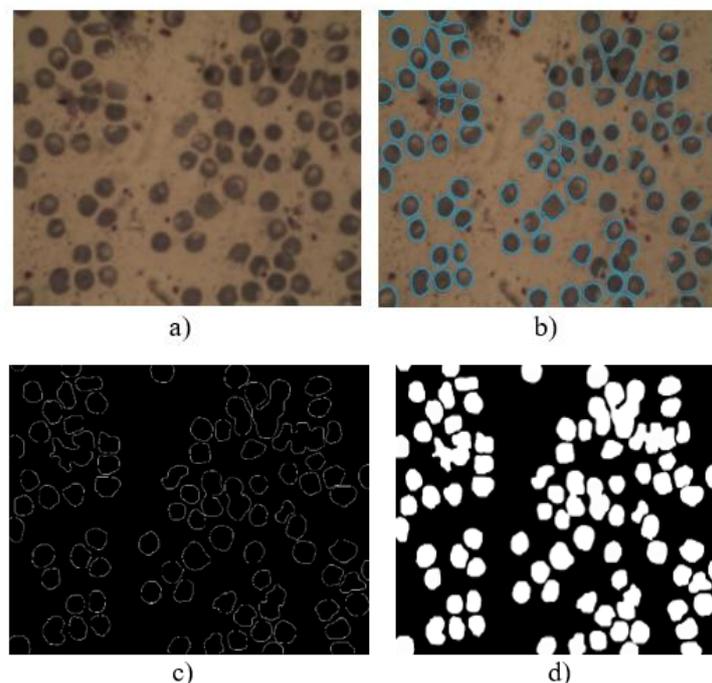


**Figura 1.** Proceso de determinación del mejor método de segmentación. Fuente: Elaboración propia.

1. Obtención de contornos y regiones de prueba: Esta tarea se realizará de forma manual por parte del especialista en hematología de conjunto con el equipo de trabajo que desarrolla la propuesta, la misma tiene el objetivo elegir adecuadamente cada uno de los cuerpos de interés real, dentro de las imágenes de muestras de sangre de pacientes con anemia drepanocítica. Las imágenes empleadas para el estudio, fueron adquiridas en los laboratorios de hematología del Hospital General Docente “Dr. Agostinho Neto” de la provincia de Guantánamo, las mismas pertenecen a muestras de sangre de varios pacientes con anemia drepanocítica en estado de crisis. Se tomaron en total de 60 imágenes de una resolución 1024x768 px a partir de las muestras obtenidas en un microscopio Leika con objetivo de aumento 100x, empleando una cámara Kodak de 8.0 megapíxeles con cañón AF 3X OPTICAL no profesional. A continuación, se describen los pasos lógicos a realizar:

- I. Seleccionar la imagen de muestra de sangre.
- II. Seleccionar los objetos de interés dentro de la imagen, desechando cuerpos extraños que no representen eritrocitos.
- III. Generación de contornos de los objetos seleccionados dentro de la imagen.
- IV. Generación de regiones de los objetos seleccionados dentro de la imagen.

En la Figura 2 se muestra un ejemplo de la obtención del contorno y la región de prueba con la participación de un especialista.



**Figura 2.** Obtención de contornos y regiones de prueba. Fuente: Elaboración propia.

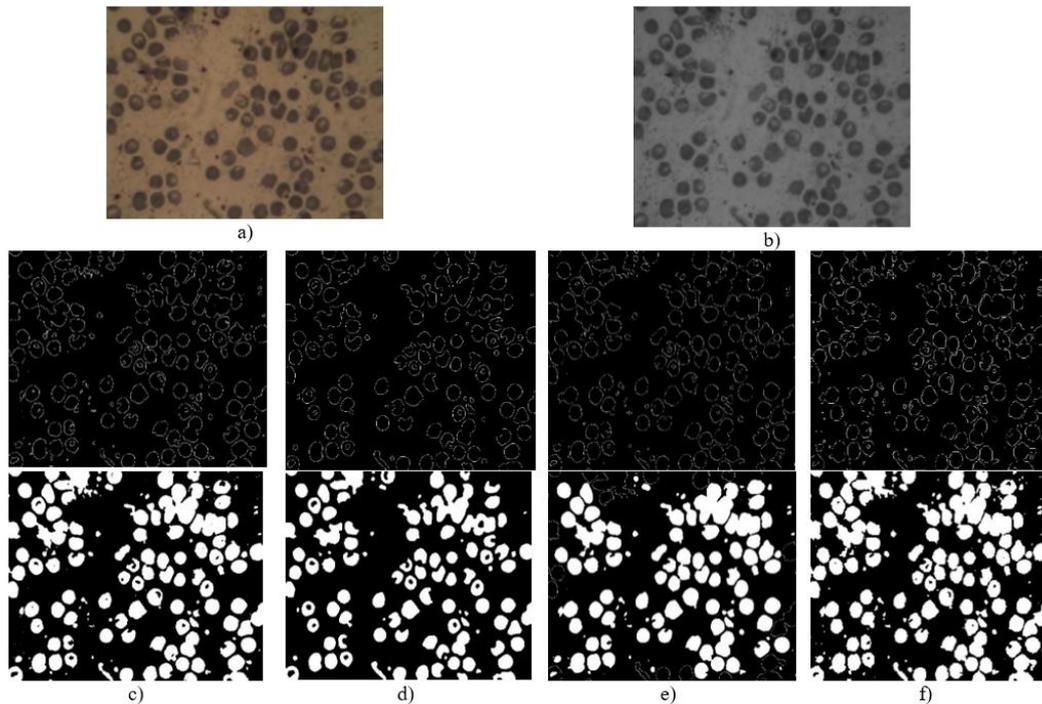
a) Imagen de muestra de sangre. b) Selección de los objetos de interés. c) Contorno de prueba. d) Región de prueba.

1. Obtención de contornos y regiones mediante métodos de segmentación: Esta tarea tiene el objetivo ejecutar los métodos de segmentación propuestos, sobre las imágenes de muestras de sangre de pacientes con anemia drepanocítica. A continuación, se describen los pasos lógicos a realizar:

- I. Seleccionar la imagen de muestra de sangre.
- II. Convertir la imagen seleccionada a escala de grises.
- III. Seleccionar el método de segmentación a utilizar.
- IV. Generación automática de contornos de los objetos en la imagen seleccionada mediante el método de segmentación escogido.

- V. Generación automática de regiones de los objetos en la imagen seleccionada mediante el método de segmentación escogido.

A continuación, se muestra una imagen seleccionada, su equivalente a escala de grises y la obtención de los contornos y regiones generados mediante los métodos de segmentación escogidos.



**Figura 3.** Obtención de contornos y regiones mediante métodos de segmentación. Fuente: Elaboración propia.

a) Imagen de muestra de sangre. b) Imagen de muestra de sangre a escala de grises. c) Umbralización. d) Mean-Shift. e) Level-Set. f) Chan-Vese.

La segmentación es el proceso mediante el cual se particiona una imagen en regiones que son homogéneas con respecto a una o más características bajo cierto criterio, esto se logra identificando los píxeles que pertenecen a una misma clase (González & Woods, 2018). Un gran número de técnicas se han propuesto para el proceso de segmentación, las que a continuación serán descritas representan el mayor porcentaje de uso en investigaciones científicas llevadas hasta la fecha.

Descripción de los métodos de segmentación:

**Umbralización:** El método de umbralización hace una clasificación de la imagen en dos clases de píxeles. Este se considera apropiado precisamente para aplicar en imágenes como las de muestras de sangre, en las que los valores de intensidad de los objetos estén fuera del rango de los valores de intensidad del fondo. Básicamente podemos explicar la umbralización como sigue:

Tenemos una imagen  $f(x, y)$  compuesta por objetos luminosos y fondo oscuro, de tal forma que los píxeles de los objetos y los del fondo se pueden separar por su intensidad en dos grupos. Una forma obvia de separar los objetos del fondo es definir un umbral  $t$  que separe estos dos grupos. Entonces cualquier punto  $(x, y)$  para el cual  $f(x, y) \geq t$  es llamado un punto objeto, en caso contrario es llamado un punto fondo (Rahmat, Wulandari, Faza, Muchtar & Siregar, 2018). En otras palabras, la imagen  $g(x, y)$  se define como:

$$g(x, y) = \begin{cases} 0 & \text{si } f(x, y) \geq T \\ 1 & \text{si } f(x, y) < T \end{cases} \quad (1)$$

La determinación del umbral adecuado para una imagen dada es un factor crítico de la segmentación. Un método que permite calcular el valor de umbral automáticamente es el método de Otsu (Vasundhara & Preetham, 2017), que es el empleado en este trabajo.

Mean-Shift: El método de las medias desplazadas (Mean-Shift, en inglés) es una aproximación de agrupamiento donde cada objeto se mueve al área más densa en su proximidad (Jinghua, Jie, Juan & Lihui, 2011). El mismo se basa en un esquema iterativo que considera que el espacio de datos es una función de densidad de probabilidad muestreada y para cada punto del conjunto de datos, se encuentra la moda más cercana, definiendo una región alrededor de ese punto y encontrando su media, cambiando la situación de la media actual a la nueva (Shift), repitiéndose el proceso hasta que converja. En cada iteración del algoritmo se realizan sobre cada uno de los puntos de la imagen los siguientes pasos:

1. Se define una ventana de tamaño arbitrario.
2. Se ubica un punto  $x$  de la imagen en el centro de la ventana y se calcula la media correspondiente al conjunto de puntos pertenecientes a la misma. Para el cálculo de la media se utiliza la ecuación:

$$m_k(x) = \frac{\sum_{i=1}^n x_i k\left(\frac{x-x_i}{h}\right)}{\sum_{i=1}^n k\left(\frac{x-x_i}{h}\right)} \quad (2)$$

donde:

- $N(x)$  es el conjunto de puntos que se encuentran dentro de la ventana.  $x$  es el punto seleccionado.
- $h$  es el ancho de ventana que representa el rango de influencia que se le da a cada elemento.
- $k$  es una función núcleo utilizada para aproximar una función de densidad de probabilidad subyacente del conjunto de datos.

3. Se reemplaza el valor del punto por el valor obtenido en el cálculo de la media.

Level-Set: El método de segmentación Level-Set es un método numérico para controlar la evolución de contornos y superficies. En lugar de manipular el contorno directamente, el contorno se introduce como la curva de nivel cero dentro de una función de orden superior llamada función Level-Set  $\psi(X, t)$  (Xin, Renjie & Shengdong, 2012). Esta función se hace evolucionar bajo el control de una ecuación diferencial. En cualquier momento puede obtenerse el contorno envolvente extrayendo la curva de nivel cero  $\psi((X), t) = \{\psi(X, t) = 0\}$  a partir de la salida obtenida. La siguiente ecuación representa la ecuación diferencial genérica para una función de Level-Set; cada algoritmo de este tipo particularizará de una manera distinta dicha ecuación diferencial.

$$\frac{d}{dt}\psi = -\alpha A(x) * \nabla\psi - \beta P(x)|\nabla\psi| + \gamma Z(x)k|\nabla\psi| \quad (3)$$

Donde  $A$  es el término de advenimiento,  $P$  el termino de propagación (expansión) y  $Z$  un modificador espacial para la curvatura media  $k$ . Los escalares  $\alpha$ ,  $\beta$ , y  $\gamma$  son pesos relativos a la influencia de cada término en la evolución. En un caso de uso típico, un contorno es inicializado por el usuario y es luego evolucionado hasta que se ajusta a la forma anatómica de la estructura de la imagen.

Chan-Vese: El algoritmo Mumford-Shah es usado para establecer un criterio óptimo para la segmentación de imágenes en subregiones. Una imagen es modelada como una función de suavidad por partes. La función penaliza la distancia entre el modelo y la imagen original, la falta de suavidad en el modelo dentro de las subregiones y el tamaño de los límites de las subregiones. Mediante la minimización de esta función se obtiene el mejor resultado de la segmentación. Sea  $f$  que denota una imagen dada en escala de grises en el dominio  $\Omega$  a ser segmentado, se aproxima la imagen  $f$  por una función de suavidad por partes  $u$  como la solución de un problema de minimización, donde  $C$  es el borde de una curva dada.

$$arg_{u,C} \min \mu Length(C) + \lambda \int_{\Omega} (f(x) - u(x))^2 dx + \int_{\Omega/C} |\nabla u(x)|^2 dx \quad (4)$$

Comparado con el modelo Mumford-Shah, la principal diferencia de Chan-Vese es que se adiciona un nuevo término que penaliza el área encerrada y una mayor simplificación de  $\mu$ , permitiendo que  $\mu$  solo tome dos valores (Getreuer, 2012), o sea que el resultado de la segmentación será una imagen binaria:

$$u(x) = \begin{cases} c_1 & \text{donde } x \text{ está dentro de } C \\ c_2 & \text{donde } x \text{ está fuera de } C \end{cases} \quad (5)$$

Donde  $C$  es el borde de una curva dada y  $c_1$  y  $c_2$  son los valores de  $\mu$  adentro y afuera de  $C$  respectivamente. El método Chan-Vese consiste en encontrar entre todas las  $\mu$  la que mejor se aproxima a  $f$ :

$$\arg_{c_1, c_2, C} \min \mu \text{Length}(C) + v \text{Area}(\text{dentro}(C)) + \lambda_1 \int_{\text{dentro}(C)} |f(x) - c_1|^2 dx + \lambda_2 \int_{\text{fuera}(C)} |f(x) - c_2|^2 dx \quad (6)$$

El primer término asegura la regularidad de  $C$  mediante la penalización del tamaño de los límites, el segundo término penaliza el área dentro de  $C$  controlando su tamaño y el tercero y el cuarto penalizan las discrepancias entre  $f$  y  $\mu$ .

1. Aplicación de las métricas a los contornos y regiones obtenidos: Esta fase tiene como objetivo ejecutar las métricas, sobre los contornos y regiones de prueba con respecto a los contornos y regiones generados por los métodos de segmentación en la imagen seleccionada. A continuación, se describen los pasos lógicos a realizar:
  - I. Seleccionar los contornos y regiones de prueba, en la imagen de muestra de sangre seleccionada.
  - II. Seleccionar los contornos y regiones generados por los métodos de segmentación, en la imagen de muestra de sangre escogida.
  - III. Seleccionar la métrica de evaluación.
  - IV. Aplicar la métrica sobre los contornos y regiones de prueba con respecto a los contornos y regiones generadas por los métodos de segmentación, en la imagen de muestra de sangre.
  - V. Mostrar los resultados de la métrica.

Los métodos de evaluación de segmentación de imágenes pueden ser clasificados en métodos analíticos y métodos empíricos. Los métodos analíticos tratan los algoritmos de segmentación directamente y están dirigidos a examinar su principio de funcionamiento; mientras que, los métodos empíricos juzgan la imagen segmentada de acuerdo con un criterio predefinido (métodos no supervisados), o comparando con una imagen de referencia (métodos supervisados), para evaluar indirectamente el rendimiento de los algoritmos. La evaluación empírica es prácticamente más eficaz y la más utilizada, los métodos empíricos se clasifican en: grupo de métodos de bondad (Goodness methods, en inglés), y grupo de métodos de diferencias (Discrepancy methods, en inglés). Estos grupos de métodos usan diferentes criterios empíricos para juzgar el rendimiento de los algoritmos de segmentación. Los Métodos de Bondad pueden realizar la evaluación sin la ayuda de imágenes de referencia, mientras que los Métodos de Diferencias necesitan alguna imagen de referencia para arbitrar la calidad de la segmentación (Gil, 2011).

En este trabajo se emplean métodos empíricos de diferencias los cuales comparan la imagen segmentada o la imagen de salida contra una imagen de referencia (mejor resultado esperado de la segmentación) y usan sus diferencias para evaluar el rendimiento de los algoritmos de segmentación. Estos métodos tratan de determinar cuán lejos está la imagen segmentada de la imagen de referencia. Un valor más alto de la medida de diferencias implicaría un error más grande en la imagen segmentada relativa a la imagen de referencia, y esto indica que el algoritmo de segmentación aplicado tiene un rendimiento más bajo.

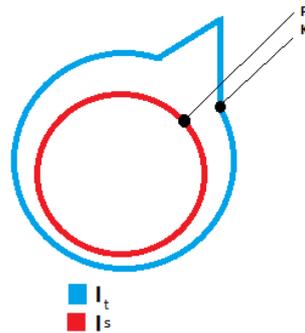
Descripción de las métricas de evaluación:

Medidas de media y varianza: Para evaluar un método de detección de contornos se utilizan dos criterios estadísticos característicos de la detección de error: la media y la varianza (Panduro, 2010).

$$M = \frac{1}{\text{card}(I_s)} \sum_{i=1}^{\text{card}(I_s)} d(i) \quad (7)$$

$$V = \frac{1}{\text{card}(I_s)} \sum_{i=1}^{\text{card}(I_s)} d^2(i) \quad (8)$$

Donde  $d(i)$  es la distancia entre el  $i^{\text{th}}$  píxel de la segmentación  $I_s$  y el píxel más cercano en el contorno de prueba  $I_t$ . La primera medida da una idea de la distancia media que existe entre los píxeles del contorno de prueba y los de la segmentación  $I_s$ , aunque puede darse el caso en el que una segmentación  $I_s$  tenga gran cantidad de píxeles muy cercanos a  $I_s$  y otro grupo de píxeles muy lejanos, o sea que exista dispersión en los píxeles y aun así obtener una buena media. Sin embargo, esto no pasa con la varianza, la cual penaliza los píxeles más alejados haciendo que la medida de similitud crezca mucho si hay píxeles muy dispersos. Como consecuencia de esto se tiene que si una segmentación aporta un buen valor para la media y uno malo para la varianza entonces los píxeles de esta están dispersos y no es una buena segmentación. Otro problema que tienen estas dos medidas es que no penaliza formas abruptas en la segmentación. En la Figura 4 se muestra el resultado de la segmentación  $I_s$  y el contorno de prueba  $I_t$ .



**Figura 4.** Forma abrupta en los contornos. Fuente: Elaboración propia.

Para obtener la media y la varianza en el punto  $P$  o cualquier punto en la vecindad de este, el píxel más cercano en  $I_t$  será el punto  $K$  y no quedará reflejado en el resultado la forma abrupta que tiene el contorno  $I_t$ , o sea, en el resultado de la medida no existirá diferencia, aunque el contorno muestre esta característica. Para enfrentar esta situación es usada la distancia de Baddeley.

Distancia de Baddeley: Sea  $X$  un dominio común de dos resultados de segmentación  $I_1$  y  $I_2$ .

$$D_B(I_1, I_2) = \left[ \frac{1}{\text{card}(X)} \sum_{x \in X} |d(x, I_1) - d(x, I_2)|^p \right]^{\frac{1}{p}} \quad (9)$$

Donde  $I_1$  y  $I_2$ , corresponden al conjunto de píxeles del contorno de la segmentación.  $d(x, 1)$  es la distancia del píxel  $x$  al píxel más cercano en el contorno de la imagen  $I$  y  $p > 1$

Índice de Jaccard: El índice de Jaccard mide el grado de similitud entre dos conjuntos, sea cual sea el tipo de elementos. La formulación es la siguiente:

$$J(A, B) = |A \cap B| / |A \cup B| \quad (10)$$

El mismo siempre toma valores entre 0 y 1, correspondiente este último a la igualdad total entre ambos conjuntos (Altinsoy et al, 2019).

Índice de Dice: Este coeficiente es un estadístico utilizado para comparar la similitud de dos muestras, pero también puede ser visto como una medida de similitud sobre conjuntos que varía de 0 a 1 en dependencia de la similitud (Altinsoy et al, 2019):

$$D(A, B) = 2|A \cap B| / (|A| + |B|) \quad (11)$$

Los métodos de segmentación propuestos, así como las métricas de evaluación de segmentación fueron implementadas en el software MatLab R2017a 64 bit para Windows, fue empleada una GUIDE (editor de interfaces de usuario - GUI) lo que permite interactuar y llevar a cabo parte del proceso requerido. Todas las pruebas fueron realizadas en una computadora con microprocesador Intel(R) Core (TM) I7- 4800MQ a 2.7 GHz con 8 Gb de memoria RAM.

4. Evaluación de resultados: En la sección de **Resultados y discusión**, se realiza un mejor análisis de esta última fase del proceso para de determinar el mejor método de segmentación.

### Resultados y discusión.

A continuación, se muestran en formato tabular y gráfico, los valores obtenidos por cada una de las métricas de evaluación de métodos de segmentación. Es válido retomar el significado de cada una de estas medidas al ser aplicadas:

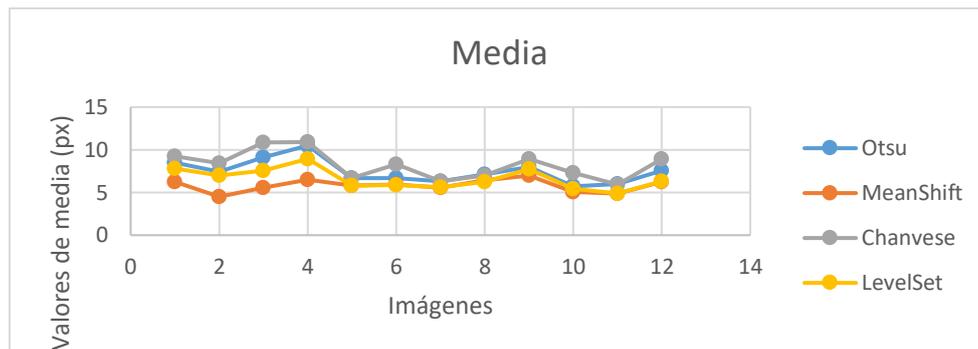
1. Media: El valor obtenido por este criterio estadístico representa cuán lejanos se encuentran los píxeles de los contornos obtenidos por los algoritmos, respecto a los píxeles de los contornos de prueba, por lo que, a menores valores, mejor es la segmentación obtenida.
2. Varianza: La medida obtenida representa la dispersión a la que se encuentran los píxeles de los contornos obtenidos por los algoritmos, respecto a los píxeles de los contornos de prueba, pero en este caso penalizada la dispersión existente entre los píxeles con valores muy elevados, denotando una peor segmentación para los métodos en los que este valor sea más alto.
3. Distancia de Baddeley: Esta es una medida de distancia más realista entre los píxeles de los contornos obtenidos por los algoritmos, respecto a los píxeles de los contornos de prueba aportados por los especialistas. Esta métrica penaliza formas abruptas entre los contornos y a menor valor de esta distancia mejor es el desempeño del método de segmentación.
4. Índice de Jaccard y Dice: Los valores generados por estas dos métricas, permiten obtener una medida de similitud entre los píxeles pertenecientes a las regiones generadas por los algoritmos de segmentación y los píxeles de las regiones que forman parte de las imágenes aportados por los especialistas. Dichas medidas se expresan en valores entre 0-1, denotando los valores cercanos a cero la disparidad entre los conjuntos y valores cercanos a uno la igualdad entre estos.

**Tabla 1.**

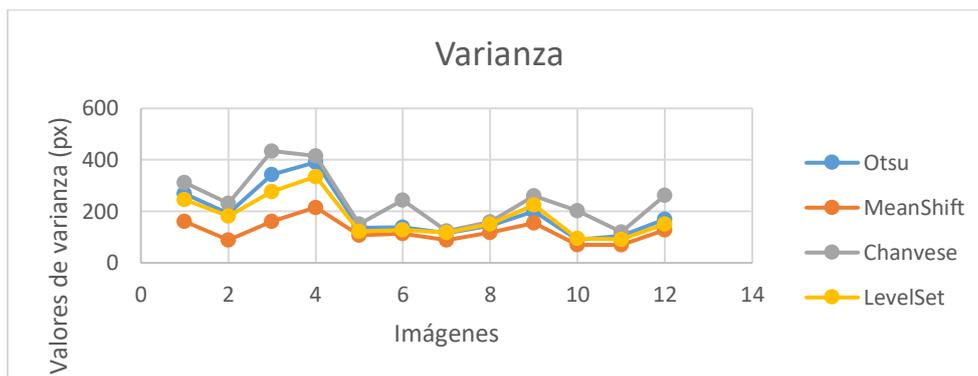
*Valores de la media y varianza para cada método de segmentación.*

No. Img	Media/Varianza Umbralización	Media/Varianza Mean-Shift	Media/Varianza Level-Set	Media/Varianza Chan-Vese
<b>Img 1</b>	8.08 / 258.31	6.24 / 160.23	7.76 / 244.8	8.83 / 298.7
<b>Img 2</b>	7.1 / 181.69	4.5 / 88.24	6.93 / 177.56	8.04 / 217.89
<b>Img 3</b>	8.77 / 332.03	5.57 / 160.94	7.49 / 274.41	10.47 / 419.48
<b>Img 4</b>	10.03 / 366.19	6.47 / 215.86	8.89 / 331.84	10.4 / 385.95
<b>Img 5</b>	6.48 / 132.94	5.81 / 107.24	5.77 / 120.08	6.47 / 143.99
<b>Img 6</b>	6.4 / 134.1	5.92 / 113.86	5.87 / 127.35	6.12 / 121.64
<b>Img 7</b>	6.15 / 112.33	5.58 / 89.13	5.63 / 117.65	6.06 / 118.48
<b>Img 8</b>	6.79 / 131.59	6.41 / 117.87	6.2 / 147.77	6.58 / 142.05
<b>Img 9</b>	7.69 / 196.05	6.97 / 155.51	7.76 / 224.18	7.42 / 180.49
<b>Img 10</b>	5.53 / 87.13	5.08 / 71.18	5.42 / 93.71	5.55 / 85.59
<b>Img 11</b>	5.65 / 96.92	4.85 / 69.97	4.87 / 90.35	5.53 / 109.58
<b>Img 12</b>	7.27 / 163.31	6.23 / 127.74	6.26 / 148.95	6.87 / 152.07
<b>Promedio</b>	<b>7.16 / 182.72</b>	<b>5.8 / 123.15</b>	<b>6.57 / 174.89</b>	<b>7.36 / 197.99</b>

Fuente: Elaboración propia.



**Figura 5.** Representación gráfica de los valores de la media para cada método de segmentación. Fuente: Elaboración propia.



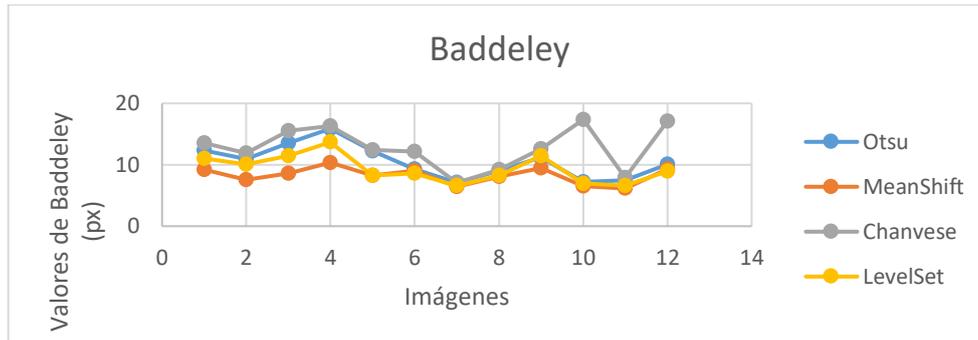
**Figura 6.** Representación gráfica de los valores de varianza para cada método de segmentación. Fuente: Elaboración propia.

**Tabla 2.**

Valores de la distancia de Baddeley para cada método de segmentación.

No. Img	Umbralización	Mean-Shift	Level-Set	Chan-Vese
Img 1	11.93	9.25	11.01	12.98
Img 2	10.59	7.52	10.07	11.63
Img 3	13.34	8.56	11.42	15.38
Img 4	15.07	10.35	13.58	15.55
Img 5	12.15	8.29	8.23	12.30
Img 6	9.05	9.01	8.57	8.57
Img 7	7.00	6.44	6.56	6.93
Img 8	8.59	8.12	8.22	8.60
Img 9	11.00	9.44	11.44	10.61
Img 10	7.02	6.52	6.96	6.99
Img 11	7.16	6.14	6.54	7.61
Img 12	9.75	9.28	8.90	9.71
<b>Promedio</b>	<b>10.22</b>	<b>8.24</b>	<b>9.29</b>	<b>10.57</b>

Fuente: Elaboración propia.



**Figura 7.** Representación gráfica de los valores de distancia de Baddeley para cada método de segmentación. Fuente: Elaboración propia.

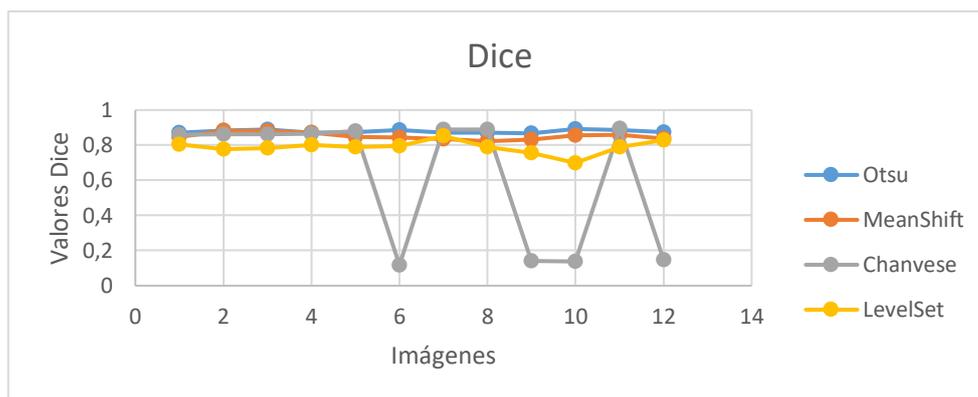
Tabla 3.  
Valores del índice de Jaccard para cada método de segmentación.

No. Img	Jaccard/ Dice Umbralización	Jaccard/ Dice Mean-Shift	Jaccard/ Dice Level-Set	Jaccard/ Dice Chan-Vese
<b>Img 1</b>	0.77 / 0.87	0.73 / 0.85	0.67 / 0.80	0.75 / 0.86
<b>Img 2</b>	0.79 / 0.88	0.79 / 0.88	0.64 / 0.78	0.76 / 0.86
<b>Img 3</b>	0.80 / 0.89	0.79 / 0.88	0.64 / 0.78	0.76 / 0.86
<b>Img 4</b>	0.77 / 0.87	0.77 / 0.87	0.67 / 0.80	0.76 / 0.86
<b>Img 5</b>	0.78 / 0.87	0.74 / 0.85	0.65 / 0.79	0.79 / 0.88
<b>Img 6</b>	0.80 / 0.89	0.73 / 0.84	0.66 / 0.80	0.06 / 0.12
<b>Img 7</b>	0.77 / 0.87	0.72 / 0.83	0.74 / 0.85	0.80 / 0.89
<b>Img 8</b>	0.77 / 0.87	0.70 / 0.82	0.65 / 0.79	0.80 / 0.89
<b>Img 9</b>	0.77 / 0.87	0.71 / 0.83	0.61 / 0.76	0.08 / 0.14
<b>Img 10</b>	0.81 / 0.89	0.75 / 0.85	0.54 / 0.70	0.07 / 0.14
<b>Img 11</b>	0.79 / 0.88	0.75 / 0.86	0.65 / 0.79	0.81 / 0.90
<b>Img 12</b>	0.78 / 0.87	0.72 / 0.84	0.71 / 0.83	0.08 / 0.15
<b>Promedio</b>	<b>0.78 / 0.88</b>	<b>0.74 / 0.85</b>	<b>0.65 / 0.79</b>	<b>0.54 / 0.63</b>

Fuente: Elaboración propia.



**Figura 8.** Representación gráfica de los valores del índice de Jaccard para cada método de segmentación. Fuente: Elaboración propia.



**Figura 9.** Representación gráfica de los valores del índice de Dice para cada método de segmentación. Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 1 y la figura 5 se puede apreciar que los mejores valores para la media los alcanzó el método Mean-Shift, con un valor promedio de 5.80. El resto de los métodos alcanzaron valores superiores: Level-Set obtuvo 6.57, Umbralización alcanzó 7.16 y Chan-Vese 7.36. Estos resultados son menos representativos debido a que se obtienen bordes menos cercanos a los aportados por los especialistas, y esto afecta la distancia mínima obtenida entre los pares de píxeles valorados. También en esta misma tabla y la figura 6 observamos que el método Mean-Shift obtuvo los mejores resultados, con una varianza promedio de 123.15. El resto de los métodos alcanzaron valores alejados a los mostrados por este método, Level-Set obtuvo un 174.89, Umbralización 182.72 y Chan-Vese 197.99, denotando una alta dispersión de los píxeles en comparación con el contorno obtenido por el método Mean-Shift.

En los resultados expuestos en la Tabla 2 y la figura 7 se observa que el método Mean Shift alcanzó los mejores resultados con una distancia de Baddeley de 8.24, seguido del método de Level-Set con 9.29, Umbralización 10.22 y Chan-Vese 10.57.

Teniendo en cuenta los resultados mostrados en las tablas 3 y las figuras 8 y 9 se observa que el método Mean-Shift alcanzó los segundos mejores resultados con valores de similitud de 0.74 para el índice de Jaccard y 0.85 para el índice de Dice, solo superado por el método de Umbralización con 0.78 y 0.88 respectivamente, en cuanto a la similitud de las regiones obtenidas con respecto a su respectiva región de prueba.

Teniendo en cuenta los resultados podemos determinar que Mean-Shift ofrece mejores respuestas debido a que alcanza el primer lugar para el primer grupo de métricas en las que es evaluada la distancia y la dispersión de los píxeles en los bordes de las imágenes obtenidas y además también obtiene buenos resultados en cuanto a la similitud de las regiones obtenidas solo superado en un pequeño margen por el algoritmo de Umbralización que alcanza un tercer lugar al analizar las primeras métricas.

### Conclusiones

El presente trabajo propone un estudio experimental para evaluar la calidad de la segmentación en imágenes médicas de muestras de sangre periférica de pacientes con anemia drepanocítica obtenidas en los laboratorios clínicos del Hospital General Docente “Dr. Agostinho Neto” de la provincia de Guantánamo, utilizando métodos de segmentación Umbralización, Mean-Shift, Level-Set y Chan-Vese y medidas para evaluar la calidad de esta segmentación de media y varianza (valoración estadística), distancia de Baddeley (valoración geométrica) Jaccard y Dice (similitud entre regiones). La experimentación realizada permitió determinar que el método que mejor respuesta ofrece es el Mean-Shift, que alcanzó valores de media de 5.80, varianza de 123.15, distancia de Baddeley de 8.24, valores de similitud de 0.74 para el índice de Jaccard y 0.85 para el índice de Dice, superando en su conjunto al resto de los métodos de segmentación evaluados.

### Referencias Bibliográficas

- Altinsoy, E., Yilmaz, C., Wen, J., Wu, L., Yang, J., & Zhu, Y. (2019). Raw G-Band Chromosome Image Segmentation Using U-Net Based Neural Network. *Artificial Intelligence and Soft Computing*, 117-126. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-20915-5\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-030-20915-5_11).
- Fernández, J., Pérez, A., Fragoso, M. & Rivero, R. (2012). El diagnóstico temprano de la anemia falciforme: un problema no resuelto en África negra. *Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 28(2), 195-197.
- Getreuer, P. (2012). Chan-Vese Segmentation. *Image Processing on Line*, 5(2), 214-224.
- Gil, J. (2011). Evaluación de calidad en la segmentación de imágenes. Reporte técnico de reconocimiento de patrones. RT\_042, Serie Azul, (CENATAV), 14-15.
- González, C., & Woods, E. (2018). *Digital Image Processing*. Addison – Wesley, 4th Edition.
- Jinghua, L., Jie, C., Juan, Z. & Lihui z. (2011). Medical Image Segmentation Using Mean Shift Algorithm and General Edge Detection. *Proceedings of the 18th World Congress the International Federation of Automatic Control Milano (Italy)*, 44(I), 9656 - 9661. <https://doi.org/10.3182/20110828-6-IT-1002.02861>.
- Panduro, J. (2010). Estudio comparativo de algoritmos disponibles en itk para la segmentación de imágenes médicas. Aplicación al caso particular de la aurícula izquierda. (Tesis de grado), Universidad de Sevilla. Biblioteca de la Escuela Superior de Ingenieros de Sevilla. <http://bibing.us.es/proyectos/abreproy/11863/>
- Rahmat, R., Wulandari, F., Faza, S., Muchtar, M., & Siregar, I. (2018). The morphological classification of normal and abnormal red blood cell using Self Organizing Map. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 308, 012015.
- Vasundhara, A. & Preetham, K. (2017). Identification and Red Blood Cell Classification using Computer Aided System to Diagnose Blood Disorders. *2017 International Conference on Advances in Computing, Communications and Informatics, ICACCI - Manipal, Mangalore (India)*, 2098-2104
- World Health Organization (WHO). (2001). Sickle-cell disease and other haemoglobin disorders: an increasing global health problem. *Public Health Reviews*, 79(8), 704-712.
- Xin, J., Renjie, Z. & Shengdong, N. (2012). Image Segmentation Based on Level Set Method. *2012 International Conference on Medical Physics and Biomedical Engineering. Physics Procedia*, 33(2012), 840 – 845. <https://doi.org/10.1016/j.phpro.2012.05.143>.

DOI: <https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2021.6.04>

Merino Yan, R., Marañón Cardonne, M., Marañón Reyes, E.J., & García Leyva, A. (2021). Herramienta para la obtención de Patrones de Conectividad Cerebral en Pacientes con Deterioro Cognitivo. *Orange Journal*, 3(6), 34-47. <https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2021.6.04>

## Herramienta para la obtención de Patrones de Conectividad Cerebral en Pacientes con Deterioro Cognitivo

### Tool for obtaining Brain Connectivity Patterns in Patients with Cognitive Impairment

Recibido: 21 de septiembre de 2021      Aceptado: 27 de noviembre de 2021

Escrito por:

**Roddiel Merino Yan**<sup>12</sup>

<https://orcid.org/0000-0001-9200-1892>

**Miriam Marañón Cardonne**<sup>13</sup>

<https://orcid.org/0000-0003-2132-5958>

**Enrique J. Marañón Reyes**<sup>14</sup>

<https://orcid.org/0000-0002-6640-5487>

**Antonio García Leyva**<sup>15</sup>

<https://orcid.org/0000-0003-0428-6424>

#### Resumen

Las Enfermedades Neurodegenerativas son patologías crónicas que producen discapacidad física, intelectual y social, dependencia y disminución de la calidad de vida de la persona afectada y sus familiares, tiene significativa repercusión laboral y económica. Estas se definen como un grupo de padecimientos de origen en muchos casos desconocido y que tienen como atributo común el curso progresivo de los síntomas derivados del daño estructural y funcional de diferentes zonas del sistema nervioso. La Demencia o Trastorno Cognitivo, ocurre cuando el cerebro se afecta por una enfermedad o afección específica que causa deterioro cognitivo. La secuencia en el espectro de la demencia puede terminar en la forma más grave de la enfermedad. El deterioro cognitivo en muchos casos transita desde el leve, referido a una disminución de la función cognitiva mayor de lo esperado por la edad y al nivel de educación del individuo, pero sin interferir con sus actividades cotidianas. El diagnóstico temprano de la enfermedad y la asunción de tratamientos y sobre todo estilos de vida saludables, puede evitar o enlentecer el tránsito hacia la gravedad de la enfermedad y por ende mejorar la calidad de vida. Con el objetivo de contribuir a este propósito se diseñó una herramienta de software denominada Neuromap que permite obtener patrones de conectividad a partir de señales de EEG y realizar una prueba de profundidad de la demencia. De esta forma se enriquecen los instrumentos con que cuentan en la actualidad los especialistas de las ciencias médicas para obtener un mejor y más eficaz diagnóstico. La herramienta fue desarrollada en Matlab, utilizando herramientas de estudio del EEG.

**Palabras clave:** Deterioro Cognitivo Leve, Deterioro cognitivo mayor, Enfermedades Neurodegenerativas, Enfermedad de Alzheimer, Patrón de conectividad cerebral.

<sup>12</sup> Ingeniero Biomédico, Especialista B en Electromedicina, Centro Provincial de Electromedicina, Las Tunas, Cuba.

<sup>13</sup> Profesora Titular, Decana de la Facultad de Ingeniería en Telecomunicaciones, Informática y Biomédica, Universidad de Oriente, Cuba.

<sup>14</sup> Profesor Consultante, Centro Estudios de Neurociencia y Procesamiento de Imágenes y Señales, Santiago de Cuba, Cuba.

<sup>15</sup> Profesor Asistente, director de Desarrollo Tecnológico, Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado, Santiago de Cuba, Cuba.

## Abstract

Neurodegenerative Diseases are chronic pathologies that produce physical, intellectual and social disabilities, dependency and decrease in the quality of life of affected person and their family with a significant labor and economic repercussion. These are defined as a group of diseases of unknown origin in many cases and which have as common attribute the progressive course of the symptoms derived from the structural and functional damage of different nervous system areas. Dementia or Cognitive Disorder occurs when the brain is affected by a specific disease or condition that causes cognitive decline. The sequence on the spectrum of dementia can end in its severe form. In many cases Cognitive impairment transits from mild, referring to a decrease in cognitive function greater than expected by the age and level of education of an individual, but without interfering with daily activities. The early diagnosis of the disease and the assumption of treatments and, above all, healthy lifestyles, can avoid or slow down the transit towards the severity of the disease and therefore, improve the quality of life. In order to contribute to this purpose, was designed a software tool named Neuromap to obtain connectivity patterns from EEG signals and perform a dementia depth test. In this way, was enriched the instruments currently available to medical specialists to obtain a better and more efficient diagnosis. The tool was developed with Matlab, using the EEG study tools.

**Keywords:** Alzheimer Disease, Brain connectivity pattern, Mild Cognitive impairment, Major Cognitive Impairment, Neurodegenerative Disease.

## Introducción

Las Enfermedades Neurodegenerativas (EN) son padecimientos crónicos que tienden a generar discapacidad física, intelectual y social y, por tanto, dependencia y deterioro de la calidad de vida. Lo que va más allá de la afectación al paciente, alcanzando también a su familia. Estos padecimientos tienen una repercusión significativa en la actividad laboral y la economía por la atención familiar, social y sanitaria que precisan.

Las EN se definen como un grupo heterogéneo de enfermedades de causa aun no completamente esclarecida y que tienen como atributo común el curso progresivo de los síntomas de deterioro cognitivo, derivados del daño estructural y/o funcional del sistema nervioso central o periférico (Rodríguez Escobar et al, 2016).

Entre las EN, la demencia o Trastorno Cognitivo Mayor (TCM), ocurre cuando el cerebro se afecta por una enfermedad o afección específica que causa deterioro cognitivo. Al estudio de dichas enfermedades se le ha otorgado gran importancia debido a la tendencia al envejecimiento poblacional que se manifiesta a nivel global.

Se estima que en mundo existen 23,4 millones de personas con demencia (Capote Leyva et al, 2016), en las próximas décadas esta cifra aumentará ya que se aprecia un crecimiento exponencial de la enfermedad, duplicándose su incidencia cada 5 años. Prevalecen los enfermos a partir de los 65 años, aunque afecta también a personas jóvenes, y predomina el sexo femenino (Garre-Olmo, 2018).

El espectro de la demencia se puede apreciar como una secuencia de problemas cognitivos que comienza con deterioro cognitivo leve (DCL) y termina con demencia severa o Trastorno Cognitivo Mayor (TCM). El DCL se establece como una disminución de la función cognitiva mayor de lo esperado, con respecto a la edad y al nivel de educación de un individuo, pero que no interfiere con sus actividades diarias (Arriola Manchola et al., 2017). Clínicamente, es la etapa temprana de transición entre la cognición normal y el TCM.

En Cuba la demencia y la enfermedad de Alzheimer durante los años 2017 y 2018 causaron la muerte de 5 037 y 5 477 personas respectivamente, ubicándose como la sexta causa de muerte en el país (*ANUARIO ESTADÍSTICO DE SALUD 2018, 2019*). La prevalencia de la demencia en la población mayor de 65 años se sitúa entre 6,4 y 10,8 %, constituyendo la de tipo Alzheimer su causa más frecuente.

Se estima que en los próximos 15 años, la población mayor de 80 años ascenderá a casi medio millón de personas, de la cual alrededor del 40 % padecerá la enfermedad de Alzheimer, de manera que si no se encuentra una solución en los próximos años, en el año 2020 se duplicará la cifra existente hoy en día que asciende a 100 000, y que con este ritmo llegará a 350 000 para el año 2040 (Capote Leyva et al, 2016).

El procesamiento de los registros de Electroencefalografía (EEG) se vislumbra como herramienta efectiva para el diagnóstico desde etapas tempranas del trastorno cognitivo.

El método de obtención, a partir de estos registros, de patrones de conectividad cerebral en estado de reposo cuya obtención constituye antecedente de la presente investigación (García Leyva, 2018), permite diferenciar de manera efectiva los trastornos cognitivos y sus etapas, siendo una alternativa para elevar la eficacia y oportunidad de los diagnósticos, beneficiando así a la salud del paciente y por consiguiente la situación familiar.

Hasta el momento este método no contaba con una herramienta computacional que facilitara su uso por especialistas de salud e investigadores en la temática, de ahí que se abordó el siguiente **problema científico**: No se cuenta con una herramienta de software capaz de analizar la conectividad cerebral de pacientes en estado de reposo con trastornos cognitivos.

Teniendo como **objeto de la investigación**: Diseño de software para diagnóstico de enfermedades neurodegenerativas en el que se precisa como **campo de acción**: Diseño de software para el diagnóstico de trastornos cognitivos.

Para dar solución al problema identificado se propuso como **objetivo general**:

Diseñar software para el diagnóstico de trastornos cognitivos en estado de reposo a partir del procesamiento digital de señales de EEG y la obtención de los patrones de conectividad cerebral en pacientes con trastornos cognitivos.

Se definieron como **objetivos específicos**:

- Definir los criterios de diagnóstico que se ofrecerán al especialista
- Obtener los patrones de conectividad a partir del procesamiento de la señal de EEG.
- Desarrollar la herramienta de software que permita obtener los patrones de conectividad cerebral y ofrecer elementos de apoyo al diagnóstico.

El problema señalado, así como la precisión del objetivo general en esta investigación responden a la **hipótesis**: Es posible diseñar un software para obtener patrones de conectividad cerebral mediante el método de mapeo cerebral que auxilie al especialista en el diagnóstico de trastornos cognitivos.

### Marco Teórico

La conectividad cerebral es un término referido a tres aspectos fundamentales: el patrón de enlaces anatómicos (Conectividad Anatómica), el patrón de dependencias estadísticas (Conectividad Funcional), o a el patrón de interacciones causales entre unidades distintas dentro del sistema nervioso (Conectividad Efectiva), estas unidades se corresponden con neuronas individuales, poblaciones neuronales, o regiones anatómicamente segregadas del cerebro (Sporns, 2007).

Los patrones de conectividad están formados por los enlaces que se establecen por medio de la sinapsis o por los enlaces a través de haces de fibra, o representando relaciones estadísticas o causales que pueden ser medidas a través de correlación, coherencia o flujo de información. La actividad neuronal y, por extensión, los códigos neuronales, están limitados por la conectividad, por lo que esta es crucial para dilucidar cómo las neuronas y las redes neuronales procesan la información (Horwitz, 2003).

La conectividad anatómica está referida a una red de conexiones físicas o estructurales (sinápticas) que unen conjuntos de neuronas o elementos neuronales, así como sus atributos biofísicos estructurales

asociados. El patrón físico de las conexiones anatómicas es relativamente estable en escalas de tiempo pequeñas (segundos a minutos). En escalas de tiempo más largas (de horas a días), los patrones de conectividad estructural probablemente están sujetos a los cambios morfológicos que ocurren en el cerebro. Es importante señalar que solo los estudios de rastreo invasivo actualmente son capaces de demostrar las conexiones axonales directas (García Leyva, 2018).

La conectividad funcional, es fundamentalmente un concepto estadístico, en general captura las desviaciones de la independencia estadística entre las unidades neuronales (distribuidas y espacialmente remotas), o sea, se verifica que la actividad de dos estructuras cerebrales está relacionada, de lo contrario, si la actividad de una estructura no depende de la actividad de la otra, entonces se dice que tienen independencia estadística. Esta puede estimarse midiendo la correlación o la covarianza, la coherencia espectral o la sincronización de fase. La conectividad funcional es altamente dependiente del tiempo y a menudo se calcula entre todos los elementos de un sistema, independientemente de si estos elementos están conectados por enlaces estructurales directos o no (Sporns, 2007).

La conectividad efectiva se puede interpretar como la unión de la conectividad estructural y la funcional, ya que describe las redes de efectos direccionales de un elemento neuronal sobre otro. Los principios aplicados para su evaluación son los efectos causales que pueden inferirse a través de perturbaciones sistemáticas del sistema o a través del análisis de series de temporales, dado que las causas deben preceder a los efectos en el tiempo (McIntosh & Mišić, 2013).

Formalmente, los patrones de conectividad cerebral se pueden representar en forma de grafos, los cuales pueden ser ponderados, con pesos que representen diversos parámetros, o representarlos de forma binaria, con elementos binarios (nodos y aristas) que indican la presencia o ausencia de una conexión (García Leyva, 2018).

La relación entre la conectividad anatómica, funcional y efectiva en la corteza representa un desafío significativo para la neurociencia teórica actual. Dos principios potenciales que vinculan estos diferentes modos de conectividad cerebral son la segregación y la integración (Tononi, Sporns, & Edelman, 1994). La segregación se refiere a la existencia de neuronas y áreas cerebrales especializadas, organizadas en distintas poblaciones neuronales y agrupadas para formar áreas corticales. El principio complementario, la integración, da lugar a la activación coordinada de poblaciones neuronales distribuidas, lo que permite el surgimiento de estados cognitivos y conductuales coherentes. La interacción de la segregación y la integración en redes cerebrales genera información que a la vez está muy diversificada y altamente integrada, creando así patrones de alta complejidad (Shine, Aburn, Breakspear, & Poldrack, 2018).

### **Análisis de conectividad: métodos, modelos y técnicas**

Los métodos computacionales para el procesamiento del EEG analizan la conectividad cerebral en dos dominios o espacios diferentes, uno de ellos es el espacio "Electrodos" (Scalp), el cual genera discrepancias y polémica en la comunidad científica, relacionadas con el proceso de inferir las interacciones de las diferentes estructuras cerebrales debido a los efectos que provoca la conducción del volumen cerebral, por lo que se plantea que reconstruir las fuentes de la actividad cerebral a partir de los datos registrados, o sea, analizar la conectividad en el dominio fuente (Source) es la forma más precisa de inferir las interacciones entre diferentes estructuras (García Leyva, 2018).

Evidencias básicas de la fisiología cortical permiten establecer algunas predicciones sobre las fuentes corticales de las señales de EEG. La corteza posee una densidad extremadamente alta de conexiones locales (Shine et al., 2018) las cuales están eléctricamente alejadas del cuero cabelludo donde se registra el EEG, por lo que es más probable que la fuente de los registros sean regiones compactas de corteza cuya actividad eléctrica local, a escala neuronal, está similarmente orientada por la geometría cortical y parcialmente sincronizada en el orden de  $\text{cm}^2$ , sin embargo producen señales que pueden alcanzar el cuero cabelludo por medio de la conducción del volumen cerebral. Todo lo expuesto permite la aproximación a un modelo de fuente de actividad cerebral que es compatible con la fisiología cortical (Jones, 2000; Stettler, 2002).

### Separación de fuentes de actividad cerebral mediante ICA

La fase de preprocesado de una señal EEG no garantiza la eliminación total de todos los artefactos. Por ello, se debe acudir a técnicas de reducción de dimensionalidad. En este tipo de técnicas la información redundante o innecesaria de cada canal es eliminada, facilitando así la búsqueda de información relevante. El análisis de componentes independientes (ICA) es una herramienta útil para descomponer señales de EEG en patrones de actividad con una máxima independencia, los cuales son compatibles con la actividad en una sola área cortical activa (Delorme et al., 2011; Makeig, Debener, Onton, & Delorme, 2004). Existen bases biológicas que sustentan esta afirmación, las cuales plantean que en circunstancias favorables, ICA debe separar las señales que surgen de las actividades de campo locales, en áreas de fuentes corticales compactas y físicamente distintas, basadas en el hecho de que las conexiones laterales de corto alcance ( $<100 \mu\text{m}$ ) entre las neuronas corticales son mucho más densas que las conexiones de mayor alcance (Stepanyants, Martinez, Ferecskó, & Kisvárdy, 2009; Stettler, 2002), mientras que las redes de células gliales e inhibitorias no tienen procesos de largo alcance. Además, las conexiones tálamo-corticales que también desempeñan un papel importante en la dinámica del campo son predominantemente radiales (García Leyva, 2018).

Este método ofrece una teoría de la dinámica cerebral mediante la separación de la actividad independiente en cada registro de EEG. Este proceso se realiza no por medio de un filtrado espacial directo para la actividad generada en un grupo de localizaciones corticales predefinidas, sino mediante el uso de la información contenida en los datos en sí mismos, para separar porciones de datos registrados en el cuero cabelludo a partir de cada área activa o fuente de actividad cortical o artefactos, basándose en la asunción estadística y fisiológicamente probable, de que en el tiempo, estas actividades deben ser o estar cerca, de la independencia la una de la otra (Wessel, 2018).

La principal ventaja de esta teoría es que la actividad localmente coherente, constituyente de una sola fuente de EEG, puede ser agrupada en una sola componente independiente que incluye su proyección a todos los canales, mientras que la actividad de las fuentes de EEG no relacionadas, puede ser descartada de esta componente independiente y aislada a otra componente independiente. De esta forma, bajo circunstancias favorables, ICA puede transformar datos registrados con una alta densidad de electrodos, en un grupo de fuentes corticales y artefactos por separado (García Leyva, 2018).

Cuando se aplica ICA al procesamiento de datos de EEG es necesario establecer ciertas consideraciones relacionados con la fisiología del fenómeno en cuestión. Una suposición general y fisiológicamente posible, presente en la mayoría de los análisis relacionados con el EEG, es que la mayoría de los potenciales de campo lejano, (*far-field potentials*) detectados en el cuero cabelludo, no fueron generados en el cuero cabelludo en sí mismo, pero sí dentro de su dominio espacial, o dígase en las áreas donde las neuronas corticales piramidales están similarmente orientadas. Un área cortical dada solo puede producir un potencial de campo lejano, y de este modo convertirse en una fuente de EEG, si los potenciales locales de las células piramidales que la rodean están parcialmente sincronizados (no es necesario que lo estén completamente) (Pesaran et al., 2018).

En la aplicación de ICA en este trabajo se asume que la actividad registrada en el cuero cabelludo es producida por fuentes corticales de EEG, la cual es proyectada casi instantáneamente al cuero cabelludo por medio del efecto de conducción del volumen cerebral. Esto significa que las señales registradas en el cuero cabelludo, son la mezcla de todos los potenciales originados en las áreas corticales cercanas, más las fuentes producidas por artefactos (García Leyva, 2018).

### Localización de fuentes de actividad cerebral

La comprensión del proceso de localización de fuentes de actividad cerebral requiere, primeramente, comprender los procesos que suceden a nivel biológico en el cerebro. El bloque de construcción principal del sistema nervioso humano es la neurona, y como en todas las demás células del organismo humano, el cuerpo celular de las neuronas contiene la información genética, así como una infraestructura para transportar fuera los productos del metabolismo básico de la célula.

Lo que separa a las neuronas de las otras células típicas es la presencia de dendritas y de un axón. Las dendritas son el lugar donde las neuronas integran la energía proveniente de otras células, la cual puede ser excitatoria o inhibitoria. Cuando un cierto umbral de energía es sobrepasado, es en el axón donde el potencial de acción se propaga, lo que significa que un neurotransmisor específico es liberado hasta el final de este a través de una estructura denominado sinapsis. Los neurotransmisores liberados a partir de la sinapsis están ligados a los receptores presentes en las dendritas de alguna otra neurona, la cual refleja una potencial post-sinapsis (PSP).

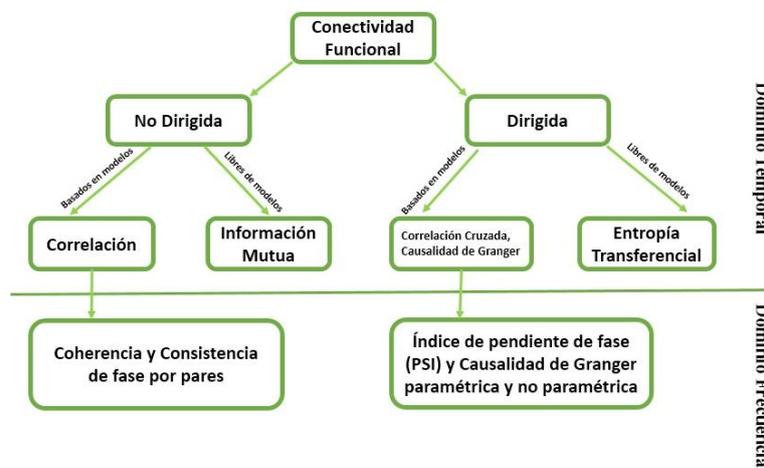
En la actualidad se conoce que las diferencias de potencial eléctrico en el cuero cabelludo son causadas por el PSP y están determinadas por la sumatoria espacial de la densidad de corriente proveniente de los potenciales post-sinapsis que ocurren sincrónicamente en un grupo de neuronas (Pascual-Marqui, 2009). Aunque todas las neuronas contribuyen a las señales de EEG, estas son primariamente generadas por neuronas en la superficie cortical (neuronas piramidales corticales) que están orientadas perpendicularmente a la superficie. Por otra parte, una sola neurona activa no es suficiente para generar una señal de EEG medible, solo cuando un grupo de neuronas piramidales corticales están dispuestas en paralelo y sincronizadas se puede, a través de la electroencefalografía, detectar una señal.

### Estimadores de Conectividad Cerebral

En la actualidad se han desarrollado diferentes estimadores de conectividad cerebral (Sakkalis, 2011) y para su estudio en esta tesis se han dividido en estimadores de conectividad funcional y de conectividad efectiva.

### Estimadores de Conectividad Funcional

La conectividad funcional del cerebro se puede estimar de varias maneras, por ejemplo, a través de correlaciones cruzadas en el dominio del tiempo o la frecuencia, información mutua o coherencia espectral. A continuación, se presenta una posible taxonomía de las métricas comúnmente utilizadas para estimar la conectividad funcional, figura 1.1. Una subdivisión se puede hacer en base a la métrica que cuantifica la dirección de la interacción. Las métricas de conectividad funcional no dirigida buscan capturar alguna forma de interdependencia entre las señales, sin referencia a la dirección de la influencia, por el contrario, las métricas de conectividad funcional dirigida tratan de establecer una causalidad estadística a partir de los datos, lo cual está basado en el precepto de que las causas preceden a sus efectos, y en el caso de la causalidad de Granger y la transferencia de entropía, las causas pueden en alguna manera predecir sus efectos.

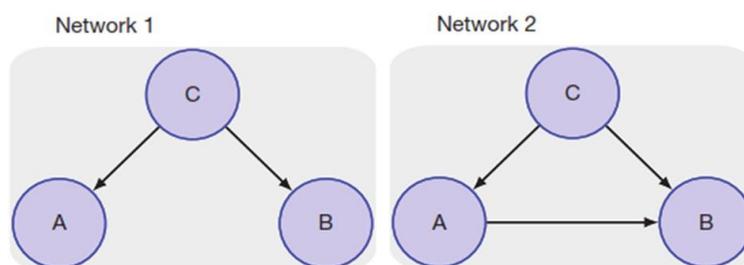


**Fig. 1.1.** Métricas comúnmente utilizadas para estimar la conectividad funcional. Tomado de (Bastos & Schoffelen, 2016).

### Estimadores de Conectividad Efectiva

La conectividad efectiva es una progresión lógica desde la conectividad funcional y se refiere a la influencia directa de un elemento neuronal en otro. La principal distinción entre conectividad funcional y efectiva radica en los niveles de inferencia que permiten. La conectividad funcional, estimada como dependencias estadísticas entre elementos neuronales, no permite la inferencia sobre la direccionalidad de la influencia, mientras que la conectividad efectiva se estima mediante la formulación de un modelo causal explícito de cómo los elementos neuronales interactúan entre sí, lo que permite la inferencia sobre las influencias direccionales.

Esto se ilustra en la figura 1. 2, en la que las dos redes anatómicas difieren en un aspecto: la presencia de una proyección directa desde el nodo A al nodo B (McIntosh & Korostil, 2008). Los nodos A y B reciben entradas comunes y, como resultado, mostrarán conectividad funcional en ambas redes. Por lo tanto, las dos redes no podrían diferenciarse en términos de conectividad funcional, pero sí en términos de conectividad efectiva. El propósito de la conectividad efectiva es modelar explícitamente la direccionalidad en la red (Vecchio et al., 2017)



**Fig. 1.2.** Dos configuraciones de redes diferentes, tomado de (Mišić & McIntosh, 2015)

Las redes tienen topologías similares, salvo una proyección de A hacia B, que está ausente en la red 1 y está presente en la red 2. Como A y B reciben entradas comunes de C, la conectividad funcional no podría distinguir entre las dos configuraciones. La conectividad efectiva, que modela explícitamente la direccionalidad de la influencia, podría determinar si existe alguna influencia residual de A y B, una vez que se tengan en cuenta los efectos intermedios de C.

Entre las técnicas empleadas para estimar la conectividad efectiva están los métodos confirmatorios, en el sentido de que se formula y prueba un modelo explícito, de las interacciones de los elementos, para ver si se ajusta a los datos observados. Estos métodos son el modelado de ecuaciones estructurales (SEM) y el modelado causal dinámico (DCM). Las otras técnicas son las basadas en la causalidad de Granger, empleadas para estimar la influencia causal entre elementos. Estas se aplican, generalmente, de manera exploratoria en cualquier par de elementos neurales (García Leyva, 2018).

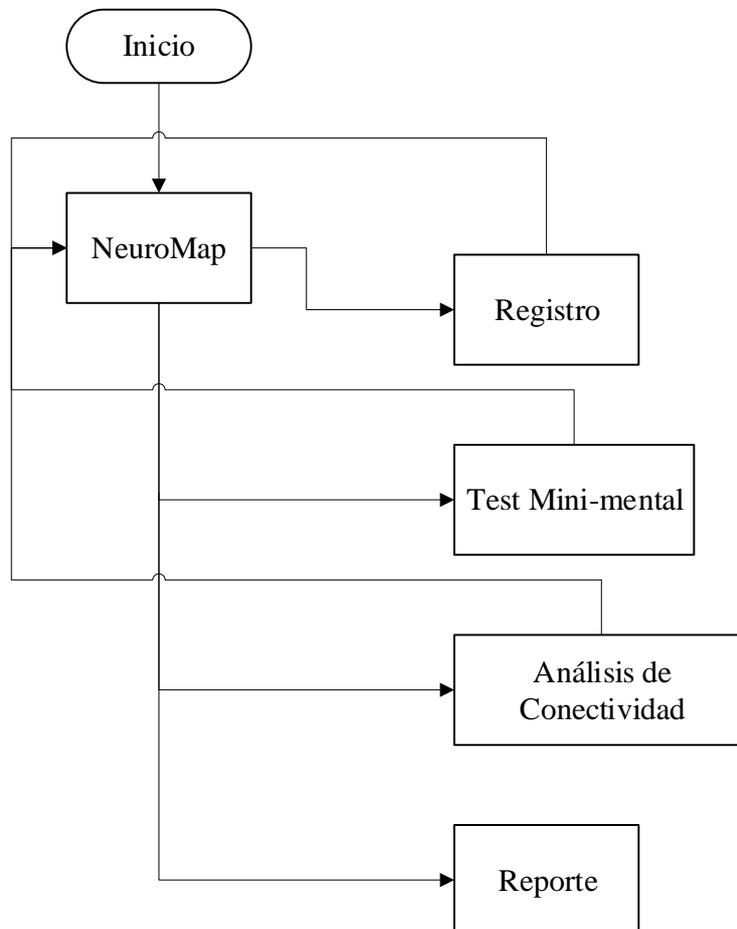
### Resultados y discusión

Como resultado de la investigación se desarrolló el software “*NeuroMap*” capaz de realizar el análisis de conectividad cerebral para determinar la existencia de signos de deterioro cognitivo.

### Descripción General del Sistema

La interfaz gráfica de usuario desarrollada “*NeuroMap*” se utiliza para el análisis de la señal de EEG y la presentación de los resultados obtenidos, está diseñada para la investigación y el diagnóstico de DCL mediante el método de mapeo cerebral, con el fin de dar al usuario un criterio adicional para emitir un diagnóstico. Posee opciones para la visualización de gráficos animados y estáticos de las fuentes de Conectividad, de la señal de EEG y sus respectivos episodios. La misma integra además una prueba para determinar la profundidad de la demencia (Test Mini-mental). La herramienta cuenta con un flujo de procesos como se muestra en la figura 1.3.

Se muestran la densidad espectral de potencia, el resultado del análisis de componentes independientes las fuentes de conectividad en forma de imágenes que reflejan la topografía craneal y la posibilidad de eliminar los artefactos causados por diversas causas obteniendo así resultados más favorables. Los resultados del análisis de conectividad se presentan de forma animada, figura 1.5,1.6,1.7 con la posibilidad de salvar las imágenes en el formato deseado. La herramienta ofrece la posibilidad de guardar estos resultados en un reporte en formato Word para que pueda ser estudiado por el especialista.



**Fig.1.3.** Diagrama de Flujo de herramienta Neuromap.

**Análisis de Conectividad** La corteza posee una densidad extremadamente alta de conexiones locales las cuales están eléctricamente alejadas del cuero cabelludo donde se registra el EEG, por lo que es más probable que la fuente de los registros sean regiones compactas de corteza cuya actividad eléctrica local, a escala neuronal, está similarmente orientada por la geometría cortical y parcialmente sincronizada en el orden de  $\text{cm}^2$ , sin embargo producen señales que pueden alcanzar el cuero cabelludo por medio de la conducción del volumen cerebral. Siguiendo esta premisa en esta ventana con diagrama de flujo de procesos mostrado en la figura 1.4 se realiza el análisis de conectividad a partir del registro de EEG introducido por el usuario en formato (.mat).

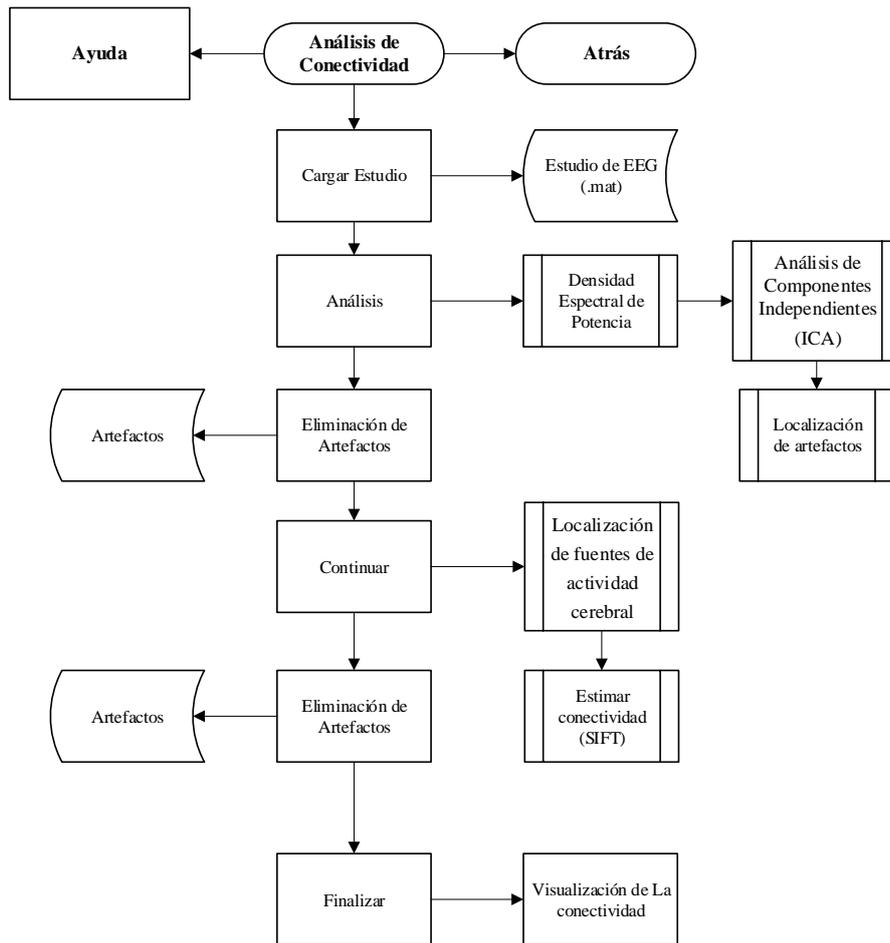


Fig. 1.4. Diagrama de flujo de Ventana Análisis de Conectividad.

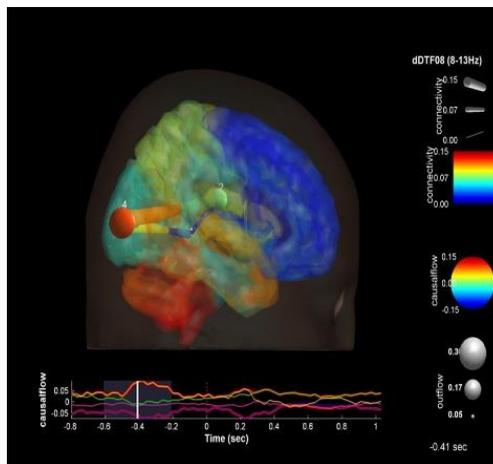
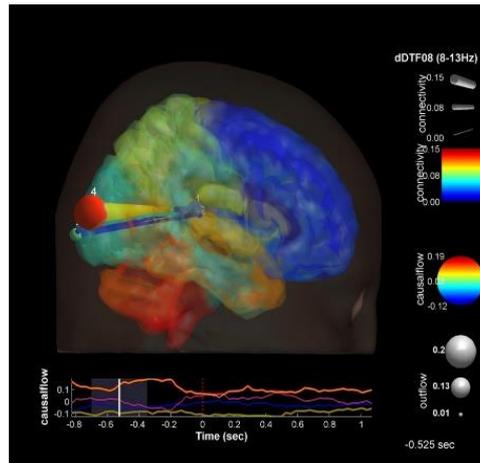
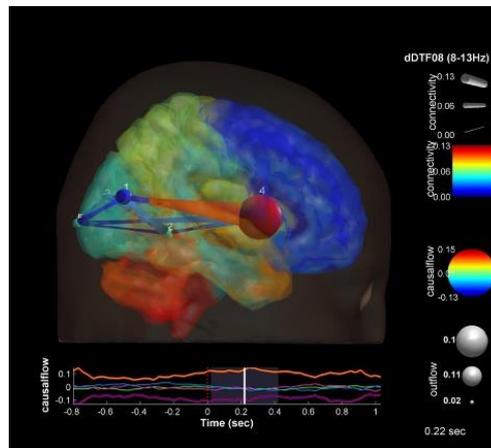


Fig. 1.5. Conectividad cerebral entre fuentes en un paciente sano.



**Fig. 1.6.** Conectividad cerebral entre fuentes en un paciente con DCL.



**Fig. 1.7.** Conectividad cerebral entre fuentes en un paciente con EA.

### **Análisis de conectividad cerebral en pacientes con Deterioro Cognitivo Leve**

La conectividad cerebral fue analizada en todos los grupos estudiados con el objetivo de identificar patrones de conexión característicos en dichos grupos. Nuestro trabajo apoya la opinión de que las alteraciones cognitivas asociadas a la EA pueden deberse no solo a la pérdida de neuronas, sino también a alteraciones en la coordinación temporal en la distribución de la actividad neuronal (Uhlhaas & Singer, 2006).

Un enfoque diferente es analizar el flujo de información electrofisiológica en el dominio fuente. Con el objetivo de abordar los resultados obtenidos en nuestra investigación se seleccionaron tres pacientes (uno de cada grupo), lo cuales representan las características encontradas en cada grupo estudiado.

La figura 1.5 muestra la vista sagital de un modelo de cerebro promedio (estándar NMI) en la cual se han representado las fuentes de actividad cerebral estimadas en un sujeto del grupo de pacientes supuestos sanos.

En la figura anterior se puede apreciar que en el dominio fuente se obtuvieron resultados consecuentes con los que se obtuvieron en el dominio sensor o electrodo, pues en esta figura se puede observar que la fuente número 4, en el intervalo de tiempo representado (0,4 segundos), es la fuente que está predominantemente activa y se encuentra localizada en la región posterior.

Las métricas relacionadas con la teoría de grafos, definidas en (Bullmore & Sporns, 2009; Seth, 2005), y que fueron aplicadas en esta investigación, muestran dos componentes, los nodos y las aristas (*edges*), que en este caso representan los enlaces entre las fuentes. La información proporcionada por el análisis mediante teoría de grafos y que está contenida en la figura anterior es: flujo de salida (*outflow*), representado mediante el tamaño de los nodos, y flujo causal (*causalflow*), representado mediante el color de los nodos.

El flujo de salida es la suma de la fuerza o fortaleza de la conectividad sobre los enlaces (aristas) en dirección saliente del nodo, y el flujo causal es el flujo de salida menos el flujo de entrada (*inflow*), el cual está definido por la suma de la fuerza o fortaleza de la conectividad sobre los enlaces (aristas) en dirección entrante del nodo.

Los valores obtenidos al aplicar el estimador de conectividad seleccionado, la dDTF, están codificados de igual manera mediante el grosor de las aristas (los enlaces que unen los nodos) y el color de estas.

El nodo 4 (fuente número 4) en el instante de tiempo analizado, presenta el valor máximo en cuanto a flujo de salida y el valor máximo en cuanto a flujo causal pero además tiene el máximo valor de conectividad en dirección a las otras fuentes. Estos resultados son consecuentes con los que se encontraron en el dominio electrodos para los pacientes del grupo de sujetos supuestos sanos, y reflejan los patrones de conectividad que fueron establecidos para este grupo, donde se pudo observar que la actividad cerebral para el estado de reposo con ojos cerrados que generaba en la región posterior del cerebro principalmente y luego se producía un flujo de información causal hacia el resto de las regiones cerebrales sobre todo hacia la región anterior.

Estos resultados están acorde con otros estudios relacionados con el estado cerebral analizado donde se han obtenido mediante EEG y validado mediante fMRI, las fuentes de la actividad cerebral y el flujo de información electrofisiológica entre estructuras cerebrales (Knyazev, Slobodskoj-Plusnin, Bocharov, & Pylkova, 2011; Mahjoory et al., 2017).

La figura 1.6 muestra la vista sagital en el modelo de cerebro promedio (estándar NMI), en el cual se han representado las fuentes de actividad cerebral estimadas en un sujeto del grupo de pacientes con DCL.

Al analizar las métricas obtenidas mediante la teoría de grafos podemos ver el nodo 4 (fuente número 4), localizado también en la región posterior del cerebro, en el instante de tiempo analizado, presenta un valor máximo en cuanto a flujo de salida y un valor máximo en cuanto a flujo causal pero además tiene el máximo valor de conectividad en dirección a una de las otras fuentes localizadas. Estas diferencias de conectividad, con relación a los pacientes sanos, no son considerables, pues aún en este estadio inicial de la enfermedad sus características no han manifestadas de forma precisa.

Los resultados antes expuestos evidencian que en este grupo de estudio no se encontraron diferencias en cuanto al flujo de información causal, de la región posterior a la región anterior en relación con el grupo de pacientes sanos en el dominio fuente.

La figura 1.7 muestra la vista sagital en el modelo de cerebro promedio (estándar NMI), en el cual se han representado las fuentes de actividad cerebral estimadas en un sujeto del grupo de pacientes con EA. En este grupo de pacientes fue donde principalmente se encontraron fuentes de actividad cerebral en regiones atípicas a las encontradas en los pacientes sanos para el estado cerebral analizado en esta investigación, por lo que la conectividad en el dominio fuente también refleja esas características anormales.

Al analizar las métricas obtenidas mediante la teoría de grafos podemos ver que en este caso el nodo 4 está localizado en la región temporal, y a pesar de que su tamaño e intensidad de color sugieren un valor elevado en su flujo de salida y en su flujo causal, se hace notar que la escala de medición difiere a los casos anteriores pues fue necesario disminuirla para que estas magnitudes pudieran ser apreciadas. Al realizar un análisis en detalle se puede apreciar que tanto el flujo de salida y el flujo causal, así como los valores de conectividad en las fuentes localizadas en la región posterior disminuyeron en relación con el grupo de pacientes sanos, solo observa un flujo de información desde la fuente 4 en la región temporal derecha hacia la región posterior, lo cual no es típico del estado cerebral analizado.

En estos pacientes no se aprecia el flujo causal de información desde la región posterior hacia la región anterior, que fue encontrado en los sujetos del grupo supuesto sano. Este fenómeno pudiera deberse a procesos relacionados con la atrofia cortical posterior (PCA) la cual ocurre cuando están afectadas áreas en la región posterior del cerebro, específicamente los lóbulos parietal y occipital (Lopez, 2014). Además, es conocido que la EA provoca la acumulación fragmentos de proteínas beta-amiloides (llamados placas beta-amiloides) fuera de las neuronas y la acumulación de una forma anormal de la proteína tau, dentro de las neuronas son dos de varios cambios cerebrales asociados con la enfermedad de Alzheimer.

Además se plantea la hipótesis de que las placas beta amiloideas contribuyen a la muerte celular al interferir con la comunicación de neurona a neurona en las sinapsis, mientras que forma anormal de la proteína tau, bloquea el transporte de nutrientes y otras moléculas esenciales dentro de las neuronas (Alzheimer's & Dementia, 2017).

Otro de los aspectos para tener en cuenta es que los cerebros de las personas con EA avanzada muestran inflamación, reducción dramática de la pérdida de células y restos diseminados de neuronas muertas o moribundas.

Los resultados presentados en este trabajo sugieren la posibilidad de aplicar los métodos y metodologías estudiadas, sensibles a las características de la enfermedad, para la clasificación de pacientes con trastornos cognitivos y el desarrollo de biomarcadores predictivos del riesgo de evolucionar de una etapa inicial de la enfermedad a un estadio avanzado.

### Conclusiones

Con el presente trabajo se dio cumplimiento a los objetivos propuestos:

1. Se creó la herramienta de software NeuroMap que permite obtener los patrones de conectividad cerebral mediante el método de mapeo cerebral que auxiliará al especialista en el diagnóstico de trastornos cognitivos.
2. La herramienta NeuroMap desarrollada incorpora elementos de apoyo al diagnóstico clínico con la incorporación de la prueba Mini-mental y el resultado del estudio de conectividad cerebral bajo los criterios previamente identificados como parte de la investigación.
3. A partir de los resultados obtenidos la herramienta puede ser de ayuda para diagnosticar casos de deterioro cognitivo leve ayudando así a reducir los posibles efectos de un diagnóstico tardío.
4. Por su diseño flexible la herramienta permite incorporar nuevas pruebas y métodos de procesamiento, en tanto avance la investigación.

### Referencias Bibliográficas

- Alzheimer's & Dementia (2017). Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*, 13(4), 325-373. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1552526017300511>. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2017.02.001>
- Arriola Manchola, E., Carnero Pardo, C., Freire Pérez, A., López Mongil, R., López Trigo, J. A., Manzano Palomo, S., & Olazarán Rodríguez, J. (2017). Deterioro cognitivo leve en el adulto mayor. Retrieved from [https://www.segg.es/media/descargas/Consenso%2520deteriorocognitivoleve.pdf&ved=2ahUKEwiL5bGI5\\_nzAhULRzABHdCOAPEQFnoECDIQAQ&usq=AOvVaw0Gcq6mXRqESFwZyQueXQtg](https://www.segg.es/media/descargas/Consenso%2520deteriorocognitivoleve.pdf&ved=2ahUKEwiL5bGI5_nzAhULRzABHdCOAPEQFnoECDIQAQ&usq=AOvVaw0Gcq6mXRqESFwZyQueXQtg)
- Bastos, A. M., & Schoffelen, J.-M. (2016). A Tutorial Review of Functional Connectivity Analysis Methods and Their Interpretational Pitfalls. *Front. Syst. Neurosci*, 9, 175. doi:10.3389/fnsys.2015.00175
- Bullmore, E., & Sporns, O. (2009). Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(3), 186.
- Capote Leyva, E., Casamayor, Z., Castañer Moreno, J., Rodríguez Apolinario, N., Moret Hernández, Y., & Peña Ruiz, R. (2016). Deterioro cognitivo y calidad de vida del adulto mayor con tratamiento sustitutivo de la función renal. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 45(3), 354-364. Recuperado

- en 31 de octubre de 2021, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138-65572016000300010&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572016000300010&lng=es&tlng=es).
- Delorme, A., Mullen, T., Kothe, C., Akalin Acar, Z., Bigdely-Shamlo, N., Vankov, A., & Makeig, S. (2011). EEGLAB, SIFT, NFT, BCILAB, and ERICA: New Tools for Advanced EEG Processing. *Computational Intelligence and Neuroscience*, 12. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1155/2011/130714>. doi:10.1155/2011/130714
- García Leyva, I. A. (2018). Obtención de Patrones de Conectividad Cerebral en pacientes con Deterioro Cognitivo en Estado de Reposo. (Máster en Ingeniería Biomédica), Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba.
- Garre-Olmo J. (2018). Epidemiología de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias [Epidemiology of Alzheimer's disease and other dementias]. *Rev Neurol*, 66(11), 377-386. Spanish. PMID: 29790571.
- Horwitz, B. (2003). The elusive concept of brain connectivity. *NeuroImage*, 19(2), 466-470.
- Jones, S. (2000). Alpha-frequency rhythms desynchronize over long cortical distances: a modeling study. *J. Comput. Neurosci*, 9, 271-291.
- Knyazev, G. G., Slobodskoj-Plusnin, J. Y., Bocharov, A. V., & Pyrkova, L. V. (2011). The default mode network and EEG alpha oscillations: An independent component analysis. *Brain Research*, 1402, 67-79. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899311009863>. doi:<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.05.052>
- Lopez, C. A. (2014). Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales: DSM-5. Editorial medica panamericana.
- Mahjoory, K., Nikulin, V. V., Botrel, L., Linkenkaer-Hansen, K., Fato, M. M., & Haufe, S. (2017). Consistency of EEG source localization and connectivity estimates. *NeuroImage*, 152, 590-601.
- Makeig, S., Debener, S., Onton, J., & Delorme, A. (2004). Mining event-related brain dynamics. *Trends in cognitive sciences*, 8(5), 204-210.
- McIntosh, A. R., & Korostil, M. (2008). Interpretation of neuroimaging data based on network concepts. *Brain Imaging and Behavior*, 2(4), 264.
- McIntosh, A. R., & Mišić, B. (2013). Multivariate Statistical Analyses for Neuroimaging Data. *Annual Review of Psychology*, 64(1), 499-525. Retrieved from <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-psych-113011-143804>. doi:10.1146/annurev-psych-113011-143804
- Mišić, B., & McIntosh, A. R. (2015). Effective Connectivity. In A. W. Toga (Ed.), *Brain Mapping* (pp. 587-592). Waltham: Academic Press.
- Pascual-Marqui, R. D. (2009). Theory of the EEG Inverse Problem. In S. Tong & N. V. Thakor (Eds.), *Quantitative EEG Analysis: Methods and Clinical Applications* (pp. 121-140). Boston: Artech House.
- Pesaran, B., Vinck, M., Einevoll, G. T., Sirota, A., Fries, P., Siegel, M., . . . Srinivasan, R. (2018). Investigating large-scale brain dynamics using field potential recordings: analysis and interpretation. *Nature neuroscience*.
- Rodríguez Escobar, J., del Moral Sánchez, J., García-Ramos García, R., M., Guía, R., Gómez Pastor, I., Martín Acero, T., Carrasco Marín, L., & Mayor de Frutos, A. (2016). Estrategia en Enfermedades Neurodegenerativas del Sistema Nacional de Salud. Madrid: Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Retrieved from [https://www.msbs.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/pdf/Est\\_Neurodegenerativas\\_APR\\_OBADA\\_C\\_INTERTERRITORIAL.pdf](https://www.msbs.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/pdf/Est_Neurodegenerativas_APR_OBADA_C_INTERTERRITORIAL.pdf)
- Sakkalis, V. (2011). Review of advanced techniques for the estimation of brain connectivity measured with EEG/MEG. *Computers in biology and medicine*, 41(12), 1110-1117.
- Seth, A. K. (2005). Causal connectivity of evolved neural networks during behavior. *Network: Computation in Neural Systems*, 16(1), 35-54.
- Shine, J. M., Aburn, M. J., Breakspear, M., & Poldrack, R. A. (2018). The modulation of neural gain facilitates a transition between functional segregation and integration in the brain. *Elife*, 7, e31130.
- Sporns, O. (2007). Brain connectivity. *Scholarpedia*, 2(10), 4695. doi:10.4249/scholarpedia.4695
- Stepanyants, A., Martínez, L. M., Ferecskó, A. S., & Kisvárdy, Z. F. (2009). The fractions of short-and long-range connections in the visual cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(9), 3555-3560.

- Stettler, D. (2002). Lateral connectivity and contextual interactions in macaque primary visual cortex. *Neuron*, 36, 739–750.
- Tononi, G., Sporns, O., & Edelman, G. M. (1994). A measure for brain complexity: relating functional segregation and integration in the nervous system. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(11), 5033-5037.
- Uhlhaas, P. J., & Singer, W. (2006). Neural synchrony in brain disorders: relevance for cognitive dysfunctions and pathophysiology. *Neuron*, 52(1), 155-168.
- Vecchio, F., Miraglia, F., Piludu, F., Granata, G., Romanello, R., Caulo, M., . . . Rossini, P. M. (2017). “Small World” architecture in brain connectivity and hippocampal volume in Alzheimer’s disease: a study via graph theory from EEG data. *Brain Imaging and Behavior*, 11(2), 473-485.
- Wessel, J. R. (2018). Testing multiple psychological processes for common neural mechanisms using EEG and independent component analysis. *Brain topography*, 31(1), 90-100.

DOI: <https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2021.6.05>

Savón Berenguer, A., & Blanco Lores, H. (2021). Sistema de Transmisión Interhospitalaria de Imágenes Médicas. *Orange Journal*, 3(6), 48-57. <https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2021.6.05>

## Sistema de Transmisión Interhospitalaria de Imágenes Médicas

### Interhospital Communication System of Medical Images

Recibido: 14 de noviembre de 2021

Aceptado: 17 de diciembre de 2021

Escrito por:

**Asday Savón Berenguer**<sup>16</sup>

<https://orcid.org/0000-0002-2188-6459>

**Henry Blanco Lores**<sup>17</sup>

<https://orcid.org/0000-0003-3132-5759>

#### Resumen

La transmisión de imágenes médicas entre instituciones hospitalarias, basada en estándares modernos y de manera segura, constituye una demanda no satisfecha dentro del Sistema de Salud de Cuba. Particularmente los departamentos radiológicos, que basan sus servicios en sistemas PACS, perciben tanto el incremento de los volúmenes diarios de información médica por las distintas modalidades imagenológicas como la reducción de personal especializado para analizar estos altos volúmenes. Las herramientas informáticas desplegadas en las instituciones hospitalarias no garantizan la compatibilidad con la normativa DICOM para la transmisión de imágenes médicas, lo cual limita o impide el intercambio entre ellas.

Se propone una solución basada en el sistema imagis PACS, desplegado en toda la región oriental de Cuba, y los servicios DICOM ofrecidos a través de la web que implementa el servidor DICOM ligero Orthanc, basados en el estándar DICOM. Se diseña un experimento para la validación de la solución, del cual se exponen los resultados obtenidos.

**Palabras clave:** transmisión inter-hospitalaria, imágenes médicas, DICOMweb, Orthanc, imagis.

#### Abstract

The transmission of medical images between hospital institutions, based on modern standards and in a safe manner, constitutes an unsatisfied demand within the Cuban Health System. Particularly radiological departments, which base their services on PACS systems, perceive both the increase in the daily volumes of medical information by the different imaging modalities and the reduction of specialized personnel to analyze these high volumes. The computer tools deployed in hospital institutions do not guarantee compatibility with the DICOM regulations for the transmission of medical images, which limits or prevents the exchange between them.

A solution is proposed based on the imagis PACS system, deployed throughout the eastern region of Cuba, and the DICOM services offered through the web that implements the lightweight Orthanc DICOM server, based on the DICOM standard. An experiment is designed for the validation of the solution, of which the results obtained are exposed.

**Key Words:** medical images, DICOMweb, imagis, interhospital communication, Orthanc

<sup>16</sup> Licenciado en Ciencias de la Computación, Centro de Biofísica Médica, Especialista "B" en Ciencias Informáticas, Gestión y Procesamiento de Datos Biomédicos, Patricio Lumumba s/n, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba.

<sup>17</sup> Máster en Ciencias de la Computación Henry Blanco Lores, Centro de Biofísica Médica, Investigador Auxiliar, Gestión y Procesamiento de Datos Biomédicos, Patricio Lumumba s/n, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba.

## Introducción

Transmitir imágenes médicas e información médica asociada, de forma rápida, segura y estandarizada, desde cualquier lugar y en cualquier momento, es un gran anhelo para la mayoría de las instituciones radiológicas cubanas, necesitadas de servicios de diagnóstico remoto, consultas de segunda opinión y discusión de casos. Aunque ha habido avances en este sentido por la industria nacional de software a través de sistemas como, imagis PACS y Alas PACS, aún quedan aspectos importantes a resolver para lograr una independencia tecnológica respecto a plataformas comerciales utilizadas para desarrollar estos servicios. No obstante, considerando la gran cantidad de sistemas y herramientas de código abierto orientados a la imagenología y disponibles además en Internet, creemos que: la transmisión inter-hospitalaria de imágenes médicas, de forma rápida, segura y estandarizada, es factible a través de una solución integral compuesta por varias de estas herramientas con sistemas de factura nacional como el sistema PACS imagis.

La transmisión rápida y segura de las imágenes médicas es un factor esencial para afrontar la actual sobrecarga de información existente, vinculada a la radiología (Acuña, 2020), (Prats & Izquierdo, 2020). Estos servicios radiológicos, soportados actualmente por sistemas de información conocidos como PACS, han visto crecer el volumen de imágenes generadas diariamente debido al incremento y especialización de modalidades imagenológicas como tomografía computada, resonancia magnética y ecocardiografía. A su vez esto ha provocado una notable insuficiencia respecto a la cantidad de radiólogos necesarios para procesar y analizar estos grandes volúmenes de datos (Acuña, 2020), (Oprisan, Arriagada, Delgado & Bonmatí, 2021), (Solís & Serrano, 2020), (Umaña, 2021). Una de las soluciones a este problema ha sido la creación de centros de diagnóstico a distancia y de telediagnóstico, lo que pone en primer plano el tema de la velocidad y la seguridad de la transmisión a través de redes de área global (Galván, Velázquez, Benítez, Ortellado, Rivas, Barrios & Hilario, 2017), (Moreno, 2017). Alcanzar velocidades próximas a los Gigabits por segundo y proveer un marco seguro de transmisión e integridad de los datos, son aspectos especialmente sensibles en las imágenes médicas. Por ejemplo, transmitir un estudio de tomografía computada (e.g., 200 imágenes de 512 KB) de forma local, en una institución médica, tomaría unos pocos segundos en completarse. Sin embargo, entre instituciones médicas este tiempo podría tomar varios minutos; que al multiplicarse por la cantidad de estudios que se generan diariamente en una institución de salud (no menos de 50 estudios diarios) tomaría horas en completar esta tarea.

Por otro lado, la seguridad de la transmisión, así como la integridad de las imágenes y datos asociados, es algo de alta sensibilidad en los servicios de salud. La no anonimización de los datos, así como la posibilidad de que las imágenes puedan ser interceptadas y alteradas por un tercero durante el proceso de transmisión, pueden generar serios problemas en el diagnóstico radiológico e incluso generar demandas judiciales por parte de los perjudicados (Emaldi, 2021), (Álvarez *et al.* 2020). En las redes de área local este problema es menos grave dado que, por regla, el acceso externo a los datos está limitado por cortafuegos o firewalls. Además, existe un protocolo de comunicación de imágenes médicas, conocido como DICOM, que proporciona diferentes mecanismos de seguridad, tanto en la transmisión local de los datos, como en la integridad de éstos. Sin embargo, en las redes de área global el escenario es diferente considerando que el protocolo DICOM no es permitido y que los protocolos de comunicación de datos más utilizados, HTTP (navegación web), SMTP (correo electrónico) y FTP (transferencia de archivos) no fueron concebidos para las imágenes médicas. En este otro escenario, las imágenes médicas son empaquetadas dentro de tramas correspondientes a los protocolos mencionados, y estos a su vez se apoyan en protocolos de seguridad muy populares conocidos como, SSL y TLS para proveer la necesaria seguridad e integridad de los datos durante la transmisión.

Diversas herramientas para la transmisión inter-hospitalaria de imágenes médicas disponibles en Internet, bajo el modelo de código abierto, junto a otras desarrolladas en Cuba, bajo el modelo de código cerrado, pueden ser utilizadas en beneficio de los servicios radiológicos. Uno de los casos más atractivos es el servidor ligero DICOM de código abierto, Orthanc (Jodogne, 2018). Este sistema provee una interfaz de usuario y varios plugins asociados que facilitan la búsqueda, recuperación y transmisión de imágenes médicas en servidores DICOM disponibles en redes de área local y global. Esta joven plataforma (creada en 2015), está disponible en los repositorios de varias distribuciones de Linux, haciéndolo muy atractivo para su uso inmediato. De hecho, varios sistemas de tipo comercial (e.g., GE Healthcare y Osimis) utilizan esta herramienta. Otro interesante sistema bajo el mismo modelo de código abierto es Dicoogle (Lebre,

Pinho, Silva & Costa, 2020). A través de su interfaz de usuario, algunos servicios web y una interfaz de programa, el sistema facilita la transmisión inter-hospitalaria de imágenes médicas. Su utilidad ha sido demostrada al ser utilizado como base de sistemas de software comerciales (e.g., “PACScenter”). Similarmente ha servido de base a actividades de investigación vinculadas a las imágenes médicas. En el ámbito nacional cubano destacan los sistemas PACS, Alas (Vega Izaguirre, Ciudad Ricardo, Duque García & Soler Izquierdo, 2020) e imagis (Mesa Pujals, Rodríguez Siret & Hernandez-Cortes, 2021), ampliamente utilizados en el sistema nacional de salud cubano. El primero bajo un modelo de tipo código cerrado y dirigido a sistemas operativos Windows; mientras que el segundo utiliza un modelo de código abierto y ha sido optimizado para sistemas Linux. Tanto Alas como imagis, brindan facilidades para el intercambio interhospitalario de imágenes médicas, utilizando protocolos propietarios, no compatibles con la normativa DICOM. Esto obviamente impone importantes barreras de integración no solo entre ellos sino con sistemas PACS de terceros; lo que va en detrimento de mejorar los servicios de comunicación de imágenes médicas en sentido general.

Las experiencias alcanzadas en el desarrollo de sistemas PACS propios, unido a la disponibilidad de herramientas compatibles con DICOM de tipo código abierto, crean las condiciones necesarias para el desarrollo de soluciones integrales que posibiliten la transmisión rápida, segura y estandarizada de las imágenes médicas. En este trabajo son presentadas evidencias sobre la factibilidad de este tipo de soluciones. En particular son aprovechados los servicios web proporcionados por el servidor DICOM Orthanc y el alcance del sistema PACS, imagis, en toda la región oriental de Cuba. Especial énfasis se realiza en ilustrar los tiempos de transmisión inter-hospitalaria de imágenes médicas para diferentes modalidades imagenológicas, simulando además el posible flujo de información en un entorno clínico real. La siguiente sección muestra la configuración de los sistemas Orthanc, DCM4CHEE<sup>18</sup> e imagis para lograr una transmisión segura, rápida y estandarizada. El diseño de los experimentos realizados es descrito, así como el procesamiento y análisis realizado a los datos obtenidos. En la sección Resultados y Discusión son presentados los tiempos de transmisión en diferentes situaciones operacionales, similares a las existentes en la práctica radiológica diaria. Por último, en la sección Conclusiones el significado de estos resultados son contrastados con respecto a nuestra hipótesis fundamental de trabajo.

### Marco Teórico

DICOM (Digital Imaging and Communication in Medicine) es un estándar mundial que especifica cómo debe realizarse la codificación y la transmisión de imágenes médicas y otros datos asociados (e.g., reportes imagenológicos), en una red digital de alcance local, utilizando el protocolo de red TCP/IP. Define además la codificación en disco de los objetos DICOM.

DICOMweb es una normativa, incluida en el estándar DICOM, que especifica cómo debe realizarse la comunicación de objetos DICOM (e.g., imágenes y reportes médicos) a través de la web, utilizando protocolos HTTP/HTTPS.

En sentido general, un PACS (Picture Archiving and Communication System) es un sistema de hardware y software, especializado en el almacenamiento y la transmisión de imágenes médicas en redes de computadoras y que comúnmente está basado en el estándar DICOM.

### Metodología

Con el objetivo de demostrar la factibilidad de la transmisión inter-hospitalaria de imágenes médicas de forma rápida y segura fueron realizados varios experimentos de comunicación de imágenes utilizando herramientas de tipo PACS, disponibles en Internet bajo el esquema de código abierto. La idea fundamental de estos experimentos ha sido simular el posible intercambio de imágenes entre servicios de radiología de la región oriental de Cuba.

<sup>18</sup> Este popular servidor de imágenes médicas está disponible bajo la modalidad de código abierto.

### Hospitales Participantes

Específicamente, las pruebas fueron realizadas entre tres importantes hospitales del oriente cubano. Estos hospitales representan una referencia en la región debido a la calidad de los servicios radiológicos que prestan, así como el volumen de imágenes que generan:

- Hospital Clínico Quirúrgico, Juan Bruno Zayas (Hospital JBZ). Ubicado en la ciudad de Santiago de Cuba, dispone de equipamiento imagenológico de alto nivel. En particular un resonador magnético de 1.5 Tesla, un tomógrafo axial computarizado monocorte y un equipo de rayos-X digitales.
- Hospital Clínico Quirúrgico, Saturnino Lora (Hospital SLT). Conocido como “Hospital Provincial” está también ubicado en la ciudad de Santiago de Cuba. Dispone de equipos de tomografía axial computarizada y de equipos de rayos-X digitales.
- Hospital Clínico Quirúrgico, Lucía Iñiguez Landín (Hospital LIL). Está ubicado en la ciudad de Holguín. Posee equipos de resonancia magnética, tomografía axial computarizada y equipos de rayos-X digitales.

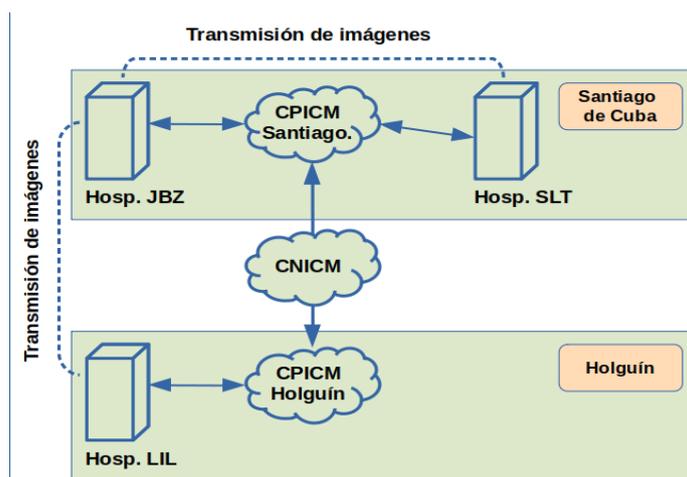
### Redes de Comunicación y Configuraciones Utilizadas

Los experimentos de comunicación de imágenes fueron realizados utilizando la red de datos para el sector de la salud conocida como CNICM<sup>19</sup>. En el caso de las provincias de Santiago de Cuba y Holguín fueron utilizadas las redes homólogas de cada uno de estos territorios, denominadas como CPICM<sup>20</sup> -Santiago y CPICM-Holguín respectivamente. La figura 1 (ver debajo) muestra el esquema general de interconexión entre 2 instituciones de salud de Santiago de Cuba (Hospital JBZ y el Hospital SLT), además de la interconexión entre el hospital JBZ y el Hospital LIL de la provincia de Holguín. Adicionalmente, la figura 2 muestra una versión simplificada de la configuración de red utilizada en la transmisión de imágenes entre las tres instituciones de salud mencionadas, utilizando los sistemas DCM4CHEE y Orthanc.

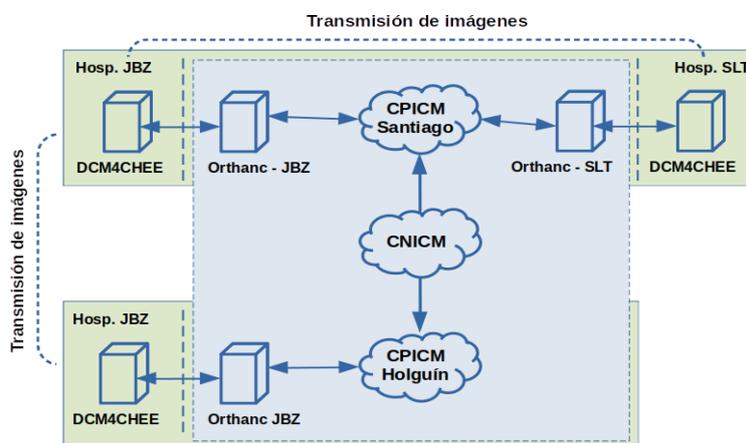
En cada una de las instituciones de salud consideradas existe un servidor de imágenes médicas compatible con el estándar DICOM (DCM4CHEE). Este servidor, conectado a la red local de la institución, recibe imágenes procedentes de las modalidades imagenológicas existentes (e.g., escáneres de CT, MR y equipos de RX) y distribuye estas imágenes a las diferentes estaciones de visualización radiológicas. Adicionalmente, para cada institución fue configurado un servidor ligero de imágenes médicas (Orthanc), encargado de transmitir imágenes médicas a través de redes de área global como se ilustra en la figura 2. Cada uno de estos servidores ligeros son visibles entre ellos dentro de la red de salud donde fueron configurados. En el caso de los servidores Orthanc de los hospitales Juan Bruno Zayas y Saturnino Lora Torres, ambos de la ciudad de Santiago de Cuba, estos están conectados a través del CPICM de esa ciudad. Y a su vez son enlazados con el hospital Lucía Iñiguez Landín de Holguín a través del CPICM de esa ciudad y del CNICM de Ciencias Médicas, conocido popularmente como INFOMED.

<sup>19</sup> Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas.

<sup>20</sup> Centro Provincial de Información de Ciencias Médicas.



**Fig. 1.** Esquema general de interconexión entre 3 hospitales de la región oriental de Cuba para la transmisión de imágenes médicas.



**Fig. 2.** Esquema de red correspondiente a los servidores de imágenes (DCM4CHEE y Orthanc) y la interconexión utilizada en los experimentos de transmisión de imágenes entre tres hospitales de la región oriental de Cuba.

### Juego de Datos y Transmisión de Imágenes

Considerando los tipos de imágenes generados en la práctica diaria por las instituciones de salud participantes, tres conjuntos de datos fueron conformados, uno por cada modalidad imagenológica (i.e., CT, MR y RX) como se muestra en la tabla debajo. Las pruebas de transmisión inter-hospitalaria de las imágenes fueron simuladas considerando diferentes y en especial los peores escenarios para la transmisión de grandes volúmenes de datos.

**Tabla 1.0.**

*Estudios imagenológicos correspondientes a tres modalidades frecuentemente utilizadas en la práctica radiológica de hospitales cubanos. La cantidad de estudios listada se corresponde con el promedio de estudios diarios realizados.*

Modalidad Imagenológica	Cantidad de Estudios	Tamaño de los Datos
Tomografía Axial Computada (CT)	40	1.70 GiB
Resonancia Magnética (MR)	26	0.68 GiB
Radiografías Digitales (RX)	40	1.03 GiB

Los juegos de datos listados en la tabla anterior (tabla 1.0) fueron enviados en tres horarios diferentes en el caso de la transmisión intra-provincial (i.e., entre hospitales de Santiago de Cuba) y en dos horarios, en el caso de la transmisión inter-provincial (Juan Bruno Zayas y Lucía Íñiguez Landín). Los horarios fueron escogidos con arreglo al tráfico de red durante la práctica médica en estos hospitales. Las mediciones son realizadas durante 6 días en ambos casos.

Una primera transmisión es realizada a las 9:00 am, momento en que ya los servicios imagenológicos llevan no menos de 1.5 horas de iniciados, y los diferentes especialistas vinculados a las imágenes utilizan herramientas para el intercambio de información vinculada a su quehacer diario (e.g., correo electrónico, navegación web, etc.). Un segundo momento de transmisión de datos es considerado a las 11:00 am. En este escenario la cantidad de estudios ha crecido a no menos de la mitad de los casos generados diariamente como promedio. Más aún, en este momento la utilización de otros servicios de información de red, y por tanto el tráfico en la red, continúa creciendo y alcanza valores próximos al máximo diario. Un último momento para la transmisión de datos es considerado a las 2:00 pm. En este escenario el volumen de imágenes alcanza valores próximos al máximo diario. En cualquiera de los tres escenarios considerados asumimos un volumen máximo de imágenes a transmitir. Es decir, que la sumatoria de los estudios listados en la tabla 1.0 fue transmitida en cada uno de estos horarios. En el caso de la transmisión inter-provincial de imágenes médicas, fueron utilizados horarios correspondientes al inicio y terminación de la generación de estudios imagenológicos, es decir, 9:00 am y 2:00 pm.

## Resultados y Discusión

Los principales resultados, correspondientes a los experimentos de transmisión de imágenes médicas, son presentados en esta sección. Para una mejor comprensión, estos resultados son separados de acuerdo al alcance de las transmisiones realizadas. Primeramente son presentados y analizados los resultados de las transmisiones intra-provinciales y luego los correspondientes al caso inter-provincial.

### Transmisión Intra-provincial de Imágenes

Esta sección muestra los tiempos de transmisión inter-hospitalaria e intra-provincial relativos al juego de datos considerado en la sección anterior. En este caso se trata de la transmisión inter-hospitalaria entre los hospitales Juan Bruno Zayas y Saturnino Lora Torres, ambos ubicados en la ciudad de Santiago de Cuba.

**Tabla 2.1.**

*Transmisión de estudios durante 6 días entre JBZ y SLT en el horario de las 9:00 am.*

Estudio imagenológico	Hora de transmisión	Tiempo mínimo de transmisión	Tiempo máximo de transmisión	Tiempo promedio de transmisión
40 estudios de CT	9:00 am	00:06:16	00:06:34	00:06:24
26 estudios de MR	9:00 am	00:02:58	00:03:21	00:03:10
40 estudios de RX	9:00 am	00:03:31	00:05:31	00:04:08

Como ilustra la tabla 2.1, aproximadamente una hora y media después del inicio de los estudios imagenológicos, un total de 106 estudios CT, MR y RX son transmitidos en menos de 15.5 minutos (ver tiempo máximo de transmisión) desde un hospital a otro. Los tiempos mínimo y promedio de transmisión, 12 min. con 45 seg. y 13 min con 42 seg. respectivamente, no exhiben valores significativamente diferentes al tiempo máximo de transmisión. De aquí podemos inferir que en el envío de volúmenes de imágenes similares (más de 100 estudios, equivalente a no menos de 3 mil imágenes) pueda ser realizado en un tiempo relativamente aceptable, es decir, en aproximadamente un cuarto de hora.

**Tabla 2.2.**

*Transmisión de estudios entre los hospitales JBZ y SLT por espacio de 6 días en el horario de carga alta de la red (11 am).*

Estudio imagenológico	Hora de transmisión	Tiempo mínimo de transmisión	Tiempo máximo de transmisión	Tiempo promedio de transmisión
40 estudios de CT	11:00 am	00:06:15	00:06:39	00:06:25
26 estudios de MR	11:00 am	00:02:46	00:03:15	00:02:57
40 estudios de RX	11:00 am	00:03:37	00:05:11	00:04:01

En el caso del horario próximo al mediodía (Tabla 2.2), en el cual existe una alta carga en la red respecto al intercambio de datos, los resultados son muy similares al horario de la mañana. Las mediciones realizadas muestran que el tiempo máximo de transmisión es de prácticamente 15 minutos. Al considerar el tiempo mínimo y promedio de transmisión en ese horario, la mayor diferencia no supera los 5.7 minutos respecto al tiempo máximo de transmisión. Tenemos entonces que ese horario y ese volumen de datos tampoco representan un importante obstáculo para la transmisión satisfactoria de los datos entre servicios vinculados a las imágenes médicas de una misma ciudad.

**Tabla 2.3.**

*Transmisión de estudios entre los hospitales JBZ y SLT por espacio de 6 días en el horario de carga alta de la red (2 pm).*

Estudio imagenológico	Hora de transmisión	Tiempo mínimo de transmisión	Tiempo máximo de transmisión	Tiempo promedio de transmisión
40 estudios de CT	02:00 pm	00:06:12	00:06:48	00:06:28
26 estudios de MR	02:00 pm	00:02:56	00:03:08	00:03:03
40 estudios de RX	02:00 pm	00:03:39	00:06:39	00:04:20

Similarmente a los otros dos horarios considerados anteriormente, las transmisiones en el horario de la tarde son realizadas de forma relativamente rápida. Como ilustra la tabla 2.3, el total de estudios imagenológicos de las modalidades más representativas (CT, MR y RX) es transmitido, en el peor de los casos, en 16.5 minutos. Los tiempos mínimo y promedio de transmisión, unos 12.78 minutos y 13.85 minutos respectivamente, tampoco muestran grandes diferencias respecto al tiempo máximo de transmisión. Estos resultados confirman la factibilidad de intercambiar de forma rápida (alrededor de 15 minutos) grandes volúmenes de imágenes médicas, resultantes de la práctica diaria entre departamentos de radiología de diferentes instituciones hospitalarias.

En sentido general, podemos decir que los tiempos de transmisión inter-hospitalaria a nivel intra-provincial son muy favorables. Estos relativamente cortos tiempos de transmisión entre hospitales de una misma ciudad, están muy estrechamente relacionados a la topología y a la configuración de la red de salud en el territorio. Con velocidades de XXX Mbps es posible garantizar servicios de esta naturaleza y expandirlos a otras instituciones de la provincia.

#### Transmisión Inter-provincial de Imágenes

Esta sección muestra los tiempos obtenidos de transmisión entre instituciones hospitalarias de diferentes provincias, empleando el juego de datos presentado anteriormente. En particular, analizamos los resultados de la transmisión entre los hospitales Juan Bruno Zayas (Santiago de Cuba) y Lucía Ñíguez Landín (Holguín).

**Tabla 2.4.**

*Transmisión de estudios entre los hospitales JBZ y LIL por espacio de 6 días en el horario de las 9 am.*

Estudio imagenológico	Hora de transmisión	Tiempo mínimo de transmisión	Tiempo máximo de transmisión	Tiempo promedio de transmisión
40 estudios de CT	9:00 am	00:25:19	00:30:39	00:24:07
26 estudios de MR	9:00 am	00:18:58	00:24:06	00:22:28
40 estudios de RX	9:00 am	00:06:09	00:07:42	00:06:36

En el caso de la transmisión inter-hospitalaria de imágenes médicas entre diferentes provincias, y particularmente en la mañana, los tiempos de transmisión son aproximadamente 4 veces superiores a la transmisión intra-provincial, pero aún razonables. Específicamente, el tiempo máximo de transmisión de nuestro juego de datos es de aproximadamente una hora. Por su parte, los tiempos mínimo y promedio de transmisión (Tabla 2.4), unos 50.3 y 53.2 minutos respectivamente, no difieren de forma apreciable respecto al tiempo máximo de transmisión. En términos prácticos, estos resultados indican que, en el peor de los casos, a un facultativo le tomaría 30 minutos enviar 40 estudios imagenológicos entre 2 instituciones remotas. Esto significa que, por ejemplo, un estudio de CT (al menos unas 50 imágenes), tomaría unos 1.3 minutos en enviar 1 estudio de CT, lo que representa un muy buen desempeño para este tipo de datos. De aquí que, sea factible la transmisión inter-provincial de imágenes, aun cuando el tiempo de transmisión es significativamente mayor al caso intra-provincial.

**Tabla 2.5.**

*Transmisión de estudios entre los hospitales JBZ y LIL por espacio de 6 días en el horario de carga alta de la red (2 pm).*

Estudio imagenológico	Hora de transmisión	Tiempo mínimo de transmisión	Tiempo máximo de transmisión	Tiempo promedio de transmisión
40 estudios de CT	02:00 pm	00:26:17	00:28:15	00:27:15
26 estudios de MR	02:00 pm	00:18:34	00:21:58	00:20:38
40 estudios de RX	02:00 pm	00:05:49	00:06:57	00:06:19

Los resultados de la transmisión inter-hospitalaria e inter-provincial en el horario de la tarde son muy similares al escenario de la mañana. Los 106 estudios de imagenológicos considerados en nuestro juego de datos son transmitidos en un tiempo máximo de 56.2 minutos. Los tiempos mínimo y promedio de transmisión son de 50.7 y 54.2 minutos respectivamente (Tabla 2.5). Por tanto, podemos decir que no existen diferencias significativas respecto al tiempo máximo de transmisión. Partiendo de lo anterior, inferimos que la transmisión de volúmenes equivalentes de información imagenológica entre entidades hospitalarias es factible, en un tiempo inferior a una hora.

Estas diferencias entre los tiempos de transmisión de los datos del escenario intra-provincial y del escenario inter-provincial están motivadas a que las configuraciones de red obviamente no son las mismas. En este escenario, como es de esperar, existe una mayor heterogeneidad entre los elementos de red involucrados en la transmisión con configuraciones y velocidades de transmisión diversas e incluso menores. No obstante, como se ha ilustrado sigue siendo muy factible la transmisión inter-hospitalaria de imágenes médicas.

## Conclusiones

Nuestros resultados experimentales demuestran la factibilidad de la transmisión intra e inter provincial de grandes volúmenes de imágenes médicas. La transmisión inter-hospitalaria e intra-provincial es de aproximadamente un cuarto de hora; mientras que para el caso de la transmisión inter-provincial el tiempo es menor a una hora. Podemos expresar entonces que el volumen de imágenes diario generado por un departamento imagenológico puede ser enviado remotamente en una hora, lo cual resulta en un tiempo satisfactorio.

Gran parte del volumen de imágenes generado por un departamento imagenológico está orientado a su uso interno interno y no a ser transmitido remotamente. Esto refuerza nuestro planteamiento de que la capacidad

de transmisión de la solución aquí mostrada excede la capacidad real de uso por parte de los especialistas del departamento.

El empleo en las instituciones hospitalarias de los servicios de red de datos no tiene un impacto significativo sobre los tiempos de transmisión obtenidos, lo que permite puedan realizarse las transmisiones inter-hospitalarias de manera simultánea. Lo anterior hace posible la integración de la transmisión inter-hospitalaria de imágenes médicas a la red de datos del SNS, como un servicio más, sin provocar afectaciones apreciables sobre los ya existentes.

El diagnóstico imagenológico remoto a gran escala, en las condiciones tecnológicas actuales del SNS cubano, es factible a través de la utilización combinada de herramientas de código abierto disponibles y de la solución imagis PACS.

El empleo de elementos de código abierto disponibles en el proyecto Orthanc para la implementación de un componente de software que permita la TIIM mediante el empleo de estándares modernos y seguros es posible. Esto beneficia a las entidades hospitalarias del SNS mediante la incorporación de la TIIM en resultados importantes del CBM como el imagis PACS y la Red Oriental de Imágenes Médicas, dotándolos de esta capacidad.

### Referencias Bibliográficas

- Acuña, H. J. (2020). Realización de informes de tomografías para colaborar en la disminución de las listas de espera en el Servicio de Radiología e Imágenes Médicas del Hospital Monseñor Sanabria. Universidad de Costa Rica. Recuperado en 09 de septiembre de 2021, de <https://hdl.handle.net/10669/81408>.
- Álvarez, C. A., et al. (2020). Ética en el uso de las imágenes clínicas. Pontificia Universidad Javeriana. Recuperado en 13 de diciembre de 2021, de: <http://hdl.handle.net/10554/50291>.
- Emaldi, A. (2021). Protección de datos personales en el ámbito sanitario y de investigación biomédica: Una visión europea. *Actualidad jurídica iberoamericana*, 14(2021), 718-747. Recuperado en 08 de septiembre de 2021, de [https://idibe.org/wp-content/uploads/2021/03/20.\\_Aitziber\\_Emaldi\\_pp.\\_718-747.pdf](https://idibe.org/wp-content/uploads/2021/03/20._Aitziber_Emaldi_pp._718-747.pdf).
- Galván, P., Velázquez, M., Benítez, G., Ortellado, J., Rivas, R., Barrios, A., & Hilario, E. (2017). Impacto en la salud pública del sistema de telediagnóstico implementado en Paraguay. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 41, e74. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/34003>.
- Jodogne, S. (2018). The Orthanc ecosystem for medical imaging. *Journal of digital imaging*, 31(3), 341-352. Recuperado en 10 de septiembre de 2021, de <https://doi.org/10.1007/s10278-018-0082-y>.
- Lebre, R., Pinho, E., Silva, J. M., & Costa, C. (2020). Dicoogle Framework for Medical Imaging Teaching and Research. In 2020 IEEE Symposium on Computers and Communications, 1(2020), 1-7. <https://doi.ieeecomputersociety.org/10.1109/ISCC50000.2020.9219545>.
- Mesa Pujals, A. A., Rodríguez Siret, F., & Hernandez-Cortes, K. S. (2021). Una herramienta para la comunicación estandarizada de resultados de análisis de imágenes cuantitativos utilizando DICOM. AEIPRO. Recuperado en 08 de septiembre de 2021, de <http://dspace.aepro.com/xmlui/handle/123456789/3022>.
- Moreno, M. C. (2017). Sistema de diagnóstico remoto para centros de salud rurales del Ecuador (Tesis de Maestría), Pontificia Universidad Católica de Ecuador. <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/13707>.
- Oprisan, A., Arriagada, E. B., Delgado, C. B., & Bonmatí, L. M. (2021). Prevalencia y factores de desgaste profesional en radiólogos durante la pandemia COVID-19. *Radiología*, 63(6). <https://doi.org/10.1016/j.rx.2021.09.003>.
- Prats, L., & Izquierdo, J. L. (2020). Patología respiratoria en la era del Big Data. *Open Respiratory Archives*, 2(4), 284-288. <https://doi.org/10.1016/j.opresp.2020.07.003>.
- Solís, P. V., & Serrano, C. M. (2020). Las Cargas de Trabajo en Radiología [Archivo PDF]. Recuperado en 10 de septiembre de 2021, de <https://facme.es/wp-content/uploads/2020/08/Las-cargas-de-trabajo-en-radiologia.pdf>.

- Umaña, A. A. (2021). Disminución en las listas de espera de ultrasonido en los servicios de radiología e imágenes médicas de los hospitales Fernando Escalante Pradilla y Maximiliano Terán Valls, durante los meses de mayo y junio de 2019. Universidad de Costa Rica. Recuperado en 10 de septiembre de 2021, de <https://hdl.handle.net/10669/81435>.
- Vega Izaguirre, L., Ciudad Ricardo, F.Á., Duque García, E.Y., & Soler Izquierdo, G. (2020). Sistema de Información Radiológica XAVIA RIS. Revista Cubana de Informática Médica, 12(2), e352. Epub 01 de diciembre de 2020. Recuperado en 09 de septiembre de 2021, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1684-18592020000200006&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-18592020000200006&lng=es&tlng=es).

DOI: <https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2021.6.06>

Igarza Vázquez, G., Licea Jiménez, I., San Román, R., & Ochoa Pacheco, A. (2021). Reformulación y estabilidad de la tintura del fruto de Citrus limon (L.) Osbeck al 20%. *Orange Journal*, 3(6), 58-69. <https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2021.6.06>

## Reformulación y estabilidad de la tintura del fruto de Citrus limon (L.) Osbeck al 20%

### Reformulation and stability of the fruit tincture of Citrus limon (L.) Osbeck at 20%

Recibido: 14 de octubre de 2021

Aceptado: 18 de diciembre de 2021

Escrito por:

**Georgina Igarza Vázquez**<sup>21</sup>

<https://orcid.org/0000-0002-9965-4367>

**Irina Licea Jiménez**<sup>22</sup>

<https://orcid.org/0000-0002-4178-0977>

**Reynier San Román**<sup>23</sup>

<https://orcid.org/0000-0003-0033-1080>

**Ania Ochoa Pacheco**<sup>24</sup>

<https://orcid.org/0000-0002-1028-6626>

#### Resumen

El Citrus limon (L.) Osbeck o limón como comúnmente se le conoce, resulta un valioso recurso medicinal, cuya actividad farmacológica principal está asociada a la actividad flebotónica o de disminución de la fragilidad capilar, siendo sustitutiva de fármacos importados y de gran déficit en la red de farmacias cubanas. Sus formulaciones oficiales emplean la corteza de la cáscara del fruto seco, materia prima de difícil obtención. Por ello en el presente trabajo se realiza un estudio de reformulación en la que se preparan por el método de maceración durante 3 días un total de seis tinturas de Citrus limon (L.) al 20%, empleando como materia prima el fruto entero fresco con y sin zumo; así como la corteza seca anteriormente descrita y un disolvente en concentraciones diferentes: Etanol al 50 y 70 %. Las tinturas son caracterizadas en sus propiedades físicas, físico-químicas y químicos cualitativos y además se les determina su estabilidad por 30 días a través de estos propios parámetros: pH, índice de refracción, densidad y sólidos totales (NRSP 312). Los resultados revelan que ninguna de las variantes que emplearon el fruto entero fresco de Citrus limon (L.) Osbeck como materia prima resulta equivalente a la calidad obtenida para las tinturas preparadas a partir de la corteza seca del fruto con valores de pH mucho más ácidos y la mitad del contenido de sólidos totales. El estudio de estabilidad demuestra que las seis tinturas preparadas resultan estables por un período de 30 días en las condiciones de estudio consideradas.

**Palabras claves:** Citrus limon, estabilidad, flavonoides, reformulación, tinturas.

#### Abstract

The Citrus limon (L.) Osbeck or lemon as is commonly known is a valuable medicinal plant, whose main activity is associated to the flebotonic action or capillary fragility protection, being an alternative of imported conventional drugs that have a great deficit in the Cuban pharmacies network. Their official formulations use the dry bark as raw material, which is difficult to obtain. In the present work, a pre-formulation study allows the preparation by 3-day maceration methods a total of six tinctures at 20 % using

<sup>21</sup> Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Director técnico-comercial. Empresa Provincial de Farmacias y Ópticas. Santiago de Cuba. Cuba.

<sup>22</sup> Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Especialista de calidad. Empresa Provincial de Farmacias y Ópticas. Santiago de Cuba.

<sup>23</sup> Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. Especialista B en servicios farmacéuticos y plantas medicinales. Empresa Provincial de Farmacias y Ópticas. Santiago de Cuba. Cuba.

<sup>24</sup> Doctora en Ciencias Farmacéuticas. Profesora Titular. Departamento de Farmacia. Universidad de Oriente. Santiago de Cuba. Cuba.

like raw material the entire fresh fruit with and without juice as well as the dry bark previously mentioned and two dissolvents: ethanol 50 and 70%. Tinctures were characterized in their physic, physic-chemical and qualitative chemist point of view properties, determining their stability for 30 days through these selves' parameters measured to the formulations: pH, refractive index, density and total soluble substances. Results reveal that no one of the variants that used the entire fruit of *Citrus limon* (L.) Osbeck as raw material proves to be equivalent to the quality obtained for the tinctures prepared from the dry bark, exerting much more acidic values of pH and a half of the content of total soluble substances. The study of stability confirms that the six prepared tinctures prove to be stable for a 30-day period in the conditions of study considered.

**Keys words:** Citrus limon, stability, flavonoids, reformulation, tinctures.

### Introducción

El *Citrus limon* (L.) Osbeck (Beurton, 2008), *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle (*sinonimia*) (Ministerio de Salud Pública MINSAP, 2017) como es conocido tradicionalmente como limón resulta en un valioso recurso medicinal. Esta planta no sólo es apreciada por el valor nutritivo de sus frutos, sino también por las propiedades medicinales que se le atribuyen, empleándose como protectora de los vasos capilares, antiespasmódica, carminativo, antiinflamatoria, antipirética, diurética, antiescorbútica y antídoto (Morón y Levy, 2002; González-Molina, Domínguez-Perles, Moreno, y García-Viguera, 2010). Para la especie se han estudiado una amplia variedad de actividades farmacológicas, por la diversidad de sus metabolitos y el amplio uso popular para disímiles afecciones.

Un estudio realizado por García et al., (2002) reveló una respuesta antiinflamatoria importante para el zumo fresco del limón, a través del modelo de edema inducido por aceite de *Croton* utilizando la vía tópica. Se obtuvo un 54,83 % de inhibición para la especie, clasificada como respuesta antiinflamatoria moderada.

También se sugiere que las hojas, frutos y jugo de limón son útiles para terapia flebotónica y antitrombótica. Además, resulta fuente importante de vitamina C, potasio y cantidades menores de otras vitaminas y minerales. La vitamina C está implicada en la producción del colágeno, tiene la propiedad de mejorar la cicatrización y la función del sistema inmunitario. Su capacidad antioxidante ayuda a neutralizar sustancias cancerígenas como las nitrosaminas y otras especies reactivas de oxígeno. Diversos estudios han mostrado que las personas con altas ingestas de vitamina C tienen un menor riesgo de desarrollar otras enfermedades crónicas como enfermedad cardiovascular, cataratas o enfermedades neurodegenerativas (García et al., 2002; MINSAP, 2017).

En la provincia Santiago de Cuba existen grandes limitaciones con el suministro de esta materia prima, no se dispone de la tecnología requerida para ofrecer la materia prima conforme lo describe el Formulario Nacional de Fitofármacos y Apifármacos de Cuba (MINSAP, 2017): corteza seca del fruto. Por ello resultan necesarios estudios farmacéuticos de reformulación que permitan la obtención de estos preparados medicinales empleando el fruto del limón en condiciones diferentes a lo exigido por el Formulario Nacional (MINSAP, 2017) Con esta investigación, se propone reformular y evaluar preliminarmente la estabilidad física, físico-química y química cualitativa de la tintura al 20 % del fruto de *Citrus limon* (L.) Osbeck (limón), en etanol al 50 % y al 70 %, hasta 30 días de elaborada.

### Marco Teórico

El origen del género *Citrus* se sitúa en el sureste de Asia y el centro de China, Filipinas y el archipiélago Indo malayo hasta Nueva Guinea. Las primeras variedades e híbridas de cítricos fueron el resultado de un largo proceso de identificación, recolecta y reproducción de plantas silvestres.

Esta especie tan distribuida por el mundo ha sido clasificada por diferentes especialistas. Puede encontrarse bajo los nombres de: *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle, *Citrus limon* (L.) Blanco, *Citrus medica* L. variedad limon (Acevedo-Rodríguez y Strong, 2012) entre otros. Según la última revisión de la familia Rutáceas en Cuba, todas estas denominaciones corresponden a lo que actualmente se reconoce como *Citrus limon* (L.) Osbeck, constituyendo por tanto todos estos nombres científicos como lo que se conoce como sinónimos de la misma planta o especie.

La maceración es un método de extracción discontinuo en el cual el material vegetal es puesto en contacto directo con el disolvente de extracción en un recipiente cerrado, a temperatura ambiente durante un tiempo entre 2-14 días. El mismo puede ser auxiliado o no por agitación constante del recipiente, evitando así el aumento de la viscosidad por un ascenso de la concentración de la capa límite entre la célula vegetal y el disolvente y aumentando la velocidad de transporte de este. Tiene como ventaja que es un método de elección para aquellos metabolitos que pueden sufrir alteración con el calor y que puede emplearse en volúmenes grandes de material vegetal y como desventaja que la posible ocurrencia de saturación del disolvente impedirá la extracción total de los metabolitos secundarios.

La percolación consiste en privar una droga de sus principios activos solubles haciendo descender un menstroo a través de la misma, una vez que ha sido colocada en un recipiente especial llamado percolador, de acuerdo al procedimiento descrito en la Norma Ramal de Salud Pública de Cuba 311 (NRSP 311) (MINSAP, 1991).

En este, a diferencia de la maceración primaria el recipiente es un sistema abierto, que tiene un lugar B para cargar y otro para descargar. Con la percolación se logra un agotamiento total de la droga. La disolución que se obtiene se le denomina percolado y la droga agotada se le denomina barra.

La estabilidad se define como la extensión o el tiempo durante el cual un producto mantiene dentro de unos límites específicos y a través del período de almacenamiento y uso (vida útil) las mismas propiedades y características que poseía en el momento de su fabricación.

Según los parámetros de estabilidad que se tengan en cuenta, esta será clasificada de la siguiente manera (Wells, 1988):

1. **Estabilidad Física.** Se estudia si ha ocurrido algún cambio en las propiedades físicas, por ejemplo, color, olor, uniformidad, redispersibilidad, transparencia, solubilidad, etc. Este análisis generalmente acompaña al análisis químico. Algunos signos físicos de deterioro en formas farmacéuticas líquidas son: turbidez o precipitación de la solución, rotura de emulsión, pérdida de la suspendibilidad por endurecimiento, cambios organolépticos, formación de gas, crecimiento microbiano, entre otros.
2. **Estabilidad Química.** Es la más estudiada y se basa en la determinación a través del tiempo de la conservación de la integridad química del medicamento, así como su potencia establecida en la etiqueta durante el tiempo de vencimiento señalado, empleando para ello métodos de análisis químico-físicos específicos. Puede contemplar el aislamiento, purificación y determinación de productos de degradación.

Las pérdidas del principio activo son normalmente consecuencia de un cambio químico siendo las reacciones más comunes: la hidrólisis, la oxidación-reducción y la fotólisis. Los cambios químicos pueden también darse por interacción entre los ingredientes del producto y ocasionalmente entre el producto y el envase.

## Metodología

### Características generales de la investigación

Se realizó un estudio de reformulación de la tintura al 20 % de *Citrus limon* (L.) Osbeck. Adicionalmente, se le realizaron estudios de estabilidad formal a las tinturas elaboradas por un período de 30 días. Los mismos se efectuaron en los laboratorios experimentales pertenecientes a las carreras de Ciencias Farmacéuticas y Química (Facultad de Ciencias Naturales y Exactas Universidad de Oriente). Este estudio se realizó entre los meses de febrero a junio del 2016.

### Recolección y procesamiento del material vegetal

El fruto de *Citrus limon* (L.) Osbeck, fue adquirido en el municipio de Contramaestre, suministrado por la Empresa Comercializadora de Productos Agropecuarios, extraídos de la finca EL ALCAZAR, Guaninao,

municipio de Contramaestre de la provincia de Santiago de Cuba. Una muestra de la planta fue identificada taxonómicamente en el Centro Oriental de Ecosistemas y Biodiversidad (BIOECO).

El fruto del limón se utilizó bajo tres condiciones diferentes:

- Cáscara seca (CS): secada a la sombra en la farmacia principal municipal del municipio Santiago de Cuba.
- Fruto entero (FE): fragmentado en pequeñas porciones manualmente empleando para ello un cuchillo comercial.
- Fruto entero sin el zumo (SZ): extraído por expresión manual y fragmentada en porciones pequeñas manualmente empleando para ello un cuchillo comercial.

#### **Reformulación de la tintura al 20 % de *Citrus limon* (L.) Osbeck**

El Formulario Nacional de Fitofármacos y Apifármacos (MINSAP, 2017) contiene la fórmula de la preparación del extracto fluido a partir de la corteza de la cáscara del fruto secado a la sombra. Dicho extracto fluido es preparado por el método de repercolación con etanol al 80 % según NRSP 311/91. No está definido en este documento (MINSAP, 2017) la obtención de la tintura a partir del extracto fluido ni por otro método de extracción. El grupo de investigación de la Empresa de Farmacias y Ópticas (OPTIMED Santiago de Cuba) decidió formular todas las tinturas a evaluar por preparación directa (tintura al 20%) empleando el método de maceración siguiendo las indicaciones de la NRSP 311 (MINSAP, 1991).

Se prepararon un total de 6 tinturas al 20 % resultado de la combinación de tres materias primas diferentes (CS, FE y SZ) y un disolvente a diferentes concentraciones (Etanol 50 y 70 %) correspondiente a un diseño experimental 3x1.

La selección de las materias primas fruto fresco entero (FE) y fruto fresco entero sin zumo (SZ) fueron escogidas por resultar las formas de mayor facilidad y factibilidad de ser procesadas una vez que el Ministerio de la Agricultura suministre la materia prima (fruto fresco entero). La selección del etanol al 50 y al 70 % como disolventes obedece a que estos poseen elevados valores de grado etanólicos que favorecen la extracción de los flavonoides, metabolitos asociados a la actividad flebotónica.

#### **Control de la calidad físico, físico-químico de las tinturas**

El control de la calidad a las tinturas se les realizó según procedimiento descrito en la NRSP 312 (MINSAP, 1991). Los parámetros determinados fueron: Características organolépticas, pH, sólidos totales, índice de refracción y densidad relativa. Adicionalmente se le realizó un tamizaje fitoquímico acorde al protocolo establecido (Ochoa, López y Colombat, 2002).

#### **Determinación de los requisitos organolépticos**

*Determinación del olor:* Este procedimiento se basó en tomar una tira de papel secante e introducir un extremo en la muestra de ensayo. Posteriormente se determinó el olor y la correspondencia de la característica del producto.

*Determinación del color:* Este procedimiento se basó en la toma de un tubo para ensayos bien limpio y seco, se llenó hasta las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observó el color y la transparencia. Se informó el resultado.

#### **Determinación de pH**

Se determinó según se establece en NRSP 312 (MINSAP, 1991) y la NC 90-13-13 (MINSAP, 2008). Con el peachímetro Microprocessor pH Meter HANNA pH 213 de procedencia española. El ensayo fue realizado por triplicado para cada uno de los tres lotes preparados de cada una de las seis formulaciones. Se informó el valor medio de las determinaciones, así como la desviación estándar obtenida.

### Determinación del Índice de refracción

La determinación del índice de refracción se basó en el procedimiento descrito en la NRSP 312 (MINSAP, 1991). Se utilizó un refractómetro ABBE de procedencia alemana. El ensayo fue realizado por triplicado para cada uno de los tres lotes preparados de cada una de las seis formulaciones. Se informó el valor medio de las determinaciones, así como la desviación estándar obtenida.

### Determinación de la densidad relativa

Se determinó acorde al procedimiento descrito por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2011) en su resolución relativa al control de la calidad de Plantas Medicinales.

El ensayo fue realizado por duplicado para cada uno de los tres lotes preparados de cada una de las seis formulaciones. Se informó el valor medio de las determinaciones, así como la desviación estándar obtenida. Expresión de los resultados.

La densidad relativa se calculó mediante la siguiente ecuación y se expresa en g/mL:

$$D = (m_1 - m) / (m_2 - m)$$

Donde:

m- masa del picnómetro vacío (g).

m<sub>1</sub> - masa del picnómetro con la muestra de ensayo (g).

m<sub>2</sub> - masa del picnómetro con agua (g).

### Determinación de sólidos totales

Se realizó acorde al procedimiento descrito por las normas sugeridas por la Organización Mundial de la Salud para el control de la calidad de Plantas Medicinales (WHO, 2011).

El ensayo fue realizado por duplicado para cada uno de los tres lotes preparados de cada una de las seis formulaciones. Se informó el valor medio de las determinaciones, así como la desviación estándar obtenida. Los sólidos totales (St) se calcularán mediante la fórmula siguiente y se expresaron en porcentaje:

$$St = (Pr-P)/V \times 100$$

Donde:

Pr..... masa de la cápsula más el residuo (g)

P..... Masa de la cápsula vacía (g)

V..... Volumen de la porción de ensayo (mL)

100..... factor matemático

### Determinación de la composición química cualitativa de las tinturas

A cada una de las seis tinturas preparadas se les realizó la evaluación de su composición química cualitativa. Para ello se emplearon reacciones específicas para los diversos tipos de metabolitos secundarios más importantes de las especies vegetales (Ochoa, López y Colombat, 2002).

### Evaluación de la estabilidad física y físico-química de las tinturas

Las seis tinturas formuladas (tres lotes de cada una) fueron evaluadas en su estabilidad por un período de 30 días. Para ello se realizaron mediciones en cuatro momentos: al momento de su extracción del percolador o tiempo cero, a la semana de preparado (7 días), a las dos semanas (15 días) y a los 30 días.

Los parámetros evaluados para determinar la estabilidad de las tinturas fueron los mismos que se emplearon en la caracterización de las mismas según NRSP 312 (MINSAP, 1991). Se consideró que las tinturas formuladas eran estables cuando no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables monitoreadas con respecto al tiempo cero. Para cada una de las tinturas formuladas se prepararon un total de 3 lotes, los cuales fueron preparados a intervalos de 7 días.

### Procesamiento estadístico de la Información

Con el software Statgraphics se llevó a cabo el análisis estadístico. En el caso de la estabilidad en el tiempo (cuatro grupos de datos) y para la comparación entre las tinturas de similar grado alcohólico pero diferente sustrato o materia prima (tres grupos de datos) se empleó un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA). Las diferencias significativas entre grupos fueron determinadas aplicando el test de rangos múltiples HSD de Tukey (máximas diferencias significativas). Para la comparación de las tinturas formuladas a partir de unas mismas materias primas y diferentes concentraciones (dos grupos de datos) se empleó una prueba de hipótesis para comparación de medias empleando el estadígrafo t de student, definiendo como Hipótesis nula la igualdad de medias y como alternativa la desigualdad de las mismas. En todos los casos se trabaja con un nivel de significación del 95%.

### Resultados

#### Determinación de parámetros de control de la calidad físico, físico-químico y químico- cualitativo de las tinturas

Los parámetros organolépticos para la corteza seca a las concentraciones de etanol 50 y 70 %, reveló ser un líquido oscuro de color marrón y olor característico; para el fruto entero sin zumo y el fruto enterose observó un líquido transparente de color amarillo verdoso para la concentración al 50 % y verde amarillo para la concentración al 70 % ambas con olor característico.

**Tabla 1.**

*Parámetros de calidad de las tinturas al 20 % de Citrus limon (L.) Osbeck*

Formulación	pH (U)	IR	D (g/mL)	ST (%)
<b>Cortezaseca</b>				
CS 50 %	5,13±0,065 <sup>a,II</sup>	1,3623±0,0005 <sup>a,II</sup>	0,955±0,002 <sup>b,II</sup>	1,69±0,16 <sup>a,II</sup>
CS 70 %	5,35±0,046 <sup>b,III</sup>	1,3629±0,0003 <sup>b,II</sup>	0,904±0,003 <sup>a,I</sup>	1,70±0,20 <sup>a,II</sup>
<b>Fruto entero sin zumo</b>				
SZ 50 %	3,62±0,105 <sup>a,I</sup>	1,3542±0,0001 <sup>a,I</sup>	0,948±0,003 <sup>b,I</sup>	0,84±0,13 <sup>a,I</sup>
SZ 70 %	3,90±0,01 <sup>b,II</sup>	1,3541±0,0001 <sup>a,I</sup>	0,913±0,032 <sup>a,I</sup>	0,82±0,18 <sup>a,I</sup>
<b>Fruto entero</b>				
FE 50 %	3,53±0,13 <sup>a,I</sup>	1,3541±0,0001 <sup>a,I</sup>	0,949±0,001 <sup>b,I</sup>	0,83±0,34 <sup>a,I</sup>
FE 70 %	3,70±0,24 <sup>b,I</sup>	1,3542±0,0001 <sup>a,I</sup>	0,924±0,018 <sup>a,I</sup>	0,81±0,32 <sup>a,I</sup>

**Leyenda:** ST: sólidos totales; IR: índice de refracción; D: densidad relativa.

*Letras diferentes significan diferencias estadísticas entre formulaciones de una misma materia prima por t student para a=0,05.*

*Números diferentes significan diferencias estadísticas entre formulaciones de un mismo disolvente por el test HSD de Tukey para a=0,05.*

**Tabla 2.**  
Resultados del tamizaje fitoquímico a las tinturas.

Metabolitos	Ensayos	Evidencias					
		CS 50%	CS 70%	FE 50%	FE 70%	SZ 50%	SZ 70%
Alcaloides	Dragendorff	+++	+++	++	++	++	++
	Mayer	+	+	+	+	+	+
	Wagner	++	++	+	+	+	+
Triterpenos y esteroides	Solkowski	+	+	+	+	+	+
	Lieberman-Burchard	+	+	-	-	-	-
	Rosemheim	-	-	-	-	-	-
Quinonas	Boritrager	-	-	-	-	-	-
	Variante con benceno	+	+	+	+	+	+
Cumarinas	Baliet	++	++	++	++	++	++
Saponinas	Espuma	-	-	-	-	-	-
Resinas	Resinas	-	-	-	-	-	-
Mucílagos	Mucílagos	-	-	-	-	-	-
Azúcares reductores	Fehling	+	+	+	+	+	+
	Benedict	+	+	+	+	+	+
Fenoles y taninos	Cloruro férrico	+++	+++	+	+++	+	+
Aminoácidos y aminas en general	Ninhidrina.	+	+	-	-	-	-
Glicósidos cardíacos	Kedde	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	Ácido sulfúrico	++	++	+	+	+	+
	Shinoda	+	+	+	+	+	+
	Álcalis	+	+	+	+	+	+
	Rosemheim	+	+	+	+	+	+

CS: cáscara seca; SZ: fruto entero sin zumo; FE: fruto entero, + positivo leve, ++ positivo evidente, +++ positivo intenso, - negativo

**Tabla 3.**  
Resultados del estudio de estabilidad (pH e índice de refracción)

Tinturas	pH(U)				Índice de refracción			
	t=0	t=7	t=15	t=30	t=0	t=7	t=15	t=30
CS 50%	5,13±0,07 <sup>a</sup>	5,11±0,05 <sup>a</sup>	5,10±0,07 <sup>a</sup>	5,06±0,07 <sup>a</sup>	1,3623±0,0005 <sup>a</sup>	1,3627±0,0004 <sup>a</sup>	1,3628±0,0005 <sup>a</sup>	1,3641±0,0001 <sup>a</sup>
CS 70%	5,35±0,05 <sup>a</sup>	5,33±0,05 <sup>a</sup>	5,31±0,05 <sup>a</sup>	5,30±0,07 <sup>a</sup>	1,3629±0,0003 <sup>a</sup>	1,3640±0,0003 <sup>a</sup>	1,3641±0,0003 <sup>a</sup>	1,3628±0,0010 <sup>a</sup>
FE 50%	3,53±0,13 <sup>a</sup>	3,46±0,18 <sup>a</sup>	3,54±0,14 <sup>a</sup>	3,42±0,12 <sup>a</sup>	1,3541±0,0001 <sup>a</sup>	1,3541±0,0001 <sup>a</sup>	1,3542±0,0001 <sup>a</sup>	1,3541±0,0001 <sup>a</sup>
FE 70%	3,70±0,24 <sup>a</sup>	3,72±0,14 <sup>a</sup>	3,75±0,12 <sup>a</sup>	3,63±0,05 <sup>a</sup>	1,3542±0,0001 <sup>a</sup>	1,3542±0,0001 <sup>a</sup>	1,3541±0,0001 <sup>a</sup>	1,3541±0,0002 <sup>a</sup>
SZ 50%	3,62±0,10 <sup>a</sup>	3,54±0,17 <sup>a</sup>	3,59±0,09 <sup>a</sup>	3,57±0,08 <sup>a</sup>	1,3542±0,0001 <sup>a</sup>	1,3541±0,0001 <sup>a</sup>	1,3541±0,0001 <sup>a</sup>	1,3541±0,0002 <sup>a</sup>
SZ 70%	3,90±0,01 <sup>a</sup>	3,82±0,06 <sup>a</sup>	3,84±0,05 <sup>a</sup>	3,85±0,06 <sup>a</sup>	1,3541±0,0001 <sup>a</sup>	1,3541±0,0001 <sup>a</sup>	1,3541±0,0001 <sup>a</sup>	1,3541±0,0001 <sup>a</sup>

**Leyenda:** CS: cáscara seca; SZ: fruto entero sin zumo; FE: fruto entero. Letras iguales significan no diferencias significativas en el tiempo según el test de HSD de Tukey aplicado para un  $\alpha=0,05$

**Tabla 4.**  
*Resultados del estudio de estabilidad (Densidad y sólidos totales)*

Tinturas	Densidad (g/mL)				Sólidos Totales (%)				
	Tiempo	t=0	t=7	t=15	t=30	t=0	t=7	t=15	t=30
CS 50%		0,956±0,002 <sup>a</sup>	0,955±0,002 <sup>a</sup>	0,955±0,001 <sup>a</sup>	0,955±0,002 <sup>a</sup>	1,69±0,16 <sup>a</sup>	1,60±0,23 <sup>a</sup>	1,57±0,17 <sup>a</sup>	1,57±0,18 <sup>a</sup>
CS 70%		0,905±0,003 <sup>a</sup>	0,904±0,003 <sup>a</sup>	0,904±0,004 <sup>a</sup>	0,902±0,002 <sup>a</sup>	1,70±0,20 <sup>a</sup>	1,71±0,23 <sup>a</sup>	1,69±0,16 <sup>a</sup>	1,68±0,22 <sup>a</sup>
FE 50%		0,924±0,019 <sup>a</sup>	0,912±0,148 <sup>a</sup>	0,912±0,001 <sup>a</sup>	0,818±0,001 <sup>a</sup>	0,94±0,34 <sup>a</sup>	0,92±0,27 <sup>a</sup>	0,89±0,29 <sup>a</sup>	0,83±0,29 <sup>a</sup>
FE 70%		0,916±0,032 <sup>a</sup>	0,915±0,031 <sup>a</sup>	0,913±0,005 <sup>a</sup>	0,913±0,005 <sup>a</sup>	0,85±0,32 <sup>a</sup>	0,84±0,32 <sup>a</sup>	0,81±0,27 <sup>a</sup>	0,79±0,32 <sup>a</sup>
SZ 50%		0,950±0,003 <sup>a</sup>	0,950±0,002 <sup>a</sup>	0,948±0,004 <sup>a</sup>	0,948±0,003 <sup>a</sup>	0,84±0,13 <sup>a</sup>	0,84±0,11 <sup>a</sup>	0,83±0,10 <sup>a</sup>	0,82±0,11 <sup>a</sup>
SZ 70%		0,948±0,003 <sup>a</sup>	0,915±0,032 <sup>a</sup>	0,913±0,031 <sup>a</sup>	0,912±0,005 <sup>a</sup>	0,88±0,18 <sup>a</sup>	0,87±0,15 <sup>a</sup>	0,84±0,16 <sup>a</sup>	0,82±0,17 <sup>a</sup>

**Legenda:** CS: cáscara seca; SZ: fruto entero sin zumo; FE: fruto entero.

Letras iguales significan no diferencias significativas en el tiempo según el test de HSD de Tukey aplicado para un  $\alpha=0,05$ .

## Discusión

Referente al parámetro olor, todas las tinturas presentaron el olor característico a la fruta, sin que fuese posible diferenciarlos entre ellos. Se observa en el caso de las tinturas elaboradas con el fruto fresco (SZ y FE) que no se evidencian diferencias en el color cuando se trata de una misma concentración alcohólica, mientras que cuando se cambia la concentración alcohólica del 50% al 70% las tinturas preparadas tienden a tener una coloración más verdosa que amarilla, producida probablemente por la extracción de clorofilas y otros pigmentos verdes presentes en la corteza del fruto fresco del limón.

Cuando se consideran las diferentes concentraciones, resulta una tendencia general que las formulaciones a base de etanol al 70 % logran valores de pH superiores y valores de densidad inferiores. El mayor valor de pH puede estar condicionado al hecho de que como se ha descrito en la bibliografía (Asghar, Maryam, Mahmood, Hamid, 2011; Do-Hoon et al, 2012), la presencia de ácidos orgánicos en el fruto del limón resulta común, y esas sustancias se disuelven más fácilmente en disolventes acuosos, al ser estos más básicos que las disoluciones alcohólicas. Por su parte, la menor densidad de ellos está asociado a la naturaleza del disolvente mismo, pues es conocido que la densidad del agua es mayor que la del etanol (1,00 vs 0,79 g/mL a 25 °C) y resulta evidente que en el disolvente a la concentración de etanol 50 % la proporción de agua con respecto al etanol 70 % resulta mayor. La densidad además está condicionada a la masa del producto y los resultados de sólidos totales no ofrecen diferencias significativas entre las sustancias extraídas por un disolvente u otro.

Por ello y considerando solamente estos parámetros estudiados, el disolvente etanol al 70 % parece ser el de mejores opciones para emplear en la reformulación de tinturas a base del fruto del limón independientemente de las condiciones en que se encuentre el mismo.

Referente a la materia prima, en la propia tabla 1 se puede observar que cuando se consideran las formulaciones preparadas a base de etanol 50 %, para todos los parámetros establecidos la tintura de la cáscara seca presenta mayores valores que las de las otras dos condiciones de la materia prima. Para el pH se observa una diferencia que llega casi a 1,5 unidades de pH superior para el caso de la formulación a base de la cáscara seca. Está marcada diferencia define que la misma resulta mucho menos ácida que las otras dos, las cuales son estadísticamente iguales bajo las condiciones experimentales empleadas. Esta elevada acidez de las formulaciones a base de FE y SZ podría estar relacionada a la presencia de los ácidos orgánicos anteriormente mencionados, los cuales son muy abundantes en el endocarpio del fruto del limón, el cual ha sido retirado en la materia prima CS previo a su secado. En el caso de los sólidos totales, las diferencias entre las tinturas formuladas a base de corteza seca logran extraer más del doble que las formuladas a partir del fruto entero y del fruto entero sin el zumo. Estas diferencias están precisamente en el orden en que los tejidos vegetales son contenedores de agua en su estado fresco. Es importante recordar que las formulaciones a base del fruto entero y del fruto entero sin el zumo no han sufrido proceso de secado y por ello más del 50 % de su peso estará asociado a la presencia de agua en sus células, un agua que fue

retirada de la materia prima corteza seca. Además, resulta internacionalmente reconocido el hecho de que la extracción de sustancias solubles es mayor en plantas secas que en su forma fresca (Ruiz et. al, 2016).

El índice de refracción superior para el caso de la formulación a base de corteza seca debe estar relacionado con los mayores índices de sólidos totales obtenidos para esta formulación. Algo similar ocurre cuando se considera la densidad, es una función matemática que está directamente relacionada con la masa de una sustancia y esta masa está representada para los estudios realizados por la cantidad de sólidos totales extraídos en la tintura.

Respecto al parámetro densidad, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre ninguna de las tinturas preparadas a partir de diferentes materias primas siendo sorprendente este resultado, por el hecho de que si los valores de sólidos totales son estadísticamente diferentes, también lo debería ser la densidad relativa. Se considera que estas observaciones estadísticas podrían estar condicionadas a la alta variabilidad (desviación estándar) de los datos experimentales obtenidos para esta variable. En la tabla 1 se nota que los valores de la desviación estándar de las determinaciones de densidad de las tinturas SZ 70 % y FE 70 % son muy superiores a las obtenidas para las cuatro tinturas restantes.

Los resultados del tamizaje fitoquímico realizado a las tinturas elaboradas se recogen en la tabla 2. En la misma se constata que los alcaloides, los triterpenos y esteroides, las quinonas, las cumarinas, azúcares reductores, los fenoles y taninos y los flavonoides resultan ser los metabolitos determinados en las tinturas formuladas independientemente de las características de la materia prima y del mensturo a partir de los cuales fue preparado; no obstante, sí se observan diferencias en cuanto a las intensidades de las reacciones empleadas. En el caso de los alcaloides se puede observar que para las tinturas de fruto entero la evidencia resulta más débil que en aquellas tinturas preparadas a partir de la corteza seca al igual que en los triterpenos y esteroides, pues para la reacción con Lieberman-Burchard solamente se obtienen resultados positivos para las tinturas de la corteza seca y no para el resto. Los reportes bibliográficos referentes a la presencia de alcaloides en el limón resultan ambiguos. Mientras que Álvarez y colaboradores en el 2005 refieren la presencia de los mismos en la corteza de la fruta, Kumar y colaboradores en 2014, plantean la no existencia de este tipo de metabolitos cuando investigaron la corteza del fruto de esta planta. De cualquier forma, en nuestro estudio empleamos tres reactivos generales para alcaloides y en los tres las evidencias resultaron positivas, por lo que en este sentido nuestros resultados coinciden con los de Álvarez y colaboradores (Alvares, Arias y Laca, 2005).

La presencia de triterpenos y esteroides fue corroborada por el ensayo de Solkowski en todas las tinturas, mientras que solo en las tinturas de cáscara seca se pudo observar su presencia por el ensayo de Lieberman-Burchard, aunque solo se detecta un pequeño cambio de coloración que ocurre rápidamente. Resulta ampliamente conocida la presencia de compuestos aromáticos en la corteza de todos los cítricos y en especial en la del limón. Estos compuestos aromáticos son de naturaleza terpénica, pero del tipo mono y sesquiterpeno, los cuales no reaccionan con los reactivos de Solkowski ni el de Lieberman-Burchard. Atendiendo que los triterpenos y esteroides son sustancias lipófilas y los disolventes empleados para la preparación de las tinturas no lo son, unido al hecho de que en la bibliografía consultada no fue posible hallar reportes de este tipo de sustancia en el limón; resulta posible que las evidencias positivas encontradas se deban a otro tipo de sustancia que haya reaccionado creando lo que se conoce como falsos positivos.

Las quinonas son otros de los metabolitos que resultó positivo a los ensayos realizados en la presente investigación, al colorearse de rápidamente de amarillo cuando se aplicó la variante con benceno, señalando la posible presencia de 1-4-naftoquinonas benceno. En la bibliografía consultada, no fue posible hallar ningún reporte de la presencia de este metabolito en el limón, sin embargo, en otras especies del género sí han sido reportados como es el caso del estudio realizado por Correa y colaboradores en el 2016 (Correa, Quiñones y Echeverría, 2016).

El ensayo de las cumarinas es otro de los metabolitos que resultó positivo a los ensayos de Baljet, reconociendo la presencia de compuestos con agrupamientos lactónicos.

El ensayo se consideró positivo ya que se observó un cambio de coloración evidente y rápida una vez que se hizo reaccionar el reactivo con las tinturas. Este tipo de sustancia ha sido extensamente reportada para

la corteza del limón, tal y como se evidencia en los trabajos publicados por Zobel y colaboradores en 1991 en donde identificaron ocho cumarinas (escopoletina, escoparona, ostol, imperatonina, feloterina, angelicina, pimpenellina y seselina) (Zobel, Wang, March & Brown, 1991). Mikayi y colaboradores en 1999 con tres cumarinas aisladas (8-geranilopsolareno, bergamotina y la 5-geranoloxi-7-metoxicumarina) (Miyake, Murakami, Sugiyama, Isobe, Koshimizu & Ohigashi, 1999); mientras que Ledesma-Escobar y colaboradores en el 2015 aislaron otras seis (Ledesma-Escobar, Capote, Luque de Castro, 2015). Otras sustancias muy comunes en la corteza del limón y que reaccionan positivamente ante el reactivo de Baljet son los limonoides (Avula, Sagi, Wang, Wang, Gafner, Manthey & Khan, 2016; Wang et al., 2016). Estas sustancias se diferencian de las cumarinas en que no presentan la insaturación  $\alpha$ - $\beta$  respecto al sistema lactónico.

Para la identificación de la presencia de azúcares reductores se realizaron los ensayos de Fehling y Benedict, los cuales corroboraron la presencia de estos metabolitos al observarse durante el ensayo la aparición de un precipitado color rojizo en el fondo del tubo de ensayo. La producción y acumulación de azúcares es una función común en los frutos, por lo que la presencia de los mismos resulta esperada, siendo informada frecuentemente en la literatura para el caso del fruto del *Citrus limon* (Oikie, Omereg, Oviasogie & Oriakhi, 2015).

Durante la determinación de los flavonoides en todos los casos, se observó una gama de colores que va desde el amarillo claro hasta el rojo intenso que hace pensar en una diferencia en cuanto a la naturaleza química de los mismos, preferentemente por una mayor concentración de flavonoles, resultando por ello de gran utilidad práctica. La reacción con ácido sulfúrico concentrado las tinturas a partir del fruto fresco dieron coloración naranja, indicativo de la presencia de flavanonas, mientras que para las tinturas de la cáscara seca la coloración fue mucho más intensa, sugiriendo una mayor concentración de estos compuestos. Para el ensayo de Shinoda, a las tinturas de fruto fresco se les evidenció un resultado positivo por la aparición de una coloración carmelita oscura, lo cual es indicativo de la presencia de flavonas, mientras que para las de cáscara seca la evidencia positiva fue una coloración naranja lo cual es indicativo también de la presencia de este tipo de flavonoide y también de flavonoles. En los ensayos con álcalis, los cambios de coloración fueron a amarillo para las tinturas FE 50 %, FE 70 % y SZ 50 %, indicativa de flavonas, flavanonol e isoflavonas; mientras que para las SZ 70 % y las CS 50 % y CS 70 % la evidencia fue de un color naranja igual que para las de cáscara seca esto quiere decir la presencia de Flavanonas y flavonoles. El ensayo de Rosenhein, arrojó que hay presencia de leucoantocianidinas y antocianidinas por la aparición de una coloración marrona (Fabroni, Ballistrerri, Amenta, Romeo y Rapisarda, 2016).

En el caso de la identificación de los fenoles y taninos se pudo determinar su presencia mediante el ensayo del cloruro férrico el cual evidenció la aparición de una coloración verde intensa clara para las tinturas del fruto fresco y un color verde oscuro para las de cáscara seca esto se debe a que hay menor cantidad de sustancias expresadas como sólidos totales en las de fruto fresco. Solamente la tintura FE 70 % fue capaz de mostrar coloraciones similares a las obtenidas a partir de la corteza seca ante este reactivo. Diversos metabolitos de naturaleza fenólica, además de los flavonoides previamente mencionados, han sido identificados en el limón. Derivados del ácido hidroxicinámico como el ácido ferulico, caféico y clorogénico han sido reportados (Bocco, Cuvelier, Richard & Berset, 1998); además de derivados del ácido benzoico como el ácido vainillínico, protocateico y orto-benzóico (Hertog, Hollman & Van de Putte, 1993).

La identificación de aminoácidos y aminos en general se pudo constatar sólo en las tinturas de cáscara seca y esto pudo estar dado por la mayor concentración de alcaloides demostrados en estas formulaciones, pues como resulta conocido estas sustancias pueden provocar interferencias evidenciando la coloración violeta al reaccionar con el extracto.

En sentido general, los resultados de la determinación química cualitativa de los componentes de las tinturas permitieron establecer diferencias marcadas entre los tipos de materias primas porque los ensayos de Lieberman-Burchard y Ninhidrina solo dan positivo a la corteza seca, mientras que los ensayos de Dragendorff, Wagner, ácido sulfúrico concentrado y cloruro férrico poseen mayor intensidad de las evidencias en la corteza seca, que en la fresca excepto para la tintura FE 70 %. Por tanto, las mayores y mejores evidencias están en la corteza seca. Como bien se observa en las tablas 3 y 4, para ninguna de las

formulaciones preparadas los parámetros varían con una significación estadística (Test HSD de Tukey al 95 % de confianza).

### Conclusiones

Se obtuvieron un total de seis formulaciones a las que se les determinaron sus parámetros de calidad físicos, físico-químicos y químicos cualitativos; demostrándose que ninguna de las variantes que emplearon el fruto entero de *Citrus limon* (L.) Osbeck como materia prima resulta equivalente a la calidad obtenida para las tinturas preparadas a partir de la corteza seca del fruto. Los mejores resultados se obtienen con la tintura preparada a partir del fruto entero sin zumo en etanol al 70 % al presentar un mayor valor de pH. Las seis tinturas preparadas a partir del fruto del *Citrus limon* (L.) Osbeck resultan estables por un período de 30 días en las condiciones de estudio, según los parámetros físicos y físico-químicos considerados

### Referencias Bibliográficas

- Acevedo-Rodríguez, P., & Strong, M. (2012). Catalogue of seed plants of West Indies. En Smithsonian Contributions to Botany No. 98. Washington DC: Smithsonian Institution Scholarly Press, 284.
- Alvares Arias, B., & Laca, L. R. (2005). Pharmacological properties of citrus and their ancient and medieval uses in the Mediterranean región. *Journal Ethnopharmacology*, 97(1), 89–95.
- Asghar, G., Maryam, N., Mahmood, J.T., & Hamid, Z. (2011). The citrus flavonoid hesperidin induces p53 and inhibits NF- $\kappa$ B activation in order to trigger apoptosis in NALM-6 cells: invol of PPARc-dependent. *A European Journal of Nutrition*, 51(1), 39-46.
- Avula, B., Sagi, S., Wang, Y.H., Wang, M., Gafner, S., Manthey, J.A., & Khan, I.A. (2016). Liquid Chromatography-Electro Spray Ionization Mass Spectrometry Analysis of limonoids and flavonoids in Seeds of Grapefruit, other citrus species, and dietary supplements. *Plantas Medicinales*, 5, 379-438.
- Beurton, C. (2008). Rutaceae. En: Greuter, W. y Rankin, R (eds.). *Flora de La República de Cuba. Serie A, Plantas Vasculares. Fascículo*, 14(3). Publisher: A. R. Gantner Verlag. ISBN: 9783906166667.
- Bocco, A., Cuvelier, M.E., Richard, H., & Berset. C. (1998). Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. *Journal. Agric. Food Chem.*, 46, 2123–2129.
- Correa, E., Quiñones, W., & Echeverría, F. (2016). Methyl-N-methylantranilate, a pungent compound from *Citrus reticulata* Blanco leaves. *Pharmaceutical Biology.*, 54(4), 569-571. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1044618>.
- Do-Hoon, L., Kwang-Il, P., Hyeon-Soo, P., Sang-Rim, K., Arulkumar, N., Jin-A, K., Eun-Hee, K., Won-Sup, L., Young-Sool, H., Hyon-Jong, C., Su-Jin, A., & Gon-Sup, K. (2012). Flavonoids isolated from Korea *Citrus aurantium* L. induce G2/M phase arrest and apoptosis in human gastric cancer AGS cells. *Evid Based Complement Alternat*, 1–11.
- Fabroni, S., Ballistrerri, G., Amenta, M., Romeo, F.V., & Rapisarda, P. (2016). Screening of the anthocyanin profile an in vitro pancreatic lipase inhibition by anthocyanin containing extracts of fruits, vegetables, legumes and cereals. *J. Sci. Food Agric.* <https://doi.org/10.1002/jsfa7708>.
- García, M., Armenteros, D.M., Mahía M., Coma, C, Hernández, J., Díaz, A., & Fernández, F. (2002). Plantas Cítricas en el tratamiento de enfermedades vasculares. *Rev cubana Angiol y Cir Vasc*; 3(2), 39-46.
- González-Molina, E., Domínguez-Perles, R., Moreno, D.A., & García-Viguera, C. (2010) Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health. *J. Pharm. Biom. Anal.*, 51, 327–345.
- Kumar, S., Pushpak, A., Shilpi, M., Anup, K., & Shraddha, V. (2014). Phytochemical analysis of *Citrus limon* and *Citrus sinensis* peels and identification of beta-carotene pigment using ethanolic extract. *Int. Res. J. Pharm*, 5(10), 789-781. Software Statgraphics Centurión XV versión 15.2.14. (2007)
- Ledesma-Escobar, C., Capote, F., Luque de Castro, M.D. (2015). Characterization of lemon (*Citrus Limon*) polar extract by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in high-resolution mode. *J Mass Spectrom*, 50(11), 1196-1205. <https://doi.org/10.1002/jms.3637>.
- MINSAP. (1991). Norma Ramal de Salud Pública 311 (NRSP 311). Extractos fluidos y tinturas. Procesos tecnológicos. Cuba, La Habana: Editorial Ciencias Médicas. Recuperado de [www.cecmecd.cu](http://www.cecmecd.cu).
- MINSAP. (1991). NRSP 312. Extractos fluidos y tinturas. Métodos de Ensayos. Cuba, La Habana: Editorial Ciencias Médicas. Recuperado de [www.cecmecd.cu](http://www.cecmecd.cu).

- MINSAP. (2008). Norma Cubana (NC) 90-13-13. Aseguramiento metrológico. Medidores de pH. Reglas generales para efectuar mediciones de pH. Cuba, La Habana. Recuperado de [www.nconline.cubaindustria.cu](http://www.nconline.cubaindustria.cu).
- MINSAP. (2017). Colectivo de autores. Formulario Nacional de Fitofármacos y Apifármacos. Recuperado de <http://www.instituciones.sld.cu>.
- Miyake, Y., Murakami, A., Sugiyama, Y., Isobe, M., Koshimizu, K., & Ohigashi, H. (1999). Identification of coumarins from lemon fruit (Citrus Limon) as inhibitors of in vitro tumor promotion and superoxide and nitric generation. *J. Agric. FoodChem.*, 47(8), 3151-3157.
- Morón, F., y Levy, M. (2002) *Farmacología General*. La Habana. Editorial Ciencias Médicas, 195-205. ISBN: 959-212-070-6
- Ochoa, A., Lopez, T., & Colombat, M. (2002). *Farmacognosia y Química de los productos naturales*. Monografía. Editado en CD-ROM. ISBN 959-207-012-1. 15-30.
- Oikieh, E.L, Omoregie, E.S, Oviasogie, F.E, & Oriakhi, K. (2015). Phytochemical, antimicrobial, and antioxidant activities of different citrus juices concentrates. *Food Sci. Nutr.*, 4(1), 103-109. DOI: 10.1002/fsn3.268.
- Ruiz, V.E, Interdonato, R, Cerioni, L, Albornoz, P, Ramallo, J, Prado, F.E, Hilal, M, & Rapisarda, V.A. (2016). Short tem UV-B exposure induces metabolic and anatomical changes in peel of harvested lemons contributing in fruit protection againts green mold. *J. Photochem. Photobiol B.*, 159, 59-65. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2016.03.016
- Wang, S., Tu, H., Wan, J., Chen, W., Liu, X., Luo, J., & Zhang, H. (2016). Spatio-temporal distribution and natural variation of metabolites in citrus fruits. *Food Chem*, 199, 8-17
- Wells, J.I (1988). *Pharmaceutical Preformulation: The physichemical Properties of drug substances*. New York USA: Ed. John Wiley Soas, 215-219.
- WHO. (2011). *Quality control methods for medicinal plant materials*. Geneva, Switzerland: Edit. WHO Press, 33-35. ISBN 978 92 4 150073 9.
- Zobel, A.M., Wang, J., March, R.E., & Brown, S.A. (1991). Identification of eight coumarins occurring with psoralen, xanthotoxin, and bergapten on leaf surfaces. *J. Chem. Ecol*, 17(9), 1859-1870. <https://doi.org/10.1007/BF00993733>.

