

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y
MATEMÁTICAS
ESCUELA DE FÍSICA



Trabajo de graduación
**Caracterización óptica de tejido cutáneo
canceroso y no canceroso**

Presenta

Alejandro Vladimir Portillo Argueta

Para optar por el grado de

Licenciado en Física

Docente director

Dr. Carlos Ernesto Rudamas Flores

Fecha

20 de noviembre de 2025

TRIBUNAL CALIFICADOR



Dr. Carlos Ernesto Rudamas Flores
Jurado



M.Sc. Víctor Laureano Cortez Lara
Jurado



M.Sc. Zoila Virginia Guerrero Mendoza
Jurado

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

RECTOR:

M.Sc. Juan Rosa Quintanilla Quintanilla

SECRETARIO GENERAL:

Lic. Pedro Rosalío Escobar Castaneda

FISCAL GENERAL:

Lic. Carlos Amílcar Serrano Rivera

DECANA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA:

M.Sc. Ángela Gudelia Portillo de Pérez

DIRECTOR DE LA ESCUELA DE FÍSICA:

Dr. Rafael Antonio Gómez Escoto

Ciudad Universitaria, noviembre 2025

Agradecimientos.

A Yanira, quien sobre todas las cosas, nunca me ha dejado de lado en todo este proceso y en la vida.

Al grupo de investigación del Laboratorio de Espectroscopía Óptica, quienes han sido parte central del proceso de esta tesis. Especialmente, a Jorge Cuadra, Óscar Deodanes, Nelson Cisneros, Juan Carlos Menjivar y Carmen Navarro.

A Ludwing, por, básicamente, mantenerme cuerdo y ser parte fundamental de mi vida desde hace más de veinte años.

A Jackelyn y a Alma, por su ayuda en la toma de medidas y por ser grandes seres humanos y buenas compañeras de trabajo.

A mi familia.

Índice general

1. Resumen	1
2. Introducción	3
3. Fundamentación teórica	5
3.1. Fundamentos físicos	5
3.1.1. Interacción de la luz con la materia	5
3.1.2. Tejidos humanos como materiales ópticos	6
3.1.3. Absorción	7
3.1.4. Fotoluminiscencia	8
3.2. Cromóforos y fluoróforos	9
3.2.1. Hemoglobina	9
3.2.2. Fluoróforos presentes en piel	10
3.3. Estado del conocimiento	12
3.3.1. Cánceres y precánceres	12
3.3.2. Angiogénesis en procesos cancerígenos	13

3.3.3. Estrés oxidativo	13
4. Metodología	15
4.1. Técnicas experimentales	15
4.1.1. Muestras	15
4.1.2. Pretratamiento de la muestra	16
4.2. Configuraciones experimentales	16
4.2.1. Configuración experimental para las medidas de absor- bancia	16
4.2.2. Configuración experimental de las medidas de fotolu- miniscencia	17
4.2.3. Configuración experimental de las medidas de fotolu- miniscencia resonante	18
5. Resultados y discusión	20
5.1. Absorción	20
5.2. Fotoluminiscencia	24
5.3. Fotoluminiscencia resonante	28
6. Conclusiones y recomendaciones	32
6.1. Conclusiones	32
6.2. Recomendaciones	34
Bibliografía	34

Índice de figuras

3.1. Interacciones de la luz con la materia.	6
3.2. Diagrama de energía del principio de Franck-Condon.	8
3.3. Estructura molecular de la hemoglobina, que muestra las cadenas alfa -polipeptídicas en rojo, las cadenas beta -polipeptídicas en azul y los grupos hemo en verde. Adaptado del Protein Data Bank: 1GZX.	9
3.4. Estructura molecular del grupo hemo, que muestra un anillo de porfirina compuesto por cuatro unidades de pirrol y un átomo de hierro en el centro del anillo principal.	10
3.5. Estructura molecular de algunos fluoróforos presentes en piel. De izquierda a derecha: Flavinas [15], FAD [16], NADH [17]	11
4.1. Imágenes tomadas bajo microscopio de muestras seleccionadas de BCC (A), NEVO (B) y QTO (C).	16
4.2. Configuración experimental de las medidas de absorbancia	17
4.3. Configuración experimental de las medidas de fotoluminiscencia (FO: Fibra óptica. BS: Beam splitter. LC: Lente convexo. LF: Lente colimador. PM: Portamuestras)	18

4.4.	Configuración experimental de las medidas de fotoluminiscencia resonante (FO: Fibra óptica. BS: Beam splitter. LC: Lente convexo. LF: Lente colimador. PM: Portamuestras)	19
5.1.	Medidas de espectros típicos de absorción de muestras de piel. Azul: Queratosis (QTO). Rojo: Nevus (NEVO). Negro: Carcinoma basocelular (BCC)	21
5.2.	Espectro de absorción de piel deconvolucionado. Se muestran cuatro bandas gaussianas.	22
5.3.	Comparación entre el espectro típico de muestras cancerosas (BCC) y muestras no cancerosas (QTO, NEVO)	23
5.4.	Espectro de emisión típico de muestras cancerosas (BCC) y muestras no cancerosas (QTO, NEVO, Hiperplasia)	25
5.5.	Espectro de emisión de piel, excitada a 365 nm, con seis bandas gaussianas asignadas a cada fluoróforo.	26
5.6.	Comportamiento promedio de espectros de emisión de tejido cutáneo.	27
5.7.	Espectros de excitación y emisión de fotoluminiscencia resonante en el rango 471 nm - 517 nm, cada línea representa un par excitación-emisión para una longitud de onda en específico. Las líneas punteadas representan excitación, las sólidas la emisión respectiva.	30
5.8.	Espectros de excitación y emisión de fotoluminiscencia resonante en el rango en la zona entre 478 nm y 500 nm. Cada color representa una longitud de onda. Las líneas punteadas representan excitaciones, las continuas emisiones. Las líneas verticales cortadas representan máximos de absorción de FAD y porfirinas.	31

Índice de tablas

3.1. Emisiones de fluoróforos presentes en tejido cutáneo.	11
5.1. Transiciones electrónicas asociadas a distintas bandas de absorción en tejido cutáneo.	23
5.2. Rangos de absorción fluoróforos presentes en tejido cutáneo. .	28

Capítulo 1

Resumen

En este trabajo se analizaron las propiedades ópticas del tejido cutáneo mediante técnicas de espectroscopía de absorción, fotoluminiscencia y fotoluminiscencia resonante, con el objetivo de identificar características espectrales asociadas al diagnóstico de distintos tipos de cáncer de piel. Las muestras estudiadas incluyeron tejidos cancerosos y no cancerosos, y las mediciones se realizaron en el rango visible del espectro electromagnético.

Los espectros de absorción mostraron bandas bien definidas alrededor de 500 nm, 532 nm, 588 nm y 632 nm, correspondientes a transiciones electrónicas de hemoglobina en sus diferentes estados. Se observó una mayor absorbancia en estas bandas en muestras cancerosas, lo cual puede atribuirse a procesos de angiogénesis que aumentan la vascularización del tejido y, por tanto, la concentración de hemoglobina.

En los espectros de fotoluminiscencia se registró una emisión en el rango de 425 a 650 nm, con intensidades más elevadas cercanas a los 500 nm. Mediante deconvolución espectral se identificaron bandas gaussianas asociadas a fluoróforos como NADH y FAD. Las muestras cancerosas presentaron una disminución de intensidad en las regiones relacionadas con estos compuestos, lo cual podría indicar alteraciones metabólicas y niveles elevados de estrés oxidativo en el tejido tumoral.

En la fotoluminiscencia resonante se exploró la dependencia espectral de

la emisión en función de la longitud de onda de excitación, observando un desplazamiento hacia longitudes de onda mayores al aumentar esta última. Sin embargo, no se detectaron canales de resonancia bien definidos, probablemente debido al solapamiento espectral de múltiples fluoróforos y a la absorción significativa de la hemoglobina, que limita la identificación clara de transiciones ópticas individuales.

Capítulo 2

Introducción

Dentro de los distintos tipos de cáncer, el cáncer de piel representa uno de los diagnósticos más frecuentes a nivel mundial [1]. En El Salvador, se estima que es el segundo tipo de cáncer con mayor incidencia [2]. Esta enfermedad puede clasificarse en dos grandes grupos: el melanoma y el cáncer de piel no melanoma (NMSC, por sus siglas en inglés). El NMSC, que incluye carcinomas basocelulares (BCC) y carcinomas espinocelulares (SCC), constituye la neoplasia más común a nivel global [3]. Algunas condiciones benignas como las queratosis, especialmente las actínicas, son consideradas precursoras del SCC, aunque no todas evolucionan a esta etapa. Sin embargo, se recomienda un monitoreo cuidadoso de estas lesiones [4].

Actualmente, el diagnóstico de cáncer de piel se basa principalmente en la inspección visual seguida de una biopsia, procedimiento considerado como el método de referencia. No obstante, las biopsias son técnicas invasivas que pueden resultar incómodas para los pacientes y, en algunos casos, favorecer procesos como la proliferación de metástasis y la recurrencia tumoral [5]. Frente a estas limitaciones, ha cobrado importancia el desarrollo de métodos diagnósticos alternativos, no invasivos y complementarios al análisis histopatológico.

Entre las propuestas más prometedoras destacan las técnicas espectroscópicas. Diversos estudios han demostrado que la espectroscopía óptica puede revelar diferencias significativas entre tejidos cancerosos y no cancerosos a

partir de señales relacionadas con componentes bioquímicos específicos. Por ejemplo, la espectroscopía de fluorescencia ha permitido identificar cambios en la emisión de fluoróforos endógenos como NADH y FAD, moléculas clave en el metabolismo celular, que reflejan alteraciones mitocondriales y estrés oxidativo en el tejido tumoral [6]. Asimismo, la espectroscopía Raman ha mostrado diferencias entre tejidos sanos y cancerosos en las regiones del espectro asociadas a lípidos y proteínas [7]. Por otro lado, estudios de absorción óptica han identificado diferencias en la absorbancia entre tejidos sanos y lesionados en distintos rangos espectrales [8, 9], lo cual sugiere la viabilidad de esta técnica como herramienta diagnóstica. En trabajos previos realizados en población salvadoreña se ha reportado una mayor absorbancia en tejido canceroso en el rango visible, en casos de cáncer cervicouterino [10], lo que refuerza la relevancia de este tipo de estudios en contextos locales.

En este trabajo se investigan las propiedades ópticas del tejido cutáneo a través de técnicas de absorción, fotoluminiscencia y fotoluminiscencia resonante. Se analizaron muestras de tejido con distintos diagnósticos histopatológicos, pertenecientes a pacientes salvadoreños, con el propósito de identificar características espectrales que puedan asociarse a estados cancerosos y no cancerosos. Los resultados obtenidos muestran que las muestras cancerosas presentan mayor absorbancia en bandas características de la hemoglobina, lo cual puede estar relacionado con el fenómeno de angiogénesis tumoral. Asimismo, en los espectros de fluorescencia se observó una disminución de la emisión en regiones asociadas a NADH y FAD en las muestras malignas, indicando posibles alteraciones metabólicas propias del cáncer. Finalmente, el estudio de la fotoluminiscencia resonante evidenció la superposición de señales de múltiples fluoróforos, sin la aparición clara de canales de resonancia, posiblemente debido a la alta absorción de la hemoglobina en el rango visible.

La caracterización óptica de estos tejidos, especialmente en una población poco representada en la literatura como la salvadoreña, contribuye no solo al conocimiento fundamental sobre la interacción de la luz con el tejido biológico, sino también al desarrollo futuro de técnicas diagnósticas ópticas no invasivas que puedan aplicarse en contextos clínicos locales.

Capítulo 3

Fundamentación teórica

3.1. Fundamentos físicos

3.1.1. Interacción de la luz con la materia

El espectro electromagnético total, abarca desde ondas de radio poco energéticas, con longitudes de onda que se miden en metros, hasta ondas altamente energéticas con longitudes de onda medidas en angstroms. Conocemos como luz visible a la parte del espectro electromagnético que se puede percibir mediante la vista. Esta parte compone únicamente una pequeña porción del espectro total que ronda entre los 400 nm a 700 nm.

Cuando se irradia luz sobre una muestra, las ondas electromagnéticas que interactúan con la materia pueden generar una serie de fenómenos. En términos generales, al incidir radiación sobre un sistema, esta puede ser absorbida, transmitida, reflejada, dispersada o inducir emisiones, dependiendo de las propiedades ópticas, estructurales y electrónicas del material irradiado, así como se muestra en la figura 3.1. Estos procesos permiten estudiar la interacción entre la energía electromagnética y los distintos componentes del sistema, dando lugar a respuestas características que pueden ser detectadas y analizadas.

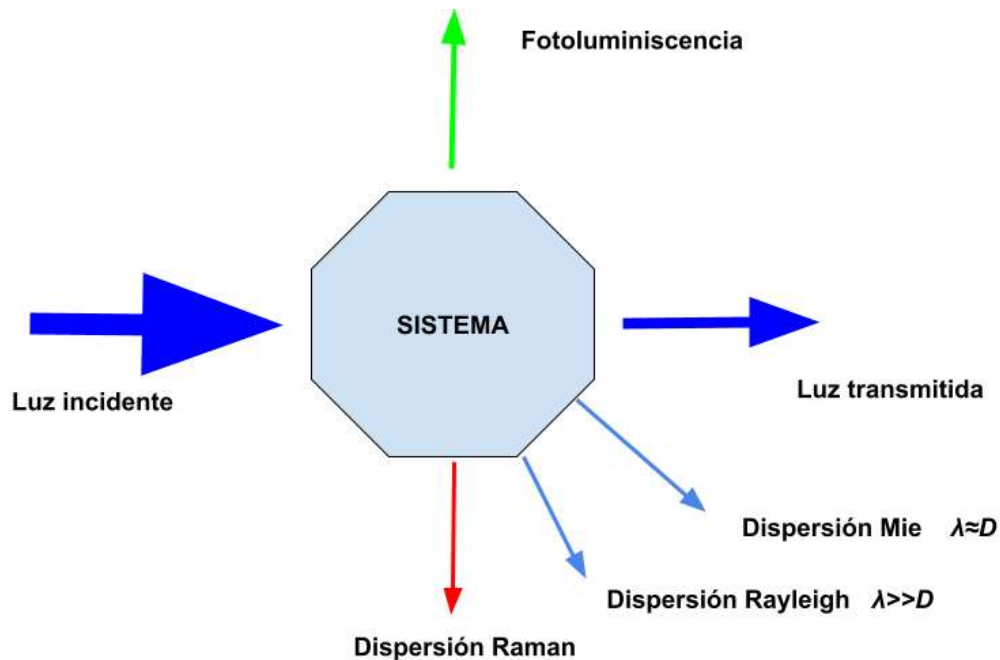


Figura 3.1: Interacciones de la luz con la materia.

Un ejemplo particular de sistema es el tejido humano, el cual presenta una estructura biológica compuesta por células, proteínas, agua y otros componentes. En este caso, la radiación puede inducir fenómenos como la absorción, relacionada con la diferencia entre la intensidad de la luz incidente y la luz transmitida; la fotoluminiscencia, que es la emisión de luz luego de una recombinación de estados electrónicos; y la dispersión Raman, que se da cuando la luz es dispersada inelásticamente y los fotones dispersados tienen una longitud de onda diferente a la de los fotones incidentes.

3.1.2. Tejidos humanos como materiales ópticos

Al estudiar el tejido orgánico mediante métodos ópticos se puede observar que estos no se comportan como un material homogéneo. Si bien es cierto que superficialmente estos pueden tener patrones regulares dada la estructura de las células cutáneas, a escalas menores son sistemas turbios, sin ningún

tipo de superficie plana ni distinciones claras entre los tipos de células que componen el sistema.

Los tejidos biológicos funcionan en diferentes escalas. Por lo general, poseen una variedad de moléculas que son de escala menor a las longitudes de onda presentes en la luz visible, a pesar de poseer otras unidades a escala celular con tamaños similares a las longitudes de onda del visible.

3.1.3. Absorción

Al incidir luz sobre una molécula, causa que un electrón sea excitado desde un nivel base de energía hasta un nivel de mayor energía. Cada uno de estos estados electrónicos puede contener un número de niveles de vibración. Experimentalmente, el proceso de absorción puede ser explicado con la ayuda de la Ley de Beer-Lambert-Bouguer. Como se muestra en la siguiente expresión:

$$A = \epsilon l c \quad (3.1)$$

Donde A es absorbancia, ϵ es el coeficiente de atenuación molar de la especie atenuante, l .^{es} el camino óptico y c .^{es} la concentración de la especie atenuante.

Para que el fenómeno de absorción se dé en un sistema, la radiación electromagnética que dicho sistema recibe debe cumplir con la condición de Bohr, es decir: $E_1 - E_0 = h\nu$ donde una transición electrónica es el salto virtual que da un electrón de una molécula que se encuentra en un estado electrónico E_0 a otro estado electrónico más elevado E_1 mediante la absorción de fotones [11]

3.1.4. Fotoluminiscencia

En la fotoluminiscencia, la molécula absorbe al fotón incidente, el cual pasa a un estado electrónico excitado. Transcurre un tiempo en el que la molécula sufre una nueva transición al estado electrónico inferior, re-emitiendo radiación, normalmente de longitud de onda superior a la que se absorbió. [12]

Los fenómenos de fotoluminiscencia se dan en los estados electrónicos llamados singletes, que poseen estados vibracionales asociados a ellos. El proceso de fotoluminiscencia se da primeramente con una absorción del estado base, seguido por una conversión interna que es la transición entre dos estados electrónicos con espines apareados, seguida por una relajación electrónica [11]. En general, la emisión de fotones que acompaña a una relajación se conoce como fluorescencia. La emisión de fotones se considera como un proceso espontáneo; esto se puede observar en la figura 3.2.

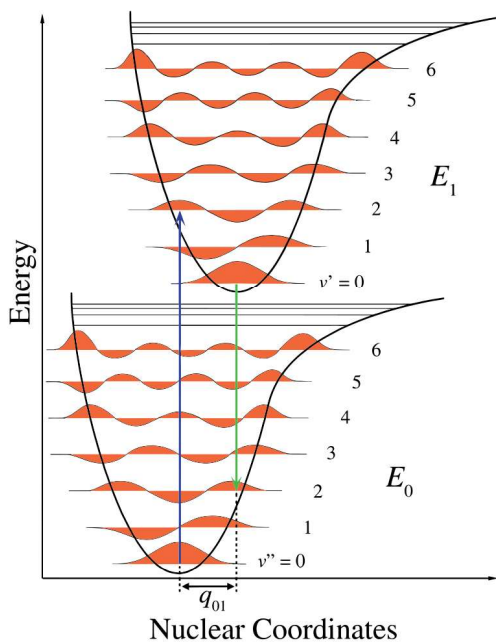


Figura 3.2: Diagrama de energía del principio de Franck-Condon.

3.2. Cromóforos y fluoróforos

3.2.1. Hemoglobina

La estructura principal de la molécula se muestra en la Figura 3.3. Las moléculas de hemoglobina en humanos son proteínas formadas por cadenas polipeptídicas alfa (rojo) y beta (azul) junto con grupos hemo (verde). Estos últimos están formados por un anillo de porfirina, que es un compuesto cíclico formado por cuatro unidades de pirrol, con un hierro en su centro, como se muestra en la Figura 3.4. La función principal de la hemoglobina es transportar oxígeno desde los pulmones al tejido en general [13].

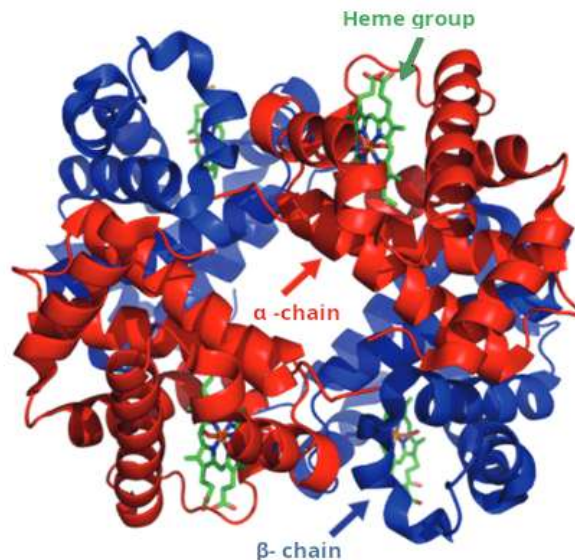


Figura 3.3: Estructura molecular de la hemoglobina, que muestra las cadenas alfa -polipeptídicas en rojo, las cadenas beta -polipeptídicas en azul y los grupos hemo en verde. Adaptado del Protein Data Bank: 1GZX.

La hemoglobina es además un cromóforo endógeno presente en el tejido cutáneo, así como su forma oxigenada (oxihemoglobina) y junto a otros cromóforos son responsables de la absorción del tejido cutáneo en la ventana espectral de longitudes de onda menores a 600 nm.

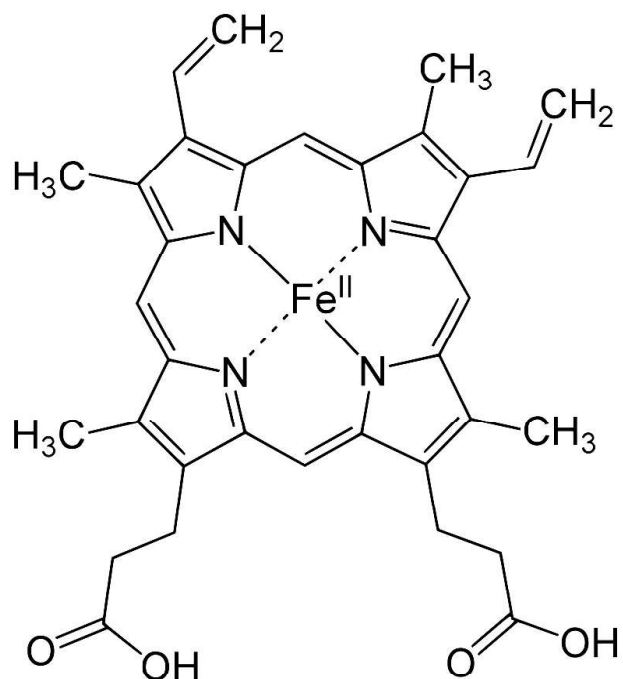


Figura 3.4: Estructura molecular del grupo hemo, que muestra un anillo de porfirina compuesto por cuatro unidades de pirrol y un átomo de hierro en el centro del anillo principal.

3.2.2. Fluoróforos presentes en piel

El NADH o nicotinamida adenina dinucleótida y el FAD o flavín adenín dinucleótido son cofactores que intervienen en las relaciones metabólicas de oxidoreducción presentes en el cuerpo humano. Ambos se consideran indicadores efectivos del nivel de metabolismo de las células, además de ser los únicos cofactores con fluorescencia. El NADH presenta fluorescencia en el rango de 460-480 nm y el FAD presenta su pico máximo de fluorescencia entre 510-530 nm [6].

El FAD pertenece al grupo de compuestos conocidos como flavinas. Estas moléculas cumplen un papel importante en la cadena de transporte de electrones mitocondrial y en otras reacciones enzimáticas, además de contribuir a la señal de fotoluminiscencia observada en estudios ópticos de tejidos [14].

La estructura molecular básica del NADH, FAD y otras flavinas se muestra en la figura 3.5.

La piel contiene además, otros fluoróforos endógenos, cuyas emisiones dependen de la longitud de onda de excitación. La lista completa de fluoróforos presentes en la piel, así como sus emisiones de acuerdo a la longitud de onda de excitación de 365 nm, se muestran en la tabla 3.1

Fluoróforos	Emisiones para exc=365 nm.
Colágeno	370–440 nm
NADH	460–480 nm
FAD	515 nm (pico)
Flavinas	520–550 nm
Lipofuscina	580 nm (pico)
Porfirinas	590–650 nm

Tabla 3.1: Emisiones de fluoróforos presentes en tejido cutáneo.

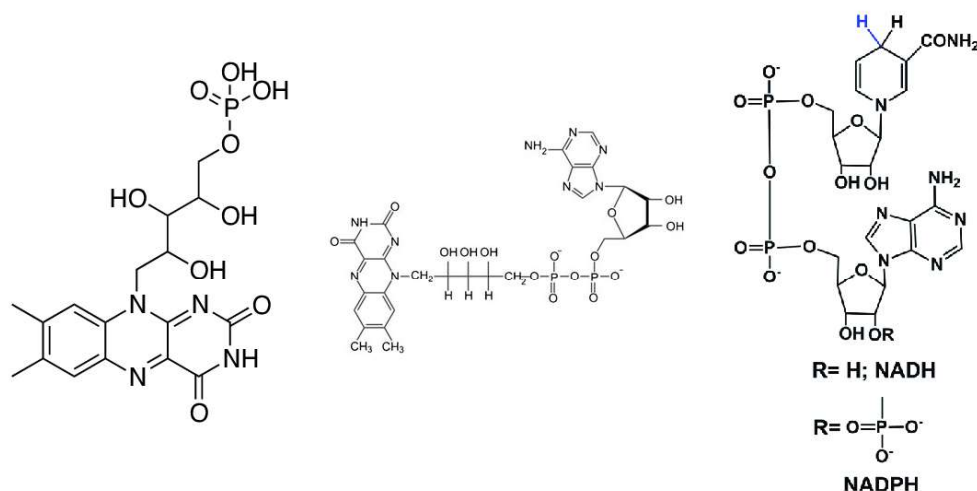


Figura 3.5: Estructura molecular de algunos fluoróforos presentes en piel. De izquierda a derecha: Flavinas [15], FAD [16], NADH [17]

3.3. Estado del conocimiento

3.3.1. Cánceres y precánceres

El cáncer es un conjunto de enfermedades que se caracterizan por el crecimiento descontrolado de las células del cuerpo humano, formando en algunos casos tumores sólidos que pueden extenderse a distintas partes del cuerpo, aparte de la zona donde se formaron. Dentro de los diagnósticos de cáncer, los distintos tipos de cáncer de piel conforman el diagnóstico más común en el mundo. [1] Existen tres tipos principales de cáncer de piel, nombrados de esta forma por los tipos de células a las que afectan. El carcinoma de células basales, el carcinoma de células escamosas y el melanoma.

Existen además una serie de diagnósticos benignos que pueden ser confundidos a simple vista con una lesión cancerígena. Algunos de estos son los nevus y las queratosis.

Los nevus son una proliferación de distintos tipos de células de la piel. Pueden ser sebáceos o melanocíticos. Un 25 por ciento de los casos de melanoma aparece sobre un nevus melanocítico previo. El riesgo de melanoma aumenta con el mayor número de nevus adquiridos [18].

La queratosis es una enfermedad de la piel caracterizada por la inflamación de una zona específica. Se subdividen en queratosis seboreicas y actínicas. Las queratosis seboreicas tienden a confundirse visualmente con los carcinomas basocelulares. Mientras que las queratosis actínicas se consideran un precáncer precursor del carcinoma espinocelular [4]

Tanto los nevus como queratosis no son considerados como tales como estadíos precancerosos. Sin embargo, existen reportes carcinomas basocelulares surgiendo de algunos tipos de queratosis [19], carcinomas basocelulares de nevus [20].

3.3.2. Angiogénesis en procesos cancerígenos

El crecimiento de los tumores se ve generalmente acompañado de la creación de sistemas vasculares necesarios para que las células cancerosas tengan acceso al flujo sanguíneo y crezcan. Esto puede darse mediante el uso de sistemas vasculares ya existentes en el tejido o la formación de otros mediante procesos biológicos. Este proceso se conoce como angiogénesis [21].

El crecimiento de sistemas vasculares en los tumores permite que un mayor flujo de sangre llegue a los mismos. La hemoglobina, principal componente de la sangre, presenta dos bandas principales de absorbancia con picos en 523nm y 600nm. Se ha reportado mayor absorbancia de observada en el espectro de tejido cervical canceroso en comparación a tejido cervical pre canceroso y tejido sano [10]

3.3.3. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es un fenómeno que se da cuando se genera una producción descontrolada de radicales libres del oxígeno, que dañan las macromoléculas y afectan los procesos celulares. Se reporta en casi todos los tipos de cáncer, Y está asociado con la aceleración de el desarrollo de tumores [22].

Una medida aproximada del nivel de estrés oxidativo la razón de oxidoreducción, que se define como la intensidad de la fluorescencia del FAD entre la intensidad de la fluorescencia del NADH, y ilustra cambios relativos de los niveles de oxidoreducción de las células sin tener en cuenta agentes exógenos, con la ventaja de que puede ser medido in vivo [23].

En estudios anteriores una de las características más marcadas entre tejidos cancerosos y no cancerosos es la diferencia de la intensidad de la autofluorescencia de NADH/NAD⁺, presente como marcador de estrés oxidativo en las células cancerosas, lo cual conlleva el descenso en la fluorescencia de

los tumores en la región espectral de 420nm-460nm, región correspondiente a la fluorescencia de dicha molécula [6].

Capítulo 4

Metodología

4.1. Técnicas experimentales

4.1.1. Muestras

Se tienen una serie de 59 biopsias en portaobjetos. Los diagnósticos correspondientes a las muestras a utilizar corresponden a 35 carcinomas basocelulares (BCC), 2 carcinomas de células escamosas (SCC), 14 nevus (NEVO), 8 queratosis (QTO) y otro tipo de diagnósticos que únicamente poseen una muestra (Melanosis, hiperplasia, telangiectasias, etc.)

Todas las biopsias que se utilizaron en esta investigación fueron tomadas durante la segunda mitad del año 2019 en pacientes salvadoreños de los departamentos de San Miguel, San Salvador y Chalatenango. Cada una está debidamente diagnosticada por un patólogo y tiene un código correspondiente, relativo a la zona donde fue tomada y el número de paciente de dicha campaña. (SM19-14, por ejemplo). Imágenes de las biopsias bajo microscopio se muestran en la figura [4.1](#)

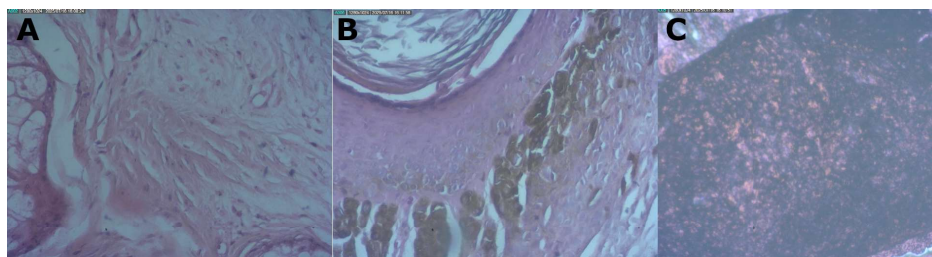


Figura 4.1: Imágenes tomadas bajo microscopio de muestras seleccionadas de BCC (A), NEVO (B) y QTO (C).

4.1.2. Pretratamiento de la muestra

Todas las biopsias utilizadas fueron tratadas previamente mediante el uso de hematoxina y eosina, las cuales se utilizan para visualizar la estructura general de los tejidos y sus componentes celulares. Para garantizar un manejo adecuado de los portaobjetos, se emplearon guantes de nitrilo durante las mediciones. Antes de cada medición, los portaobjetos fueron limpiados cuidadosamente con alcohol etílico y paños suaves, con el fin de evitar la presencia de suciedad que pudiera interferir en los resultados. Finalmente, todas las muestras se conservaron en cajas cerradas, a temperatura estable y protegidas de la luz solar directa, con el objetivo de prevenir su deterioro. En la figura 4.1 se muestra una imagen de las muestras antes de ser utilizadas en medidas espectrales.

4.2. Configuraciones experimentales

4.2.1. Configuración experimental para las medidas de absorbancia

En la Figura 4.2 se muestra un diagrama del montaje experimental usado para realizar las medidas de absorbancia. Se utilizó como fuente de luz una lámpara de tungsteno Ocean Optics HL-2000 con un rango de emisión entre 360 nm y 2400 nm. La muestra se excitó mediante una fibra óptica. Otra fibra óptica se utilizó para recolectar la luz transmitida y enviarla a un

espectrómetro Ocean Optics USB4000-UV-VIS con una resolución espectral de alrededor de 0,9 nm y una rendija de entrada de 25 μm .

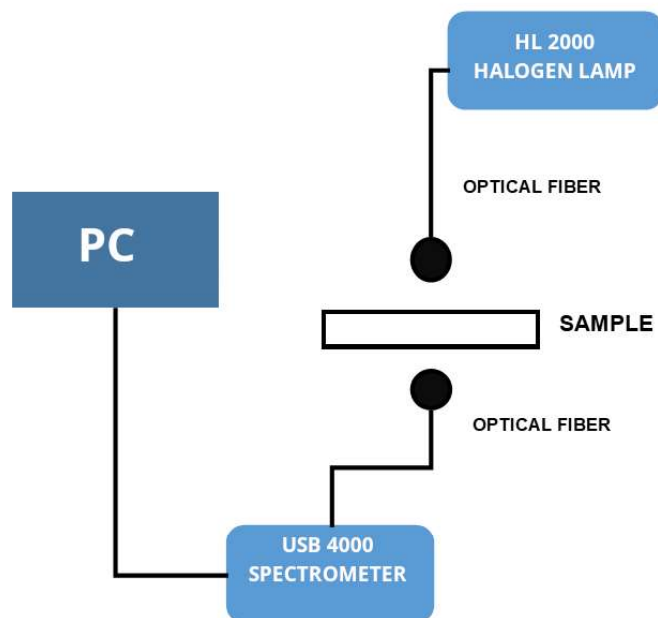


Figura 4.2: Configuración experimental de las medidas de absorción

4.2.2. Configuración experimental de las medidas de fotoluminiscencia

En la figura 4.3 se muestra el esquema de la configuración experimental usada para la toma de medidas de fotoluminiscencia. Se utilizó como fuente de luz un diodo led marca Chanzon con una potencia de 10 watts y con un centro de emisión alrededor de 365 nm. La luz emitida pasa a través de un beam splitter 80/20. La sección dividida del haz que posee mayor emisión se enfoca sobre la muestra utilizando un lente con una longitud focal de 3.5 cm. La luz emitida por la muestra se recolecta mediante otra lente biconvexa de longitud focal de 5.5 cm, que se enfoca en la apertura de un espectrómetro marca Stellarnet, modelo Silver Nova con una rendija de entrada de 25 μm

y resolución de 1 nm. Similarmente, la sección del haz con menor emisión se enfoca mediante un lente con longitud focal de 3.5 cm sobre una fibra óptica que está conectada a un espectrómetro Ocean Optics USB4000-UV-VIS con una resolución espectral de alrededor de 0,9 nm y una rendija de entrada de 25 μm .

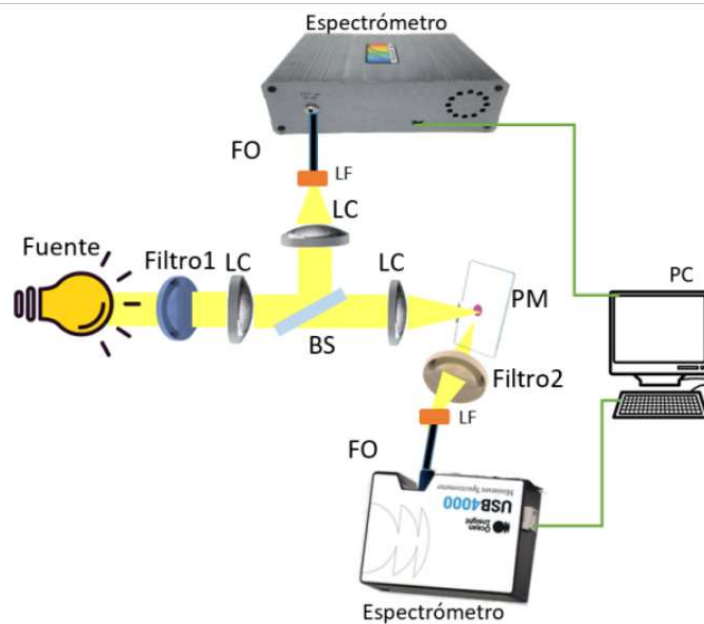


Figura 4.3: Configuración experimental de las medidas de fotoluminiscencia (FO: Fibra óptica. BS: Beam splitter. LC: Lente convexo. LF: Lente colimador. PM: Portamuestras)

4.2.3. Configuración experimental de las medidas de fotoluminiscencia resonante

Para las medidas de fotoluminiscencia resonante se utilizó como fuente de luz un led blanco marca Chanzon con una potencia de 100 W y que tiene una emisión con un rango entre 400 nm y 620 nm. La luz emitida por este LED pasa a través de un monocromador Bausch and Lomb de 1350 surcos por nm. Este monocromador está automatizado mediante un servomotor conectado a una Raspberry Pi que cambia la longitud de onda seleccionada mediante

un código. La luz transmitida por el monocromador se enfoca mediante un lente sobre un beam splitter que separa la luz en dos haces, uno con 20 por ciento de la intensidad incidente, y otro con 80 por ciento de la intensidad incidente. La luz transmitida por el haz de menor intensidad es recolectada mediante una fibra óptica conectada a un espectrómetro Ocean Optics USB-4000-UV-VIS descrito anteriormente, mientras que la luz transmitida por el haz de mayor intensidad se enfoca sobre la muestra mediante un lente de longitud focal de 3.5 cm. La luz emitida por la muestra se colecta mediante una fibra óptica conectada a un espectrómetro Stellarnet Silver Nova descrito anteriormente. Un diagrama de la configuración experimental aquí descrita se puede hallar en la figura 4.4.

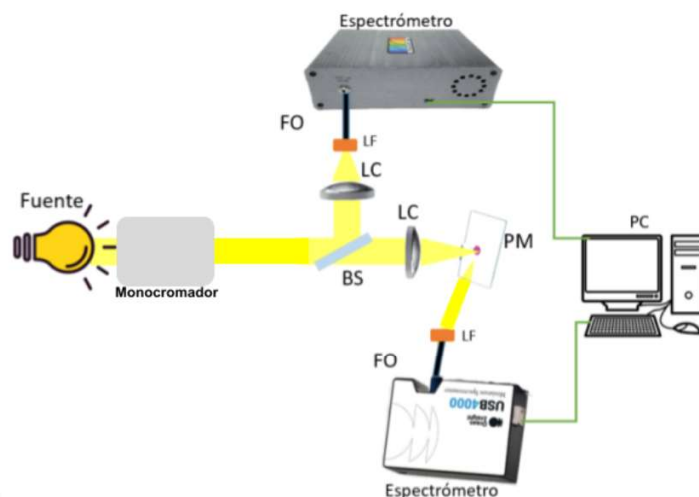


Figura 4.4: Configuración experimental de las medidas de fotoluminiscencia resonante (FO: Fibra óptica. BS: Beam splitter. LC: Lente convexo. LF: Lente colimador. PM: Portamuestras)

Capítulo 5

Resultados y discusión

5.1. Absorción

En la Figura 5.1 se muestran espectros de absorbanza típicos de muestras seleccionadas de BCC, NEVO y QTO. Todos estos espectros muestran bandas de absorbanza centradas alrededor de 500 nm, 532 nm, 588 nm y 632 nm. Estas bandas son el resultado de transiciones ópticas asociadas a la molécula de hemoglobina, que es uno de los cromóforos más importantes de la piel humana.

La figura 5.2 muestra la deconvolución gaussiana de un espectro de absorbanza de BCC, en el que aparecen cuatro bandas diferentes. Para explicar el origen de estas bandas, utilizaremos el trabajo de Volkov et al. [24]. Compararon medidas experimentales de absorbanza de la hemoglobina con cálculos TD-DFT (teoría del funcional de la densidad dependiente del tiempo) para asociar ciertas transiciones ópticas a las bandas de absorbanza. Utilizando estos resultados, se pudo tomar en cuenta la contribución de cada una de las hemoglobinas al espectro de absorción de piel y asociar transiciones electrónicas a cada una de las bandas deconvolucionadas.

Primeramente, la banda centrada en 500 nm (línea verde) se puede asociar a una transición del componente orbital d_{yz} del anillo de porfirina al orbital π^* antienlazante del anillo de porfirina en la metahemoglobina. La

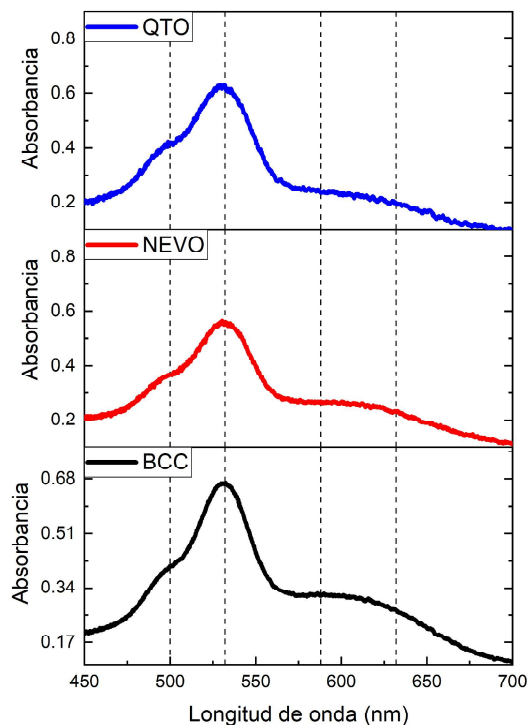


Figura 5.1: Medidas de espectros típicos de absorción de muestras de piel. Azul: Queratosis (QTO). Rojo: Nevus (NEVO). Negro: Carcinoma basocelular (BCC)

banda alrededor de 532 nm (línea azul) podría ser la contribución de tres transiciones diferentes. La primera (541 nm), de un orbital de enlace π del anillo de porfirina al orbital d_{xz} del hierro en disposición de antienlazante con respecto al orbital de antienlazante π^* del anillo de porfirina en la oxihemoglobina. La segunda (536 nm) de un componente orbital d_{yz} a una coordinación no enlazante de los orbitales π^* enlazantes del anillo de porfirina en la metahemoglobina. La tercera (554 nm) es una transición de transferencia de carga desde un orbital de enlace π de la porfirina al orbital d_{xz} del hierro en configuración antienlazante con el componente π^* de la porfirina en la desoxihemoglobina.

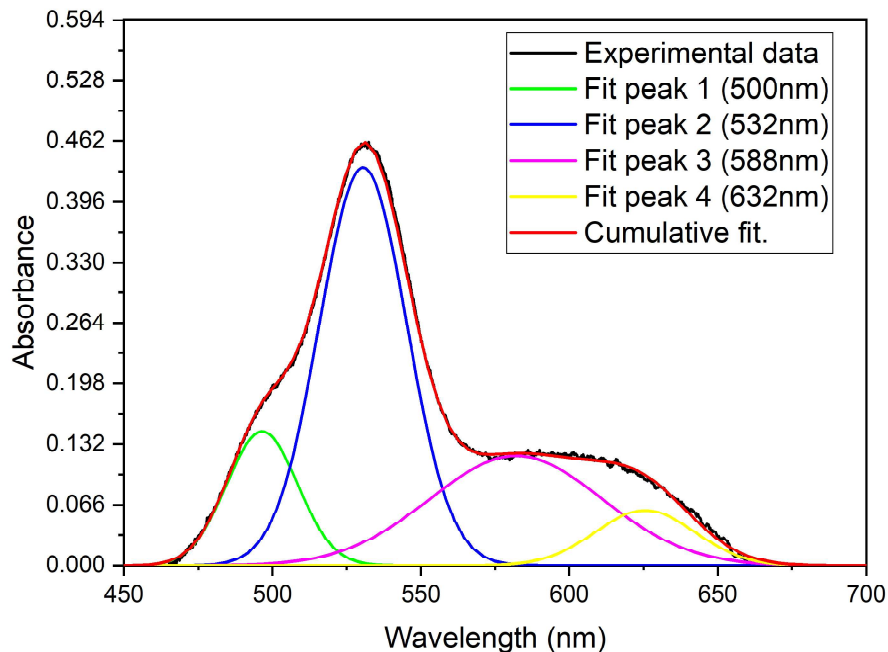


Figura 5.2: Espectro de absorción de piel deconvolucionado. Se muestran cuatro bandas gaussianas.

La banda alrededor de 588 nm (línea púrpura) podría ser el resultado de las contribuciones de tres transiciones diferentes. La primera, la mencionada transición de 554 nm en la desoxihemoglobina. La segunda (576 nm) una transición desde un orbital de enlace π del anillo de porfirina a un emparejamiento de tipo π de los componentes orbitales d_{yz} del hierro y π^* del oxígeno en la oxihemoglobina. La tercera (576 nm) desde los orbitales de enlace π en el pirrol B a un componente electrónico d_{yz} del ion hierro en la metahemoglobina. La banda en torno a 632 nm (línea amarilla) podría atribuirse a una transición desde un orbital de enlace π localizado en el anillo de pirrol A a un componente electrónico d_{yz} del ion hierro en la methemoglobina. Un resumen de la información aquí presentada se puede observar en la tabla.

Otro aspecto relevante que puede observarse en los resultados obtenidos es el comportamiento característico de los espectros asociados a cada diagnóstico específico. Con el fin de identificar patrones, se ha realizado un análisis

Centro (nm)	Transiciones asociadas
500	$D_{yz} \rightarrow \pi^*$ (500 nm) CC (Metahemoglobina)
532	$D_{yz} \rightarrow \pi^*$ (532 nm) CC (Metahemoglobina) $\pi \rightarrow D_{xz}$ (541 nm) CFe (Oxihemoglobina) $\pi \rightarrow D_{xz}$ (554 nm) CFe (Deoxihemoglobina)
588	$\pi \rightarrow D_{xz}$ (554 nm) CFe (Deoxihemoglobina) $\pi \rightarrow D_{yz} \rightarrow \pi^*$ (576 nm) CFeO (Oxihemoglobina) $\pi \rightarrow D_{yz}$ (576 nm) CFe (Metahemoglobina)
632	$\pi \rightarrow D_{yz}$ (632 nm) CFe (Metahemoglobina)

Tabla 5.1: Transiciones electrónicas asociadas a distintas bandas de absorción en tejido cutáneo.

del comportamiento promedio de los espectros de absorción, agrupándolos según el diagnóstico correspondiente.

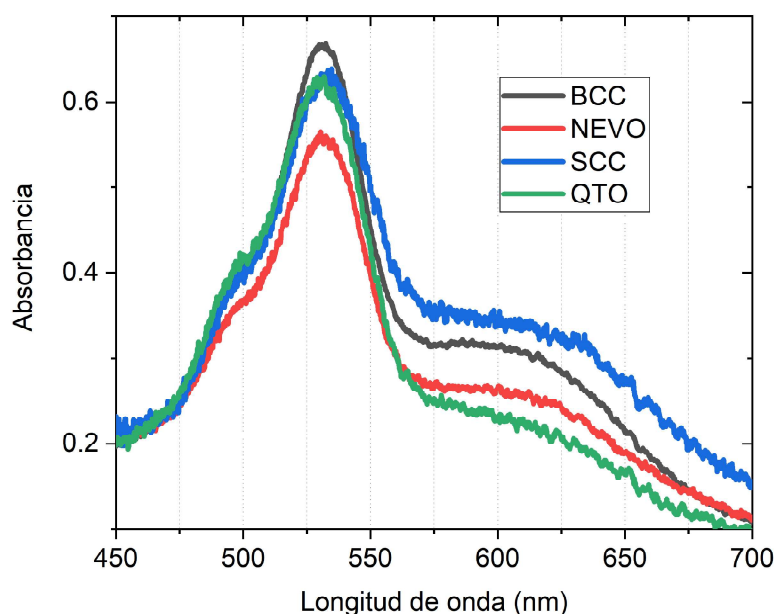


Figura 5.3: Comparación entre el espectro típico de muestras cancerosas (BCC) y muestras no cancerosas (QTO, NEVO)

La figura 5.3 muestra espectros típicos de las muestras BCC, NEVO y QTO. A partir de estos espectros, se puede observar que alrededor de los 500 nm las muestras BCC presentan una absorbancia mayor que NEVO y una absorbancia similar a QTO. Alrededor de los 532 nm, BCC presenta una absorbancia mayor que tanto NEVO como QTO. Lo mismo se observa alrededor de los 588 nm y 632 nm. Sumado a esto, las muestras medidas de SCC presentan una absorbancia similar a NEVO y QTO alrededor de los 500 nm, y una absorbancia mayor alrededor de los 532 nm, 588 nm y 632 nm.

Además, se ha realizado un análisis t-student relacionando el área bajo la curva de las bandas antes mencionadas entre dos grupos, diagnósticos cancerígenos (BCC, SCC) y diagnósticos que no son cancerígenos (NEVO, QTO). Como tal, se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la banda centrada en 588 nm ($p=0.021565$), las otras tres bandas no presentan significancia estadística.

En resumen, se puede observar una mayor absorbancia en el tejido canceroso (BCC) en comparación con el tejido no canceroso (NEVO, QTO), específicamente, en las bandas gaussianas con mayores contribuciones de oxihemoglobina y deoxihemoglobina. Esto puede atribuirse a la angiogénesis, un proceso mediante el cual los tumores crean nuevos sistemas vasculares necesarios para que las células cancerosas accedan al flujo sanguíneo y crezcan [21].

5.2. Fotoluminiscencia

Para el análisis de las medidas de fotoluminiscencia, se ha tomado en cuenta que los espectros de emisión han sido normalizados. Es decir, cada medid

En la Figura 5.4 se muestran espectros de fluorescencia típicos de muestras seleccionadas de BCC, NEVO, QTO e hiperplasia. Todos estos espectros presentan un rango de emisión comprendido entre 425 nm y 650 nm, con una mayor intensidad de emisión alrededor de los 500 nm. Este comportamiento se atribuye a la presencia de diversos fluoróforos en el tejido cutáneo, previamente mencionados.

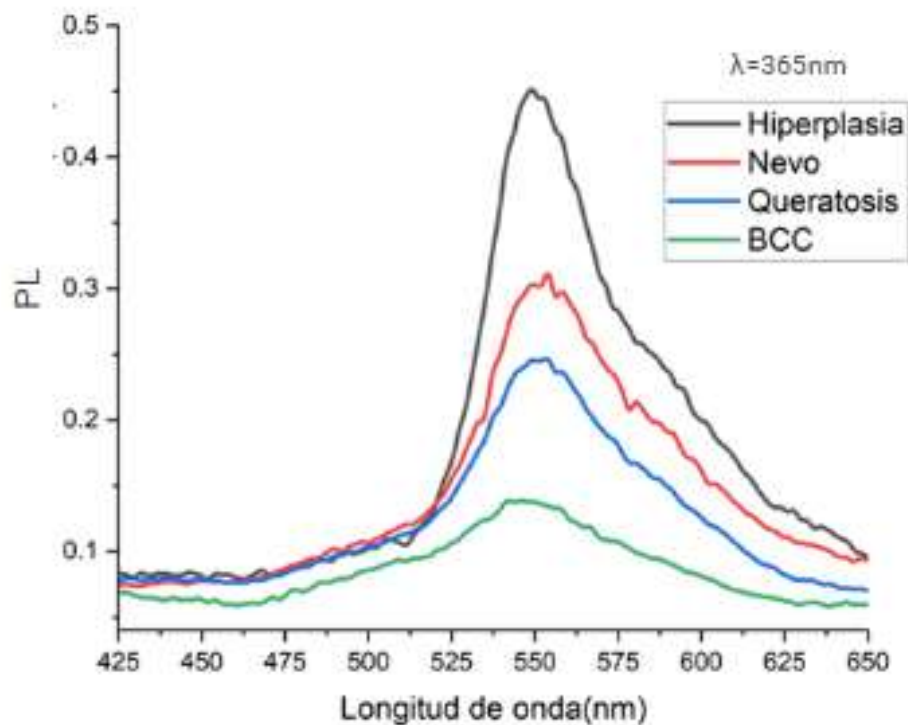


Figura 5.4: Espectro de emisión típico de muestras cancerosas (BCC) y muestras no cancerosas (QTO, NEVO, Hiperplasia)

Considerando la diversidad de fluoróforos reportados en el tejido cutáneo, resulta importante realizar una deconvolución del espectro de emisión, con el objetivo de asignar bandas gaussianas a componentes específicos. Esto permite identificar qué regiones del espectro corresponden a determinados fluoróforos. De esta forma, en la figura 5.5 se presenta la deconvolución previamente mencionada, considerando que cada banda fue asignada con base en los centros de emisión reportados en la literatura.

De manera similar al análisis realizado con los espectros de absorción, resulta relevante examinar el comportamiento promedio de los espectros de emisión asociados a cada diagnóstico específico. Con este propósito, se elaboró un promedio espectral por grupo diagnóstico, cuyos resultados se presentan

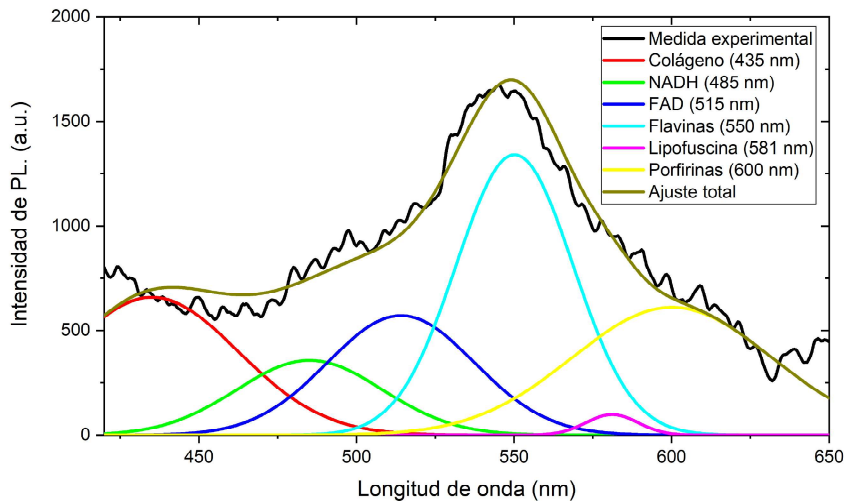


Figura 5.5: Espectro de emisión de piel, excitada a 365 nm, con seis bandas gaussianas asignadas a cada fluoróforo.

en la figura 5.6. En dicha figura se observa el comportamiento típico de las muestras cancerígenas (SCC, BCC) en comparación con las no cancerígenas (QTO, NEVO).

En primer lugar, alrededor de los 450 nm, las muestras de SCC y BCC presentan niveles de emisión similares, ambos inferiores a los observados en las muestras no cancerígenas. En el rango comprendido entre 475 nm y 525 nm, las muestras de BCC muestran una mayor emisión que las de SCC, aunque ambas siguen por debajo de QTO y NEVO. Alrededor de los 550 nm se mantiene esta tendencia: BCC y SCC presentan menor emisión en comparación con las muestras no cancerígenas. Esta diferencia persiste hasta aproximadamente los 600 nm, a partir del cual los espectros de BCC y NEVO comienzan a mostrar valores similares de emisión.

Al igual que con los espectros de absorción, se ha realizado un análisis t-student relacionando el área bajo la curva de las bandas asignadas a fluoróforos entre dos grupos, diagnósticos cancerígenos (BCC, SCC) y diagnósticos que no son cancerígenos (NEVO, QTO). Como tal, se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la banda centrada en 550 nm, asignada a

flavinas ($p=0.021565$), las otras bandas no presentan significancia estadística.

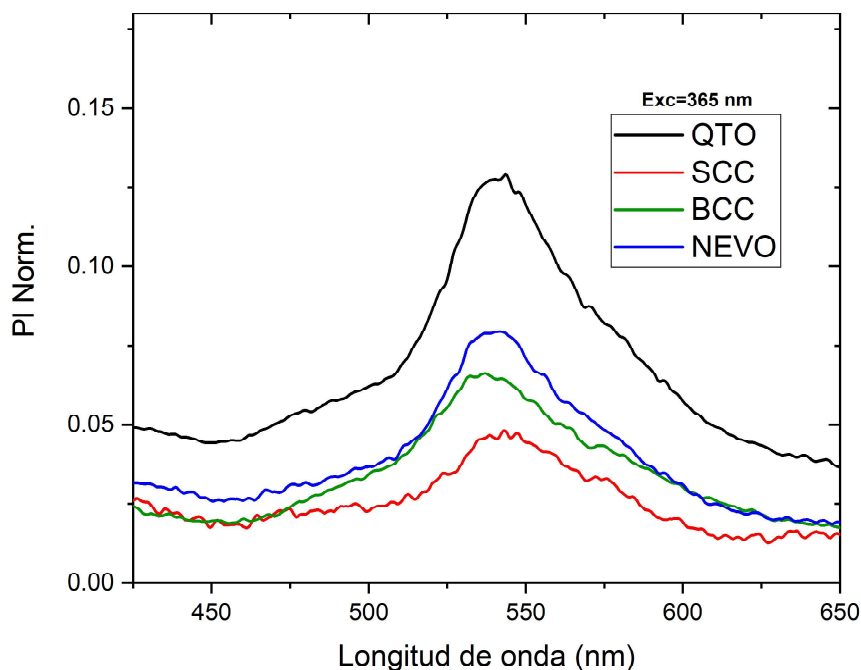


Figura 5.6: Comportamiento promedio de espectros de emisión de tejido cutáneo.

En general, el comportamiento espectral observado según los distintos diagnósticos puede asociarse a diversos procesos bioquímicos involucrados en el desarrollo de tumores cancerígenos. En primer lugar, la fluorescencia del NADH, cuya señal se presenta en el espectro alrededor de los 485 nm, disminuye durante la fosforilación oxidativa debido a su conversión en NAD⁺, una forma no fluorescente [25]. Por otro lado, la reducción en la emisión de flavinas observable alrededor de los 550 nm se ha relacionado con la inhibición de la respiración mitocondrial [26]. En particular, la disminución de la fluorescencia del FAD, con una emisión típica en torno a los 515 nm, en tejido canceroso refleja una menor actividad mitocondrial, lo cual puede interpretarse como un indicador metabólico de las alteraciones celulares asociadas al proceso tumoral [27].

5.3. Fotoluminiscencia resonante

Con el objetivo de estudiar los posibles canales de resonancia presentes en el tejido cutáneo, es fundamental conocer los rangos de absorción de las distintas moléculas fluorescentes que lo componen. Esto permite identificar cuáles de estos rangos fueron efectivamente excitados al variar la longitud de onda de excitación, y así establecer una posible relación entre la señal emitida y las especies moleculares involucradas. Para eso, se presenta en la tabla 5.2 los rangos de absorción de las moléculas presentadas en este estudio.

Molécula	Rango de absorción
Colágeno	210–240 nm
NADH	300–370 nm
FAD	350–500 nm
Flavinas	350–500 nm
Lipofuscina	300–600 nm
Porfirinas	500–650 nm

Tabla 5.2: Rangos de absorción fluoróforos presentes en tejido cutáneo.

De esta manera, se observa que moléculas como el NADH y el colágeno no pueden ser estudiadas adecuadamente dentro del rango de trabajo de este experimento (400 nm – 600 nm), ya que sus bandas de absorción se encuentran fuera de dicho intervalo. Por el contrario, en este mismo rango sí es posible excitar moléculas igualmente relevantes como el FAD y las flavinas, cuyos espectros de absorción coinciden con las longitudes de onda empleadas.

En la figura 5.7 se presentan algunos de los resultados obtenidos en las mediciones de fotoluminiscencia resonante, correspondientes al rango de excitación de 471 nm a 517 nm. En dicha figura, cada gráfico representa un par excitación-emisión. Las líneas punteadas muestran los espectros de excitación, mientras que las líneas continuas corresponden a los espectros de emisión. Se observa que, a medida que la longitud de onda de excitación aumenta, la señal de fotoluminiscencia del tejido se desplaza hacia longitudes de onda mayores, lo cual sugiere un comportamiento espectral dependiente de la excitación.

Al excitar la muestra dentro del rango de 478 a 500 nm, se observa un in-

crecimiento progresivo en la intensidad de emisión junto con un desplazamiento hacia longitudes de onda cercanas a 550 nm. Este comportamiento se explica por el solapamiento de las bandas de absorción de fluoróforos cutáneos que responden en ese intervalo, principalmente las flavinas, con absorción entre 450–490 nm, y la lipofuscina, cuya absorción se extiende hasta aproximadamente 500 nm, además de la presencia de una banda débil de absorción de porfirinas en aproximadamente 505 nm. La excitación simultánea de estos compuestos produce una contribución aditiva en esta región del espectro, lo que se refleja en el crecimiento de la banda observado al aumentar la longitud de onda de excitación dentro de ese rango. [25, 28, 29].

Para las demás longitudes de onda mencionadas en este estudio no se observaron canales de resonancia claramente definidos. Esta ausencia podría explicarse por la presencia de múltiples procesos de reabsorción, inducidos por la alta concentración y diversidad de fluoróforos presentes en el tejido cutáneo. Muchos de estos compuestos presentan rangos de absorción que se solapan entre sí, lo que dificulta la identificación de transiciones ópticas específicas asociadas a un solo fluoróforo, de acuerdo a lo reportado en otros estudios [30].

Además, algunos autores han señalado que los procesos de reabsorción dentro del tejido pueden verse significativamente influenciados por la absorción de la hemoglobina en el rango visible, la cual compite con la excitación y emisión de otras moléculas fluorescentes [31, 32]. Esta combinación de factores contribuye a la complejidad de la emisión observada en fotoluminiscencia resonante y limita la posibilidad de identificar canales de resonancia bien definidos.

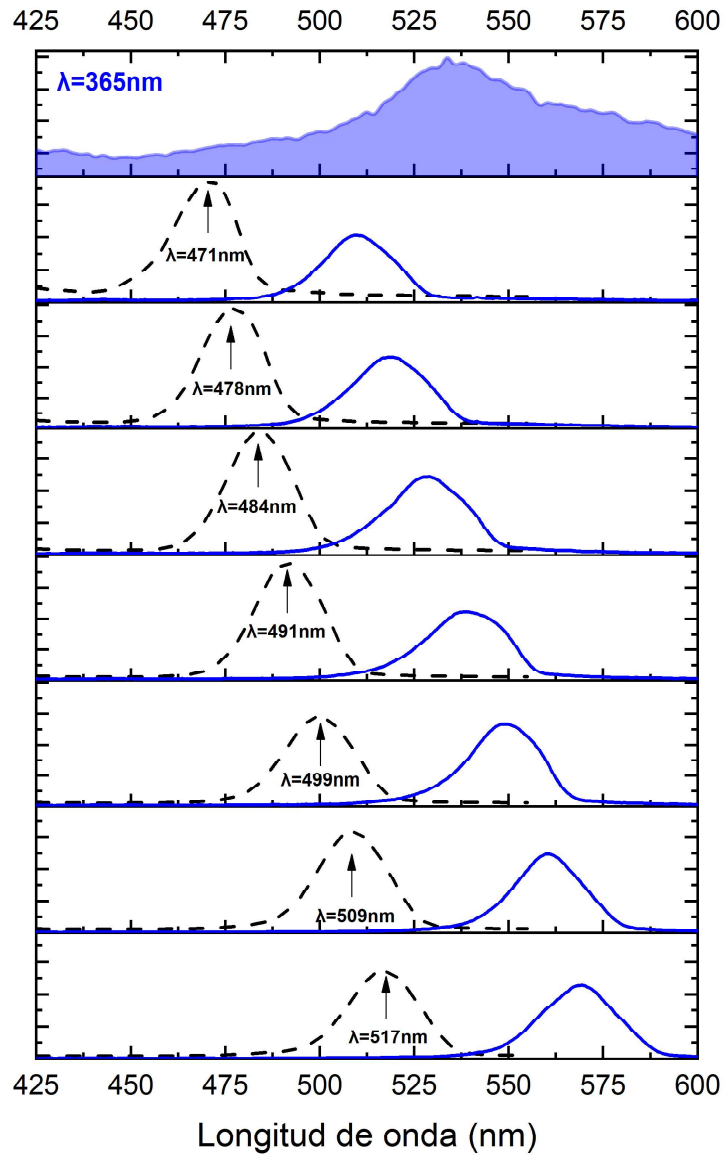


Figura 5.7: Espectros de excitación y emisión de fotoluminiscencia resonante en el rango 471 nm - 517 nm, cada línea representa un par excitación-emisión para una longitud de onda en específico. Las líneas punteadas representan excitación, las sólidas la emisión respectiva.

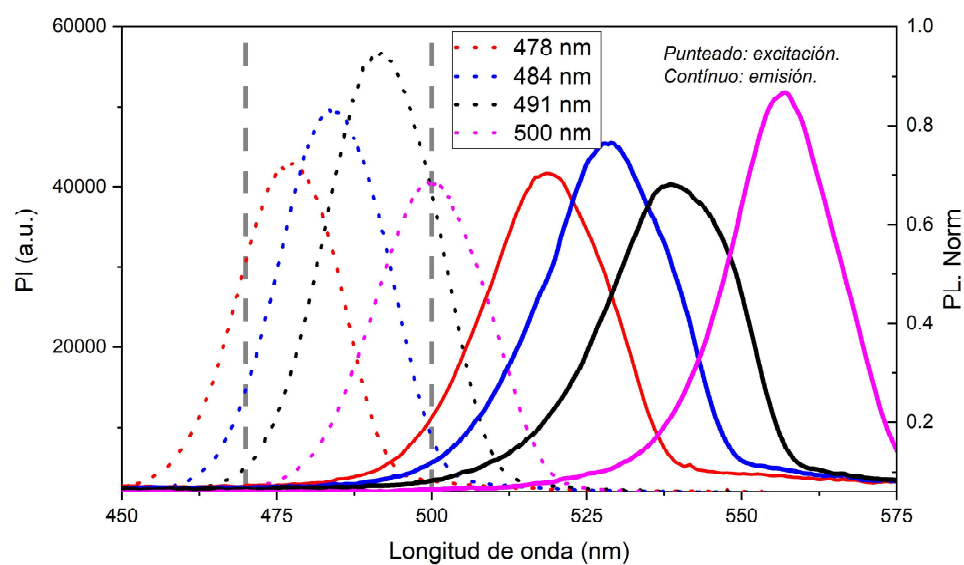


Figura 5.8: Espectros de excitación y emisión de fotoluminiscencia resonante en el rango en la zona entre 478 nm y 500 nm. Cada color representa una longitud de onda. Las líneas punteadas representan excitaciones, las continuas emisiones. Las líneas verticales cortadas representan máximos de absorción de FAD y porfirinas.

Capítulo 6

Conclusiones y recomendaciones

6.1. Conclusiones

En este trabajo se analizaron las propiedades ópticas del tejido cutáneo mediante espectroscopia de absorción, fotoluminiscencia y fotoluminiscencia resonante, con el propósito de identificar características asociadas a diagnósticos específicos de cáncer de piel.

Los espectros de absorción presentaron bandas claramente definidas alrededor de 500 nm, 532 nm, 588 nm y 632 nm, que se relacionan con transiciones electrónicas de la hemoglobina en sus diferentes estados (oxihemoglobina, deoxihemoglobina y metahemoglobina). La deconvolución espectral permitió asignar estas bandas a transiciones específicas, lo que contribuye a una mejor comprensión de los cromóforos predominantes en la piel humana. Además, se observó que las muestras cancerosas (BCC y SCC) mostraron una mayor absorbancia en las bandas asociadas a la hemoglobina, en comparación con tejidos no cancerosos (NEVO, QTO). Este incremento puede atribuirse a procesos de angiogénesis, propios del desarrollo tumoral, que generan un aumento en la vascularización y la concentración de hemoglobina.

Los espectros de fotoluminiscencia revelaron un rango de emisión entre

425 nm y 650 nm, con mayor intensidad cerca de los 500 nm, reflejando la contribución de múltiples fluoróforos presentes en el tejido. La deconvolución de estos espectros facilitó la asignación de bandas gaussianas a fluoróforos específicos, permitiendo analizar el comportamiento promedio de la emisión para distintos diagnósticos. Se encontró que las muestras cancerosas tienden a mostrar una emisión menor en la región cercana a 485 nm (asociada a NADH) y en torno a 515-550 nm (relacionada con flavinas y FAD) respecto a muestras no cancerosas, reflejadas alteraciones metabólicas asociadas a la actividad mitocondrial reducida en tejido tumoral y al estrés oxidativo.

En el estudio de la fotoluminiscencia resonante, se analizaron los rangos de resultados mostraron un desplazamiento de la emisión hacia longitudes de onda mayores a absorción de moléculas fluorescentes relevantes en el tejido cutáneo, identificando que solo algunas (como FAD y flavinas) pueden ser excitadas dentro del rango espectral empleado (400–600 nm), mientras que otras, como NADH y colágeno, presentan bandas de absorción fuera de este intervalo y por tanto no fueron adecuadamente estudiadas. Los l incrementar la longitud de onda de excitación, lo que indica una dependencia espectral de la emisión respecto a la excitación.

Sin embargo, no se detectaron canales de resonancia claramente definidos, situación atribuible a la superposición y solapamiento de los rangos de absorción de múltiples fluoróforos en la piel, así como a procesos de reabsorción afectados por la fuerte absorción de la hemoglobina en el rango visible. Estas interacciones dificultan la identificación de transiciones ópticas específicas y limitan el análisis de resonancias claras en las mediciones.

Estos hallazgos muestran la utilidad de las técnicas espectroscópicas como herramientas complementarias para el estudio de enfermedades como el cáncer de piel, así como su posible uso en métodos de diagnóstico alternativos.

6.2. Recomendaciones

- **Realizar estudios adicionales de fotoluminiscencia resonante en el rango UV:** Extender las mediciones de RPL al intervalo de 200–400 nm permitiría analizar el comportamiento de la emisión en regiones donde se espera una mayor contribución de fluoróforos como colágeno y NADH, aportando información complementaria sobre los procesos ópticos involucrados.
- **Ampliar la diversidad y caracterización clínica de las muestras:** Incorporar más muestras de distintos tipos de lesiones cutáneas (por ejemplo, nevos melanocíticos, queratosis actínicas, melanomas) y considerar factores como edad, fototipo o localización anatómica de la lesión, permitiría establecer relaciones espectrales más específicas y potencialmente útiles para aplicaciones diagnósticas.
- **Realizar simulaciones computacionales mediante DFT:** Se recomienda desarrollar estudios basados en teoría del funcional de la densidad (DFT), que simulen los espectros de absorción y emisión de combinaciones moleculares (como NADH, FAD, flavinas y colágeno). Esto permitiría predecir fenómenos de solapamiento y contribuir al entendimiento teórico de los resultados experimentales.
- **Relacionar la información espectral con parámetros clínicos o histopatológicos:** Integrar los datos ópticos obtenidos con diagnósticos médicos o análisis histológicos podría validar el uso de espectroscopía como herramienta complementaria para la identificación no invasiva de patologías cutáneas.

Bibliografía

- [1] D. Didona, G. Paolino, U. Bottoni y C. Cantisani, *Biomedicines* **6**, [10.3390/biomedicines6010006](#) (2018).
- [2] K. Morales-Duarte y R. Leal, *Alerta* **3**, [10.5377/alerta.v3i1.8684](#) (2020).
- [3] L. Brancaleon, A. Durkin, G. Menaker, J. Fallon y N. Kollias, *Photochem. Photobiol.* **73**, [10.1562/0031-8655\(2001\)0730178IVFSO2.0.CO2](#) (2001).
- [4] F. Figueras, *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **31**, [10.1111/jdv.14151](#) (2017).
- [5] M. Alieva, J. van Rheenen y M. Broekman, *Clin. Exp. Metastasis* **35**, [10.1007/s10585-018-9896-8](#) (2018).
- [6] E. Borisova, L. Angelova y E. P. Pavlova, *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.* **20**, [10.1109/JSTQE.2013.2280503](#) (2014).
- [7] A. M. Ferreira Lima, C. R. Daniel, R. S. Navarro, B. Bodanese, C. A. Pasqualucci, M. T. Tavares Pacheco, R. A. Zangaro y L. Silveira, *Vib. Spectrosc.* **100**, [10.1016/j.vibspec.2018.11.009](#) (2019).
- [8] H. Takiwaki, Y. Miyaoka y S. Arase, *Skin Res. Technol.* **10**, [10.1111/j.1600-0846.2004.00063.x](#) (2004).
- [9] E. Salomatina, B. Jiang, J. Novak y A. Yaroskavsky, *J. Biomed. Opt.* **11**, [10.1117/1.2398928](#) (2006).
- [10] Y. Fernandez-Ramirez, W. Hoyos y C. Rudamas, *Rev. Cubana Fis.* **36** (2019).
- [11] B. Valeur y M. N. Berberan-Santos, *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*, 2.^a ed. (Wiley-VCH, Weinheim, 2013).

- [12] J. Castro Ramos, A. Villanueva Luna y C. Ortiz Lima, *Opt. Pura Apl.* **46**, 83 (2013).
- [13] A. Schechter, *Blood* **112**, 10.1182/blood-2008-04-078188 (2008).
- [14] M. Gooz y E. N. Maldonado, *Front. Oncol.* **13**, 1152553 (2023).
- [15] O. Falklöf, «Computational Studies of Photobiological Keto-Enol Reactions and Chromophores», Tesis doctoral (Linköping University, 2015).
- [16] R. Esposito, I. Delfino y M. Lepore, *J. Fluoresc.* **23**, 993 (2013).
- [17] S. Banerjee y P. J. Sadler, *Int. J. Mol. Sci.* (2020).
- [18] M. Burgués Calderón y R. Llamas Martín, *Más Dermatología* **14**, 5 (2011).
- [19] G. Mikhail y A. Mehregan, *J. Am. Acad. Dermatol.* **6**, 10.1016/S0190-9622(82)70042-8 (1982).
- [20] M. Ozturk, E. Okut y Z. Ilik, *Dermatol. Rev.* **107**, 10.5114/dr.2020.99884 (2020).
- [21] R. Lugano, M. Mamachandran y A. Dimberg, *Cell. Mol. Life Sci.* **77**, 10.1007/s00018-019-03351-7 (2020).
- [22] J. E. Klaunig, *Curr. Pharm. Des.* **24**, 4771 (2018).
- [23] N. Ramanujam, J. L. McGinty, K. J. Nichols y B. W. Pogue, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **106**, 8086 (2009).
- [24] V. Volkov, J. McMaster, J. Aizenberg y C. C. Perry, *Chem. Sci.* **13**, 10.1039/D1SC05764B (2022).
- [25] T. S. Blacker y M. R. Duchon, *Free Radic. Biol. Med.* **100**, 53 (2016).
- [26] D. K. Bird, L. Yan, K. M. Vrotsos, K. W. Eliceiri, E. M. Vaughan, P. J. Keely, J. G. White y N. Ramanujam, *Biomed. Opt. Express* **1**, 26 (2005).
- [27] C. Stringari, R. Sierra, P. J. Donovan y E. Gratton, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **109**, 8374 (2012).
- [28] A. Delpuech et al., *Biomed. Opt. Express* **10**, 650 (2019).
- [29] A. C. Croce y G. Bottiroli, *Eur. J. Histochem.* **58**, 2461 (2014).
- [30] N. Ramanujam, *Neoplasia* **2**, 89 (2000).
- [31] R. Richards-Kortum y E. Sevick-Muraca, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **47**, 555 (1996).

- [32] O. Hamdy, Z. Abdel-Salam y M. Abdel-Harith, *Diagnostics* **12**, 2846 (2022).
- [33] A. Fuchs y E. Marmour, *Dermatol. Surg.* **33**, 10.1111/j.1524-4725.2007.33224.x (2007).
- [34] V. Samarasinghe y V. Madan, *J. Cutaneous Aesthet. Surg.* **5**, 10.4103/0974-2077.94323 (2012).
- [35] A. Spreinat, G. Selvaggio, L. Erpenbeck y S. Kruss, *J. Biophotonics* **13**, 10.1002/jbio.201960080 (2020).
- [36] W. G. Zijlstra y A. Buursma, *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* **118**, 10.1016/S0305-0491(97)00230-7 (1997).
- [37] M. Ciazynska, G. Kaminska-Winciorek, D. Lange, B. Lewandowski, A. Reich et al., *Sci. Rep.* **11**, 10.1038/s41598-021-83502-8 (2021).
- [38] M. Tang, Y. Zhou, R. Zhang y L. V. Wang, *J. Biomed. Opt.* **20**, 10.1117/1.JBO.20.3.036007 (2015).
- [39] H. Mairböurl y R. E. Weber, en *Comprehensive Physiology* (John Wiley & Sons, Ltd, 2012), págs. 1463-1489.
- [40] O. I. Kolenc y K. P. Quinn, *Antioxid. Redox Signal.* **30**, 875 (2019).
- [41] V. T. C. Chang, P. S. Cartwright, S. M. Bean, G. M. Palmer, R. C. Bentley y N. Ramanujam, *Neoplasia* **11**, 325 (2009).
- [42] E. Burgos-Morón, Z. Abad-Jiménez, A. Martínez de Marañón, F. Iannantuoni et al., *J. Clin. Med.* **8**, 10.3390/jcm8091385 (2019).
- [43] M. Skala, M. Riching, A. Gendron-Fitzpatrick, J. Eickhoff, K. Eliceiri, J. White et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104**, 19494 (2007).