

SYMPOSIUM II

METODOS MORFOMETRICOS

J.M^a Rivera-Pomar (Bilbao)

Para la realización de las estimaciones cuantitativas de la morfología normal y patológica en células, tejidos o en órganos, a los diversos niveles de observación (desde el ojo hasta el microscopio electrónico) pueden aplicarse múltiples métodos, de complejidad muy variable.

En las estimaciones morfométricas se persiguen en general diversos objetivos, que pueden ir desde el simple contaje de elementos estructurales hasta la valoración del tamaño de los mismos, la medida del área que sus secciones ocupan en los cortes histológicos o incluso su estimación volumétrica, siempre referidos naturalmente a una unidad fija de tejido examinado.

Todos ellos son casi siempre derivados de intentos realizados por los geólogos desde el siglo pasado para conocer la composición de las rocas (1) sobre la base de la observación y de medidas efectuadas en una superficie de un corte pulido de las mismas. Esta metodología ha podido ser naturalmente aplicada a la composición de los órganos, tejidos o células, tanto en biología e histología normales como en situaciones patológicas, en las que su aplicación ha representado un enorme avance.

En toda estimación morfométrica es preciso pasar por un conjunto de etapas, en las que tendrán que mantenerse estables al máximo las condiciones de las muestras y de la metodología de medición de sus estructuras. La primera de ellas es la metódica de procesado de tales muestras que no se diferenciará de la normal de la histología o histopatología, aunque deberá cuidarse al máximo que las condiciones de fijación, deshidratación, estiramiento de los cortes, etc. perma-

nezcan siempre iguales, de tal modo que los posibles cambios en el volumen de los componentes individuales del órgano o tejido se mantengan sin cambios. Estas condiciones variarán considerablemente en dependencia del órgano a estudiar (por ejemplo, en el pulmón se requiere una fijación por expansión, ya sea con líquidos o vapores). Si se pretendiese estudiar el cerebro, el riñón o el hígado por ejemplo, deberá hacerse una perfusión vascular. Precauciones similares, son necesarias con las demás operaciones del procesamiento.

La segunda etapa es la determinación del procedimiento de medida, una vez obtenidas las preparaciones histológicas en las condiciones antes mencionadas. El desarrollo de esta segunda etapa depende en gran manera de la instrumentación disponible. Puede hacerse una morfometría elemental simplemente por la estimación del número de estructuras y su tamaño (medición de longitudes o diámetros de las mismas) en áreas diversas de los cortes, seleccionadas o al azar. Para esto hace falta únicamente una retícula ocular o una regla de plástico transparente si se dispone de un microproyector.

Incluso la estimación del área o la de la fracción de volumen que representa un componente de un tejido o de una célula podría hacerse también con escasa instrumentación. Es suficiente con utilizar simples retículos y proceder al contaje de puntos (1, 2) o de intersecciones (3, 4, 5, 6) utilizando una de las múltiples retículas tales como la de Merz (5) o la de Weibel (6), etc., comercializadas al efecto.

La aplicación de estos procedimientos es simple y los valores numéricos resultantes se procesan aplicando unas fórmulas que, aunque sus fundamentos no son de fácil comprensión para el médico con escasa preparación matemática, permiten obtener estimaciones de área o volumen de un componente en un órgano o tejido tras el estudio de un conjunto de muestras. El inconveniente mayor de los métodos morfométricos aplicados a la

Anatomía Patológica es que constituyen un procedimiento tedioso por la cantidad de medidas necesarias para obtener una adecuada fiabilidad de los mismos.

Sin embargo, para facilitar la obtención del alto número de mediciones precisas y su procesamiento matemático-estadístico, existen en el momento actual instrumentos específicamente diseñados para estimaciones morfométricas. Tales instrumentos no son otra cosa que microcomputadores, dotados de periféricos adecuados. Estos periféricos son básicamente una cámara de televisión, dotada de una interfase de conexión que traslada la imagen (procedente del microscopio, de una microfotografía electrónica o de fotografías ordinarias) a la pantalla del computador. Una vez allí, esta imagen puede ser procesada por el computador utilizando diversos métodos, unos más sofisticados que otros, dependiendo de la complejidad de los programas (software). Entre los menos sofisticados está el acoplamiento al computador de una tableta digitizadora magnética que permite contornea los objetos a medir mediante un cursor adecuado. La imagen del material a medir y el trayecto del cursor sobre la tableta digitizadora se visualizan en la pantalla mediante las interfaces acopladas a la cámara de televisión en blanco y negro y a la propia tableta. El ordenador integra los valores que le son transmitidos de la evolución del cursor sobre la tableta mediante un software adecuado, que contiene las fórmulas precisas para el cálculo deseado así como los procedimientos de almacenamiento de tales datos en la memoria del computador o en un periférico (generalmente unidades de diskettes) y su ulterior tratamiento estadístico. En ciertos computadores modernos, la placa magnética digitizadora podrá ser sustituida por los llamados ratones e incluso por lápices ópticos, ya que la resolución de muchos monitores de los computadores actuales (medida en pixels por área de pantalla) alcanza casi a la de las mejores tabletas magnéti-

cas de digitación.

Para el montaje de estos sistemas sería suficiente con un computador doméstico de unos 64 Kbytes, una unidad de disco, un tablero digitizador y una interface para una cámara de televisión en blanco y negro. Por lo tanto, en principio, se podría hacer morfometría por un costo muy modesto. Con una instrumentación de este tipo, que no llegaría quizás a superar las 500.000 pts., dependiendo naturalmente de la calidad de sus componentes. Sin embargo, para poder hacer funcionar este escaso y modesto hardware se necesitan paquetes de programas adecuados, que es necesario elaborar. La confección de tales programas no está al alcance de la mayoría de los usuarios de la morfometría. Las casas comerciales venden los paquetes de programas de morfometría a precios considerablemente elevados y que por lo general funcionan únicamente con un determinado equipo, que suele tener también un precio muy elevado.

Los instrumentos de morfometría existentes actualmente en el mercado utilizan tabletas magnéticas digitizadoras, lápices ópticos, o bien el procesamiento directo de la imagen de televisión mediante estimaciones de niveles de grises a través de un computador generalmente incorporado que contiene en su memoria interna y/o en discos el software adecuado que le permita realizar el análisis digital de la imagen y el reconocimiento de patrones de textura (pattern recognition), así como el adecuado tratamiento estadístico de los resultados. Con semejantes equipos, la labor que efectúa el que hace el análisis morfométrico se facilita enormemente, ahorrando una gran cantidad de tiempo. No es necesario asimismo que posea grandes conocimientos acerca de los fundamentos matemático-estadísticos del método.

Con semejante ayuda instrumental, la aplicación de la morfometría a la Anatomía Patológica (7) permitirá a los patólo-

gos expresar con la mayor objetividad los resultados de sus observaciones, no tan solo en la patología experimental y en la investigación, sino también en la rutina cotidiana, al menos en un conjunto cada vez más importante de estudios que así lo exigen para poder obtener de ellos el máximo rendimiento.

REFERENCIAS:

1. Delesse, A. (1984): Procède mécanique pour déterminer la composition des roches. C.R. de l'Académie des Sciences (Paris), 25, 544.
2. Hally, A.D. (1964): A counting method for measuring the volume of tissue components in microscopical sections. Quart. J. micr. Sci. 105, 503.
3. Chalkley, H.W.; Cornfield, J. and Park, H. (1949): A method for estimating volume-surface ratios. Science, 110, 295.
4. Hennig, A. (1956): Bestimmung der Oberfläche beliebig geformter Körper. Mikroskopie, 11, 1.
5. Merz, W.A. (1968): Streckenmessung and gerichteten Struktur im Mikroskop und ihre Anwendung zur Bestimmung von Oberflächen-Volumen-Relationen im Knochengewebe. Mikroskopie, 22, 132.
6. Weibel, E.R. (1963): Principles and methods for the morphometric study of the lung and other organs. Laboratory Investigation, 12, 131.
7. Moragas, A. (1984): Las técnicas de análisis de imagen y su aplicación en Anatomía Patológica. Med. Clin. (Barc.) 83, 373.