

Caracterización de la morfología de imágenes de matrices poliméricas porosas para Ingeniería de Tejidos

Gonzalez M. A.^{1,3}, Montini Ballarin F.^{2,3}, Brun M.¹, Abraham G.^{2,3} y Ballarin V.¹

¹Lab. de Procesos y Medición de Señales, Facultad de Ingeniería UNMdP
²Grupo Polímeros Biomédicos, INTEMA (UNMdP-CONICET) Mar del Plata
³CONICET

Resumen

El diseño de matrices poliméricas altamente porosas para su aplicación en ingeniería de tejidos se ha focalizado en la obtención de materiales con un conjunto propiedades adecuadas para promover una respuesta biológica específica para cada tipo de célula, tejido y aplicación. Es por ello que la caracterización y cuantificación de las propiedades morfológicas de estos andamios poliméricos resultan necesarias para su correlación con las propiedades mecánicas y/o biológicas.

Este trabajo propone el uso de la función granulométrica de tamaños, obtenida a partir las imágenes, para desarrollar algoritmos que asistan a los especialistas en la caracterización de la forma, el tamaño, la densidad de ocupación y la orientación de los soportes. Los resultados muestran que el análisis de los momentos de esta función permite realizar una muy buena caracterización de las imágenes.

Palabras Clave Procesamiento Digital de Imágenes, Morfología Matemática, Ingeniería de Tejidos, Polímeros Biomédicos.

Introducción

La ingeniería de tejidos constituye actualmente una de las áreas de investigación multi e interdisciplinarias más atractivas. Entre otros componentes fundamentales, la ingeniería de tejidos requiere biomateriales específicos, tales como andamiajes o matrices extracelulares artificiales altamente porosas, con capacidad para estimular las funciones celulares de adhesión, migración, crecimiento, diferenciación y organización de tejidos [1]. Los factores que gobiernan las propiedades de las matrices son complejos e incluyen la composición química, arquitectura espacial, propiedades mecánicas y superficiales, degradación y composición de los componentes biológicos y el cambio de estos factores con el tiempo. Las matrices deben proporcionar inicialmente propiedades mecánicas adecuadas para sustituir la función mecánicas del tejido dañado. Además la arquitectura de la matriz tiene que permitir la fijación celular y posterior migración dentro de la matriz, transferencia de masa de metabolitos y suficiente espacio para el desarrollo de un sistema de vascularización y remodelación de la matriz de tejido organizado.

Por lo tanto, la caracterización y cuantificación de la microestructura porosa interna de matriz polimérica, la relación área superficial/volumen, la distribución espacial, el grado de interconectividad y otras propiedades morfológicas de los andamios poliméricos resulta de importancia para la interpretación de la respuesta biológica *in vitro* e *in vivo* del tejido en crecimiento.

Convencionalmente, el análisis de formas se realiza a partir de imágenes binarias. Se utilizan indicadores que miden el área de objeto, su perímetro, el radio de un círculo con igual área, factor de redondez, entropía, la curvatura, el esqueleto. Sin embargo, la

variabilidad de las características de las imágenes biomédicas en niveles de gris muchas veces impide obtener una imagen binaria con figuras que se correspondan con los objetos de interés de cada tipo de imagen [2]-[4]. A diferencia de las técnicas estándar, las técnicas morfológicas están basadas en conceptos de geometría, álgebra, topología y teoría de conjuntos, con el fin de caracterizar propiedades estructurales en imágenes [5]-[10]. La idea central de estas técnicas es examinar las estructuras geométricas en una imagen por superposición con pequeños patrones localizados cuya forma depende de las formas de los componentes de las imágenes y de la información que se desee obtener a partir de las imágenes. La morfología matemática proporciona soluciones satisfactorias para el análisis de formas. De todas las técnicas de análisis que posee la morfología matemática, la herramienta más adecuada para discriminar las formas y la estadística de su presencia en las imágenes, tanto binarias como en niveles de gris, es la función granulométrica de tamaños [11]-[13].

El objetivo de este trabajo consiste en el desarrollo de algoritmos que permitan realizar una correcta caracterización y cuantificación de la forma, inclinación y tamaño de los componentes biológicos; así como también de la distribución y estadística de estas características en las diferentes imágenes [14]-[16].

En esta etapa preliminar, se propone el cálculo de la función granulométrica de tamaños directamente a las imágenes en niveles de gris con elementos estructurantes de diversas formas y tamaños y el posterior análisis de sus parámetros con el fin de obtener características que permitan caracterizar las imágenes de acuerdo al número, forma y orientación de los componentes de las imágenes. Esta técnica fue aplicada a otros campos de estudios obteniendo resultados sumamente satisfactorios [17],[18].

Elementos del Trabajo y Metodología

1- Materiales

Para realizar este estudio se procesaron 136 imágenes de matrices poliméricas de poli(ácido L-láctico) (PLA2002D Natureworks) obtenidas a partir de la técnica de electrospinning. La técnica de electrospinning resulta muy versátil y atractiva para la preparación de matrices con morfología nanofibrosa y ofrece una oportunidad para manipular y controlar el área superficial, diámetro de fibra, porosidad y tamaño de poro de las matrices preparadas (ver Fig. 1). Se obtuvieron distintas morfologías variando las propiedades intrínsecas de la solución polimérica (solvente DMF:MC = 75:25 y 60:40; concentración, C (% m/V) = 15, 10) y los parámetros del procesamiento (tensión aplicada, V (kV) = 10, 12, 15; distancia aguja – placa colectora, d (cm) = 10, 12, 15; velocidad de flujo de la solución, f (mL/h) = 1, 2). La evaluación de la microestructura de los distintos materiales obtenidos variando la composición y los parámetros de procesamiento se llevó a cabo mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) (JEOL Modelo JSM-6460LV, Laboratorio de Microscopía, UNMdP).

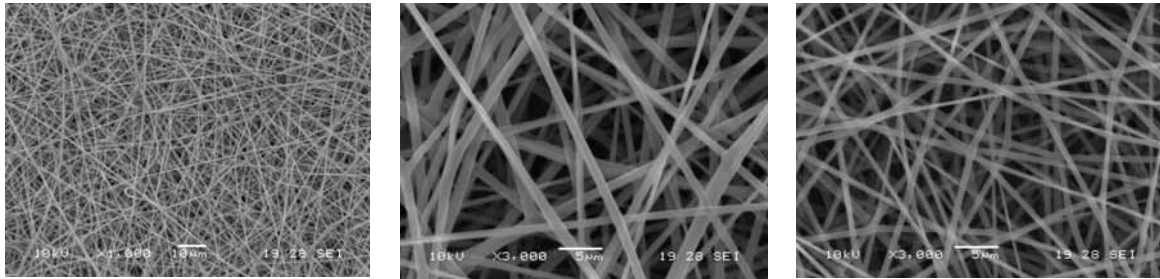


Figura 1: Micrografías de SEM de matrices poliméricas obtenidas con la técnica de electrospinning (Magnificación: 1000X y 3000X).

2- *Morfología Matemática aplicada a imágenes binarias*

En esta sección se describen los diferentes operadores utilizados para procesar las imágenes. Como se mencionó en la introducción, se utilizará la morfología matemática por presentar resultados satisfactorios en este tipo de análisis. Las operaciones básicas de la morfología binaria son la erosión y dilatación. Estas operaciones comparan subconjuntos de la imagen binaria con un elemento patrón denominado elemento estructurante. El elemento estructurante es trasladado recorriendo de esta manera la imagen completa [4]-[9].

Formalmente, la erosión de un conjunto A por un elemento estructurante E se define como:

$$A \ominus E(x) = \{x \in A : E_x \subset A\} \quad (1)$$

donde E_x representa la traslación del conjunto E en x . El resultado de la erosión es una imagen binaria, donde los pixeles son blancos si el elemento estructurante queda incluido dentro del subconjunto de la imagen analizada y negros en caso contrario.

Análogamente, la dilatación de A por el elemento estructurante E se define como:

$$A \oplus E(x) = \{x \in A : E_x \cap A \neq \emptyset\} \quad (2)$$

En la dilatación se asigna un píxel blanco si existe al menos un píxel de intersección entre el subconjunto de la imagen original y el elemento estructurante desplazado y un píxel negro cuando la intersección es vacía. La dilatación es una operación de expansión mientras que la erosión es una operación de contracción.

A partir de estas operaciones básicas se definen nuevos operadores morfológicos. Por ejemplo la apertura se define como la erosión seguida de una dilatación, esto es:

$$A \circ E(x) = (A \ominus E) \oplus E \quad (3)$$

La cerradura se define como la dilatación seguida de una erosión, esto es:

$$A \bullet E(x) = (A \oplus E) \ominus E \quad (4)$$

A partir de estos operadores se define la granulometría, que es una herramienta que proporciona la morfología matemática, para la caracterización de formas y tamaños de los

objetos presentes en una imagen. Dada la familia Ω que surge de la aplicación de sucesivas aperturas con elementos estructurantes de tamaños crecientes, se define con el nombre de función de distribución granulométrica de tamaños a:

$$G(\lambda) = 1 - \frac{\Omega(A \circ E_\lambda)}{\Omega(A)} \quad (5)$$

Donde Ω es una medida de la imagen resultante que para el caso de las imágenes binarias resulta ser el área.

3- *Morfología Matemática aplicada a imágenes en niveles de gris*

Al igual que en la morfología matemática para imágenes binarias, las operaciones morfológicas básicas para imágenes en niveles de gris son la erosión y la dilatación [8]-[10].

Dadas dos imágenes f , g se define la erosión de la imagen f por el elemento estructurante g como:

$$f \ominus g(s, t) = \min_{\substack{(x, y) \in Dg \\ (s+x, t+y) \in Df}} \{f(s+x, t+y) - g(x, y)\} \quad (6)$$

Para cada píxel de la imagen, la operación erosión se define como la diferencia mínima entre las intensidades del elemento estructurante desplazado y las intensidades correspondientes de la imagen original.

Análogamente, la dilatación de la imagen f por el elemento estructurante g se define como:

$$f \oplus g(s, t) = \max_{\substack{(x, y) \in Dg \\ (s-x, t-y) \in Df}} \{f(s-x, t-y) + g(x, y)\} \quad (7)$$

La dilatación de cada píxel de la imagen se define como el máximo valor de la suma entre las intensidades del subconjunto de la imagen original y las intensidades correspondientes del elemento estructurante.

El operador apertura y la granulometría para imágenes en niveles de gris se definen de manera análoga a los operadores binarios [14]-[15].

Para determinar la granulometría se realizan aperturas sucesivas a la imagen original con elementos estructurantes crecientes. Luego se calcula una medida para cada apertura realizada que, para el caso de las imágenes en grises, es el volumen resultante luego de aplicar la operación. Este resultado es normalizado respecto a la imagen original. La siguiente ecuación describe esta función.

$$G(\lambda) = 1 - \frac{\Omega(A \circ E_\lambda)}{\Omega(A)} \quad (8)$$

Una vez calculada la función granulométrica de tamaños, que es en realidad una función de distribución de probabilidad, se calcularon el valor medio, el desvío estándar y la energía de esta función. Estos valores se utilizaron como estadísticos de las imágenes.

Con el objetivo de obtener una función invariante con el brillo de la imagen, se calculó una Función Granulométrica de Tamaños Normalizada (FGTN) (ver Ec. 9). Esta función normaliza la granulometría utilizando el volumen determinado con el mayor elemento estructurante (E_N). Derivando esta función se puede obtener una función de densidad de probabilidades, donde su valor máximo indicará el elemento estructurante más encontrado. En estas imágenes este dato puede no ajustarse a los elementos buscados debido al gran número de componentes irrelevantes que normalmente existen en la imagen, es por ello que se debe analizar la estadística de la función completa a fin de tener datos más exactos para realizar la posterior cuantificación.

$$G(\lambda) = 1 - \frac{\Omega(A \circ E_\lambda) - \Omega(A \circ E_N)}{\Omega(A) - \Omega(A \circ E_N)} \quad (9)$$

4- *Diferentes etapas del procesamiento de las imágenes*

- Paso 1: Se aplicó a las imágenes de prueba un filtro mediana con una ventana de 3x3 para eliminar el ruido presente en ellas.
- Paso 2: Se determinó la Función Granulométrica de Tamaños Normalizada (FGTN) para la imagen en niveles de gris completa, sin binarizar, para obtener una función de distribución de probabilidades normalizada e invariante ante posibles cambios en el brillo (iluminación) de las imágenes. Esta función se determinó para diferentes elementos estructurantes dependiendo de los objetos de interés. Se le aplicaron elementos cuadrados, redondos y lineales con inclinación de 0° a 180° de a 10°. Estos elementos se eligieron debido a que se corresponden con las formas de las nanofibras.
- Paso 3: Se obtuvieron los primeros tres momentos de la FGTN (valor medio, desvío estándar y entropía). Estos momentos son los característicos de las formas presentes en la imagen.
- Paso 4: Finalmente, se analizó la variación de estos momentos para las distintas características morfológicas de las imágenes. Las características evaluadas en este trabajo fueron el grado de ocupación, la inclinación, la distribución espacial y grosor de los polímeros. Para validar este análisis, se determinaron las características morfológicas con ayuda del experto y de manera manual y posteriormente se las comparó con los momentos obtenidos a partir de la FGTN.

Resultados

A- Elección de la resolución de las imágenes.

Se determinó la FGTN y sus respectivos momentos para 82 imágenes de matrices adquiridas con magnificación 3000X. Los momentos calculados no mostraron una relación directa con las diversas características morfológicas de los soportes.

Por otro lado, se procesaron 54 imágenes de diversas matrices adquiridas utilizando una magnificación de 1000X. En estas imágenes los momentos caracterizaron fielmente diversos parámetros y posteriormente contribuyeron en la caracterización de la morfología

de las matrices. A continuación se muestran solamente los resultados obtenidos con magnificación 1000X.

B- Definición de los parámetros de la FGTN.

Uno de los parámetros que es necesario definir para calcular la FGTN es el tamaño máximo del elemento estructurante que se utiliza para realizar las aperturas morfológicas. La definición de este parámetro debe tener en cuenta tanto el costo computacional del algoritmo que la utiliza, como que los momentos de la FGTN puedan realizar una buena caracterización de la morfología de las imágenes. Para definirlo se determinó la FGTN para un tamaño final, N , utilizando diferentes valores. En primer lugar se utilizaron valores de N fijos y en segundo lugar valores de N variables respecto de las dimensiones de la imagen. Un tamaño final, N , fijo, no permitió comparar satisfactoriamente las distintas morfologías de las imágenes, posiblemente debido a que muchas veces el tamaño de las imágenes varía. Por otro lado, cuando se utilizaron valores de N dependientes de las dimensiones de la imagen pero de magnitud mucho menor que los tamaños de las nanofibras, los momentos resultantes no reflejaron las diferentes morfologías. De todos los demás valores propuestos para N , que permitieron una correcta caracterización de la morfología, se eligió el menor N , con el fin de disminuir el costo computacional. El valor elegido fue la cuarta parte del alto de la imagen.

Para determinar la FGTN también hay que definir un método que permita evitar que el borde de las imágenes de lugar a FGTN erróneas o no representativas de las diferentes imágenes. Esto se debe a que en los píxeles del borde de la imagen no se pueden determinar los diferentes operadores morfológicos, ya que el elemento estructurante en estos píxeles queda fuera de las dimensiones de las imágenes. En consecuencia es necesario definir que se hace en esta situación. Una de las técnicas para evitarlo es extender la imagen original. Para extenderla se puede reflejar o copiar el borde de la imagen. Como las nanofibras están orientados esto da lugar a orientaciones no existentes, y como la orientación es una característica a cuantificar, no se puede utilizar esta técnica. También es posible colocar 255 cuando se erosiona la imagen y 0 cuando se la dilata. Este método tiene la ventaja, que los valores de los píxeles del borde agregados a la imagen no influyen en el cálculo de la apertura. Esta última técnica fue la elegida obteniendo muy buenos resultados.

Por otro lado, todos los momentos obtenidos utilizando el elemento cuadrado no permitieron obtener ninguna característica morfológica. Tampoco el desvío estándar y la energía presentaron variaciones significativas en las imágenes de prueba analizadas, y es por ellos que no fueron de utilizada en el análisis de este trabajo y con este tipo de imágenes.

C- Variación del grado de ocupación con los momentos de la FGTN.

La magnitud del valor medio de la FGTN está relacionada analíticamente con la presencia de los objetos de interés, que en este caso son nanofibras poliméricas, es decir que se relaciona con el grado de ocupación de la imagen.

Para comparar estas características, se obtuvo una imagen binaria con la ayuda del experto y se determinó a partir de ella el área y el grado de ocupación. Por otro lado se

determinó el menor valor medio mínimo y el valor medio promedio encontrado para cada imagen utilizando elementos estructurantes lineales en las 18 direcciones propuestas.

La Fig. 2 muestra la relación entre el valor medio lineal mínimo y el valor medio lineal promedio determinados utilizando el algoritmo propuesto para algunas imágenes y el grado de ocupación de las nanofibras presentes en cada imagen, definido previamente con la asistencia del experto. Como se puede observar en la figura, el valor medio disminuyó con el grado de ocupación y esta relación es lineal solo para el promedio de los valores medios determinados en todas las direcciones. El análisis de las imágenes mostró que la FGTN presentó este comportamiento en todas las imágenes procesadas. En una etapa posterior, se podría utilizar esta información para determinar la ocupación directamente con los momentos de la FGTN.

La Fig. 3 muestra los valores medios correspondientes imágenes con pocas nanofibras y otras como mayor cantidad. En esta figura también se puede observar que a mayor porcentaje de ocupación menor valor medio de la FGTN. La Fig. 4 muestra las imágenes correspondientes al grafico de la Fig. 3.

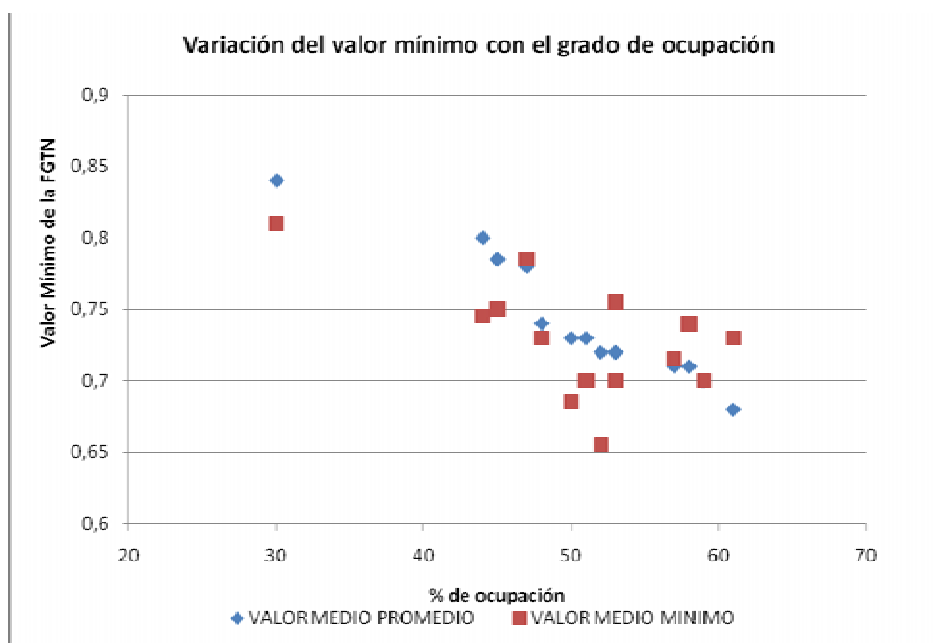


Figura 2: Variación del valor medio respecto del grado de ocupación de las nanofibras

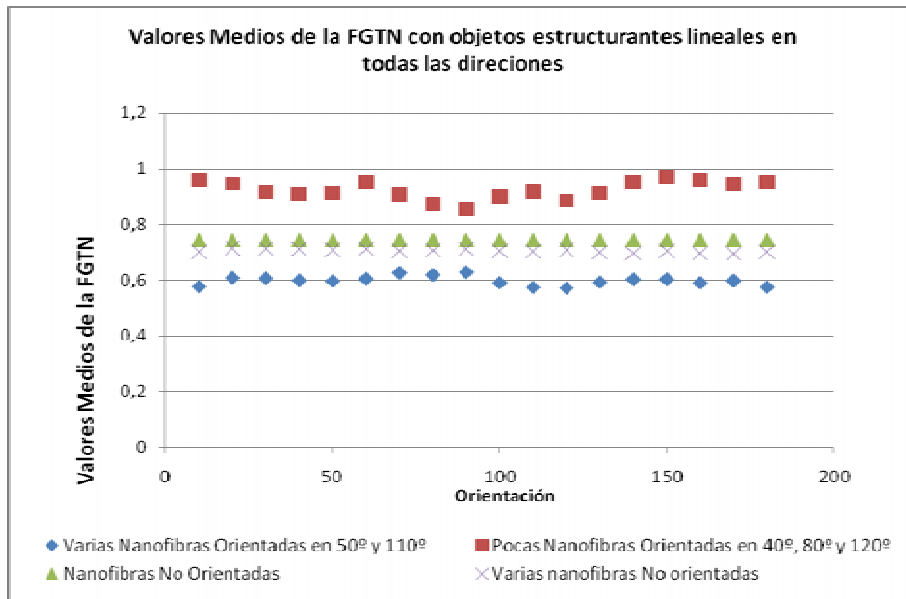


Figura 3: Variación del valor mínimo respecto de las diferentes orientaciones de las nanofibras poliméricas

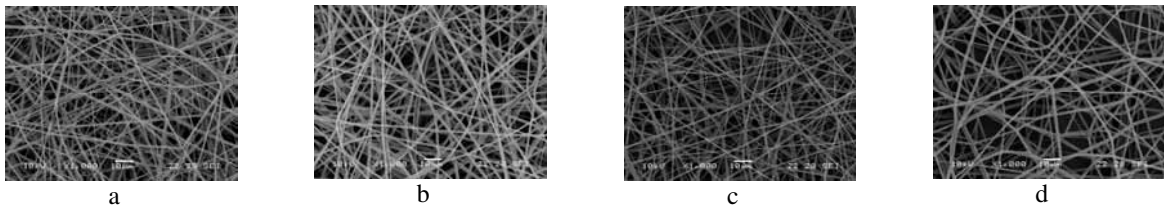


Figura 4: Micrografías SEM correspondientes al gráfico de la figura 3: a) varias nanofibras no orientadas preferencialmente, b) varias fibras orientadas a 50° y 110°, c) pocas fibras orientadas en 40°, 80° y 120°, d) pocas fibras no orientadas.

D- Variación del Valor Medio respecto de la variabilidad de las orientaciones presentes en las imágenes.

Cada orientación da lugar a una FGTN y en consecuencia a cada una de ellas le corresponde un valor medio mínimo. A partir de los momentos analizados se observó que en muestras donde se observaban nanofibras ubicadas en todas las direcciones los valores medios determinados para cada dirección no variaban en magnitud. Por otro lado cuando se observaban solo algunas orientaciones, los valores mínimos, de la FGTN determinada para cada orientación, variaban significativamente.

La Fig. 3 muestra ambos casos. En esta imagen se puede observar que la variación del valor medio para casos donde hay nanofibras en todas las orientaciones es mínima. Por otro lado, cuando existen solo algunas orientaciones predominantes, los menores valores mínimos se corresponden con las orientaciones predominantes y dan lugar a más de un valor medio mínimo o mínimos locales. Este comportamiento se observó para las demás imágenes de prueba.

Además las orientaciones que se correspondían con el valor medio mínimo eran efectivamente las orientaciones predominantes en la imagen.

En la Tabla 1 se muestra la relación entre lo calificado por el experto y los valores medios obtenidos.

En resumen, para las imágenes de prueba analizadas, podemos decir que la FGTN puede determinar en cierto grado si las membranas poseen nanofibras orientadas en alguna dirección y cuál es esta dirección y también si no existe una dirección predominante.

Tabla 1: Variación del Valor Medio respecto de la variación de las orientaciones de las nanofibras

Variabilidad de las orientaciones	Valor Medio Lineal Máximo - Valor Medio Lineal Mínimo
Muy Poca	0,8
Poca	0,5
Moderada	0,4
Alta	0,3
Muy alta	0,2
Muy Alta	0,1

E- Variación de los momentos de la FGTN respecto de la variabilidad del grosor de los polímeros.

El diámetro de las nanofibras y la variabilidad de las mismas resultaron estar relacionados con los momentos de la FGTN determinados con un elemento estructurante redondo. Los valores medios de la FGTN de mayor magnitud se correspondieron con nanofibras de menor diámetro, a su vez, nanofibras de mayor diámetro resultaron en valores medios de menor valor. La Fig. 5 muestra esta variación gráficamente.

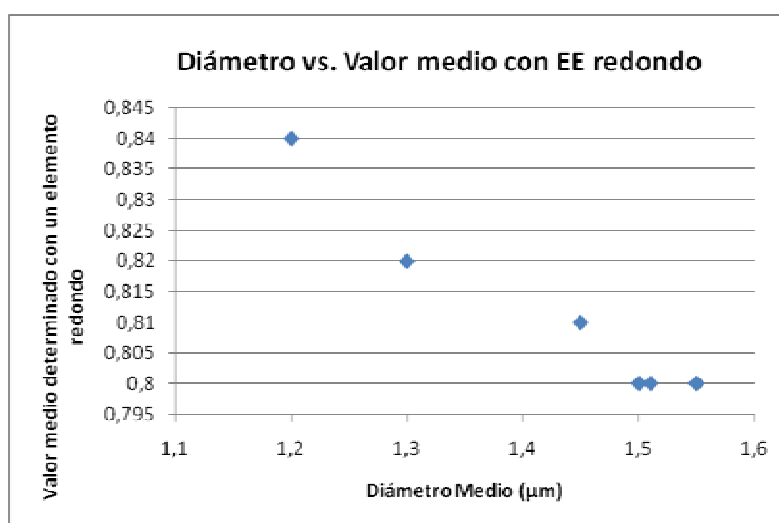


Figura 5: Valor medio de la FGTN determinado con un elemento estructurante redondo vs. el diámetro promedio de las nanofibras poliméricas.

Discusión

Uno de los motivos posibles para que no haya resultado satisfactorio en la determinación de la FGTN por la caracterización de las imágenes adquiridas con una magnificación de 3000X es que solo se pueden observar en estas imágenes pocas nanofibras, en algunos casos esta morfología no es representativa de las muestras de las matrices en general. También sucede que esta función permite discriminar mejor la morfología de fibras más finas debido a que el grosor no es un parámetro que se varió para definir los diversos elementos estructurantes lineales utilizados. A diferencia, en las imágenes adquiridas con una magnificación de 1000X se pudo observar un gran número de nanofibras que representan la morfología de la muestra completa.

Sin embargo, una vez elegidos los parámetros adecuados, la FGTN pudo caracterizar correctamente la morfología de las nanofibras presentes en las imágenes de prueba analizadas. El grado de ocupación, la orientación y el diámetro de las nanofibras se pudo caracterizar mediante el algoritmo propuesto. Una de sus principales ventajas que presenta este algoritmo es que no es necesario binarizar la imagen. Además, la FGTN tiene la ventaja de que brinda características no solo de la morfología de las nanofibras, sino también de su estadística.

En una siguiente etapa de este trabajo se continuará validando los resultados utilizando la resolución y los parámetros que son los que produjeron los mejores resultados.

A partir de este trabajo preliminar, teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se trabajará en el desarrollo de un software que cuantifique automáticamente las características morfológicas para este tipo de imágenes. Este software sería de gran ayuda para los especialistas en matrices poliméricas fibrosas los cuales realizan una determinación manual de estas características y también le permitirán evaluar las diferentes morfologías con otras medidas de las formas de las fibras.

Referencias

- [1] Abraham, G.A., Caracciolo, P.C., Buffa, F., Cuadrado, T.R., "Diseño y Preparación de Matrices Poliméricas Porosas para Ingeniería de Tejidos Biológicos". Anales de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 59, 115-130, 2007.
- [2] Glasbey, C. A. y Horgan G. W., Image analysis for the biological science, Statistics in Practice, Series Editor Vic Barnett., John Wiley and Sons, 1994.
- [3] González, R y Woods, R., Tratamiento Digital de imágenes, Addison Wesley, 1996.
- [4] Castleman K. R., Digital Image Processing, Prentice Hall, 1979.
- [5] Facon, J., Morfología Matemática. Teoría y ejemplos, Curitiba Brasil, CITS, 1996.
- [6] Serra, J., Image Analysis and Mathematical Morphology, Academic Press, London, 1982.
- [7] Serra, J., Image Analysis and Mathematical Morphology- Part II: Theoretical Advances., Academic Press, London, 1988.
- [8] Serra J. Image analysis and Mathematical Morphology, Academic Press, 1992.
- [9] Dougherty, E. R. y Astola J., An introduction to nonlinear image processing, Tutorial Texts in optical engineering, vol. TT16, 1994.
- [10] Marshall, S. y Sicuranza G., Advances in nonlinear signal and image processing, Eurasip, 2006.
- [11] Ballarin, V. y Valentinuzzi, M.: "Segmentación en imágenes de Resonancia Magnética de Cerebro utilizando Morfología Matemática," Actas del Congreso Argentino de Bioingeniería. Tafí del Valle. Septiembre 2001. (Publicadas en CD), 2001.

- [12] Heijmans, H., "Theoretical aspects of gray-scale morphology," IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell., vol. 13, pp.568-582, 1991.
- [13] Vincent L., Dougherty E., Morfological Segmentation for Textures and Particles, Digital Image Processing Methods, Rochester, New York, 1994.
- [14] Capes J. S., Ando H.Y., Cameron R.E., "Fabrication of polymeric scaffolds with a controlled distribution of pores", Journal of Materials Science: Materials inmedicine, 16, 1069-1075, 2005.
- [15] Lin A. S., Barrows T.H., Cartmell S.H., Guldberg R.E., "Micro-architectural and mechanical characterization of oriented porous polymer scaffolds"; Biomaterials, 24, 481-489, 2003.
- [16] Moore M. J., Jabbari E., Ritman E.L., Lu Lichum, Currier B.L., Windebank A.J., Yaszemski M.J., "Quantitative analysis of interconnectivity of porous biodegradable scaffolds with micro-computed tomography", Journal of Biomedical Materials Research Part A, Volume 71A, Issue 2, Pages: 258-267, 2004.
- [17] Gonzalez, M.; V. L. Ballarin; A. R. Celín; V. Sánchez; Melina Rapacioli yV. Flores, "Análisis de axones en crecimiento mediante la función Granulométrica de Tamaños", XVII Congreso Argentino de Bioingeniería- VI Jornadas de Ingeniería Clínica (SABI), ISBN: 978-950-605-505-9, Polo Tecnológico Rosario, 2009.
- [18] Gonzalez, M. A. ; J. I. Pastore y V. L. Ballarin, "Análisis de la morfología de los poros en muestras de materiales", Reunión de Procesamiento de la Información y Control (XIII RPIC). ISBN: 978-987-1242-23-8, Facultad de Ciencias Exactas, Ingeniería y Agrimensura de la Universidad Nacional de Rosario, 2009.

Datos de Contacto: Dra. Mariela Azul Gonzalez, Fac. de Ingeniería. UNMdP, mazulgonzalez@fi.mdp.edu.ar