

Cuantificación por granulometría en niveles de gris del daño crónico del intersticio renal

D. Serón, M. F. Colomé-Serra, F. Moreso, L. Carreras, R. Poveda, A. M. Castelao, J. M. Griñó, J. Alsina y J. Serra*

Servicio Nefrología Hospital de Bellvitge. Barcelona (España). * Centre de Morphologie Mathématique. Ecole Nationale Supérieure des Mines de Paris. Fontainebleau (France).

Introducción

En las enfermedades renales crónicas existe un incremento de la fibrosis intersticial, atrofia tubular y disminución del número de capilares peritubulares. La superficie o el volumen intersticial constituyen una medida cuantitativa de la fibrosis del intersticio y ambas medidas se correlacionan con la función renal en el momento de practicar la biopsia, así como con el pronóstico de la enfermedad. Los métodos de medida de la superficie intersticial están basados en la técnica de «point-counting» o en otros métodos morfométricos en los que se utiliza un lápiz óptico¹⁻³. Estas técnicas requieren un observador entrenado, son muy laboriosas y tienen un cierto grado de subjetividad. De ahí que en la práctica clínica sólo se pueda disponer de información semicuantitativa acerca del grado de daño renal crónico.

La fibrosis renal conlleva la modificación de las características texturales del espacio intersticial. La finalidad del presente estudio consiste en la utilización de la morfología matemática en la cuantificación del daño intersticial crónico, ya que el intersticio renal puede asimilarse a una textura susceptible de ser analizada mediante granulometría en niveles de gris.

La morfología matemática permite la cuantificación de la forma de objetos irregulares mediante la comparación entre el objeto de interés y un objeto de forma conocida, denominado elemento estructurante. El concepto básico en morfología matemática es la transformación en todo o nada basada en la teoría de conjuntos. Si tenemos un conjunto X en el espacio R^2 y un elemento estructurante B , y desplazamos el centro de este elemento estructurante por todos los puntos del espacio, para cada posición de B podremos saber si el conjunto B está incluido o no en el conjunto X ($B \subset X$) o bien si el conjunto B tiene al menos un punto de contacto o no con el conjunto X ($B \cap X \neq \emptyset$). El conjunto de puntos de puntos de los centros de B cuando B está completamente inclui-

do en X constituye la erosión del conjunto X por el elemento estructurante B . El conjunto de los puntos formado por la unión de los centros del elemento B cuando existe intersección entre los conjuntos B y X constituye la dilatación del conjunto X por el elemento estructurante B , tal como se muestra en la figura 1. La combinación de la erosión y la dilatación da lugar a las transformaciones de apertura y cierre (fig. 1).

Una imagen digitalizada está constituida por un conjunto de puntos denominados «pixels». A cada pixel se le asigna un valor numérico que representa su intensidad de gris. Por convenio, el color negro tiene valor 0 y el blanco 255.

Las imágenes en nivel de gris pueden ser entendidas como una función tridimensional en donde el eje de la x y de la y describen la posición del pixel en el plano y el eje de la z representa la intensidad de gris de cada pixel. Las operaciones básicas de la morfología matemática pueden aplicarse sobre funciones y , por tanto, sobre la representación topográfica de una imagen. El concepto de granulometría en niveles de gris fue introducido en morfología matemática en 1982⁴ como una generalización de la axiomática binaria de Matheron⁵. Consiste en una familia de aperturas dependiente de un parámetro posi-

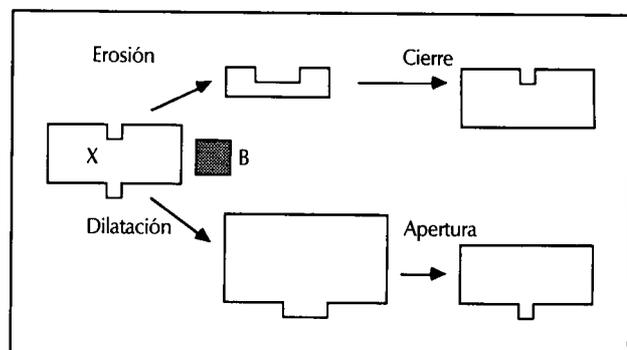


Fig. 1.—Representación esquemática de las transformaciones fundamentales de la morfología matemática. En este ejemplo el conjunto X es transformado mediante el elemento estructurante B . La transformación de cierre consiste en una erosión seguida de una dilatación y la operación de apertura de una dilatación seguida de una erosión.

Correspondencia: Daniel Serón.
Servicio Nefrología.
Hospital Bellvitge.
C/ Feixa Llarga, s/n.
08907 Hospitalet de Llobregat.
Barcelona (España).

vo, en este caso del tamaño n del hexágono nH . La apertura según nH transforma la imagen en nivel de gris f en una nueva imagen de gris $f \circ nH$ (en donde « \circ » significa la apertura de la imagen f por el elemento estructurante H de tamaño n). Además, si $n1 \leq n2$, entonces $f \circ n1H \geq f \circ n2H$. Si el volumen de f se denomina $v(f)$, se puede demostrar que la granulometría de f es $Gn(f) = v(f \circ nH) - v(f \circ [n + 1]H) / v(f)$ en un campo dado y tiene el sentido de un histograma respecto a la estructura de gris de la imagen f (fig. 2). De manera similar se puede calcular una granulometría de los cierres $f \bullet nH$ según la familia de los hexágonos nH (en donde « \bullet » significa cierre de la imagen f por el elemento estructurante H de tamaño n). El histograma correspondiente se obtiene determinando las diferencias de los cierres consecutivos según $Gn(f) = v(f \bullet [n + 1]H) - v(f \bullet nH) / v(f)$.

Material y métodos

Biopsias

Se estudian 14 biopsias con distintos grados de afectación renal crónica practicadas con aguja trucut. Los diag-

nósticos fueron: nefropatía por lesiones mínimas, cinco casos; nefropatía IgA, tres casos; hialinosis segmentaria y focal, dos casos; glomerulopatía membranosa, dos casos; nefroangiosclerosis, un caso. La biopsia fue fijada en formol, embebida en parafina y posteriormente se cortaron secciones de aproximadamente 4μ de grosor y se tiñeron con plata metenamina. En todos los casos se disponía del filtrado glomerular medido con $Tc^{99}EDTA$ en el momento de practicar la biopsia.

Adquisición y procesamiento de la imagen

De cada biopsia se grabaron entre tres y nueve campos a 200x. La imagen se digitalizó a 256×256 pixels con una retícula hexagonal en un ordenador PC 386. El procesamiento de la imagen se realizó con el programa Visilog 3.6.

Morfometría

En cada imagen se calculó la superficie del intersticio con la técnica de «point-counting», utilizando una gráticula de 108 puntos/campo.

Análisis espectral por granulometría en niveles de gris

Se estudiaron tres biopsias que correspondían a un riñón de morfología normal de un paciente afecto de la glomerulopatía por lesiones mínimas (tres campos), un riñón con daño intersticial moderado correspondiente a nefropatía IgA (cinco campos) y un riñón con daño intersticial severo también correspondiente a una nefropatía IgA (cuatro campos). En cada uno de estos 12 campos se realizó apertura y cierre según un elemento estructurante hexagonal nH de tamaño $n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 24$ y se calculó el volumen de cada imagen obtenida y posteriormente se calculó la función granulometría para la familia de aperturas y cierres. En todas las biopsias, que corresponden a un total de 59 campos, se estudió la función granulometría desde la imagen inicial hasta la apertura de paso 6.

Métodos estadísticos

La relación entre variables cuantitativas se estudió mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

Resultados

La función granulometría de la familia de los cierres realizados con un elemento estructurante hexagonal de tamaño $n = 1$ a 24 en los 12 campos estudiados mostraba que sólo el primer paso de la granulometría discriminaba entre estas tres situaciones, tal como se muestra en la figura 2a. En cambio, la función granulometría para la familia de las aperturas realizadas con un elemento estruc-

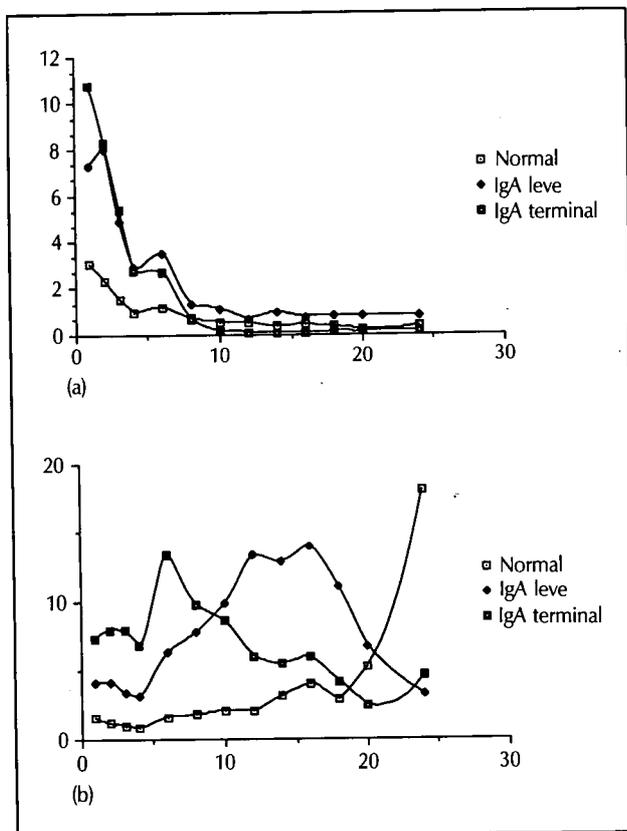


Fig. 2.—Función granulométrica en nivel de gris para los cierres (a) y aperturas (b) en un riñón normal, en un riñón con daño intersticial moderado y en un riñón con daño intersticial severo.

turante de tamaño hexagonal $n = 1$ a 24 mostraba que la forma de la curva era distinta en las tres biopsias en todo su dominio (fig. 2b). De la apertura 1 al 6 tiene lugar el oscurecimiento del intersticio. Esta parte de la función da información acerca de las características texturales del intersticio. De la apertura 8 a 24 tiene lugar el cerramiento de los túbulos. Esta parte de la función contiene información respecto a la distribución del tamaño de los túbulos. Se estudió la correlación lineal entre la superficie del intersticio medido mediante la técnica de *point-counting*, y cada paso de la granulometría desde la imagen inicial hasta la apertura $nH = 6$. Cada uno de estos parámetros se correlaciona significativamente con la superficie intersticial. La mejor relación se obtiene con el paso: $(\sqrt{f_0 2H} - \sqrt{f_0 3H})/\sqrt{f}$ ($r = 0,77$, $p = 0,0001$), tal como se muestra en la figura 3. El coeficiente de correlación entre la superficie intersticial y el filtrado glomerular fue ($r = 0,61$, $p = 0,0001$), y el coeficiente de correlación entre el filtrado glomerular y el tercer paso de la granulometría fue ($r = 0,62$, $p = 0,0001$) (fig. 4).

Discusión

La cuantificación del daño renal se basa en técnicas morfométricas. La cuantificación de superficies, perímetros y/o volúmenes mediante la técnica de *point-counting* o mediante la utilización de un lápiz óptico es un proceso laborioso y precisa de una persona entrenada. Esta limitación impide que el nefrólogo pueda disponer de forma rutinaria de información cuantitativa acerca del daño renal. En el presente trabajo se aborda el problema de la cuantificación del daño renal de una forma radicalmente distinta. La evolución del daño intersticial crónico no se asimila a un aumento progresivo de la superficie del in-

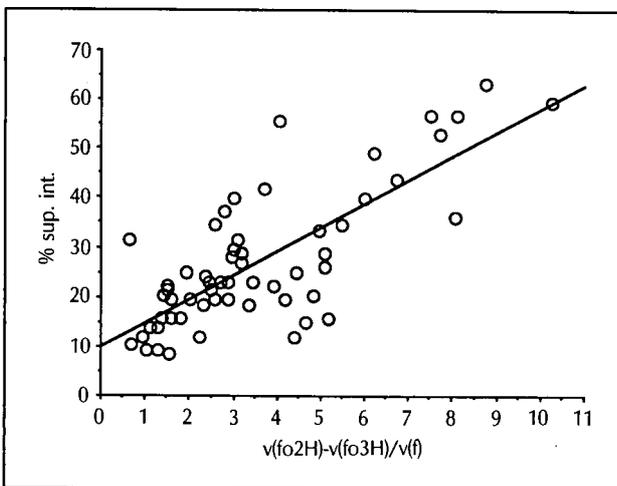


Fig. 3.—Relación entre el tercer paso de la granulometría y la superficie intersticial.

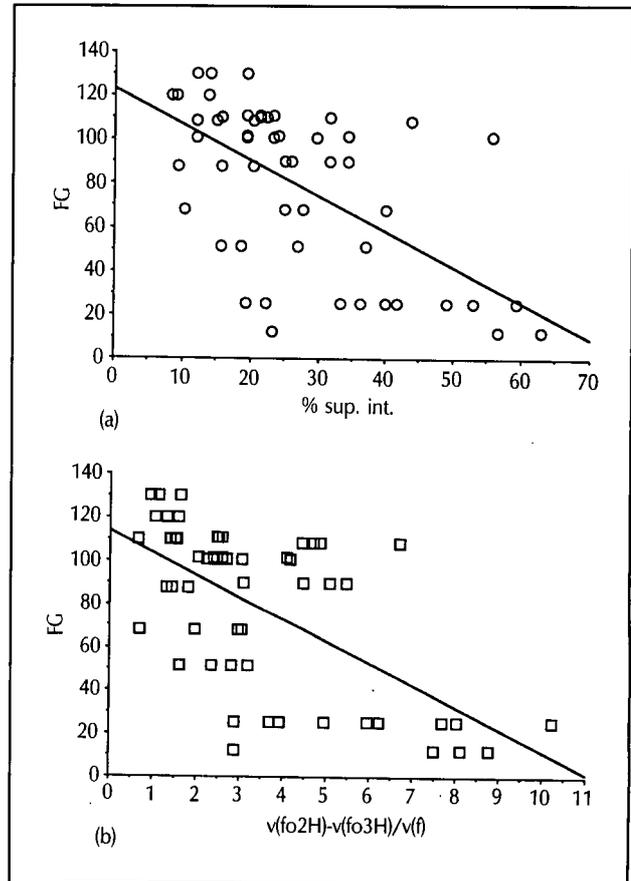


Fig. 4.—Relación entre superficie intersticial y filtrado glomerular (a) y entre el tercer paso de la granulometría y filtrado glomerular.

tersticio, sino a una modificación de las características texturales del mismo que dependen de la gravedad de la enfermedad⁶. La morfología matemática contiene las herramientas necesarias para abordar el problema de la cuantificación de texturas⁴.

En el presente trabajo demostramos que la cuantificación del daño intersticial crónico mediante la granulometría en nivel de gris es posible. La información obtenida con nuestro método es similar a la obtenida con una técnica de *point-counting*. Este método es mucho más rápido que las técnicas de morfometría clásica y no depende de la habilidad del observador. Otra ventaja no menos importante es que evita la necesidad de segmentar la imagen como paso previo a su posterior cuantificación. La cuantificación del daño renal crónico pudiera estimarse con mayor precisión mediante la utilización de otras técnicas de tinción que también ponen de manifiesto la textura del intersticio, así como mediante la utilización de otros filtros morfológicos. Sin embargo, el aspecto más interesante de nuestro enfoque es que la utilización de la morfología matemática y el análisis de imagen podría per-

mitir la obtención automática de medidas cuantitativas de las biopsias renales.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado dentro de los proyectos FIS 90-0383, beca Sandoz, SAE, y proyecto número 5-41, 1991, de la Dirección de Investigación Científica y Técnica del Ministerio de Educación y Ciencia.

Bibliografía

1. Risdon RA, Sloper JC y De Wardener HE: Relationship between renal function and histological changes found in renal-biopsy specimens from patients with persistent glomerular nephritis. *Lancet*, II:363-366, 1968.
2. Mackensen-Haen S, Bader R, Grund KE y Bohle A: Correlations between renal cortical interstitial fibrosis, atrophy of the proximal tubules and impairment of the glomerular filtration rate. *Clin Nephrol*, 15:167-171, 1981.
3. Serón D, Alexopoulos E, Raftery MJ, Hatley B y Cameron JS: Number of interstitial capillary cross-sections assessed by monoclonal antibodies: relationship to interstitial damage. *Nephrol Dial Transplant*, 5:889-893, 1990.
4. Serra J: Image analysis and mathematical morphology. London. Academic Press Ltd, 1982.
5. Costner M y Chermant JL: *Precis d'analyse d'images*. Presses du CNRS. Paris, 1989.
6. Grimaud M: *La géodesie numérique en morphologie mathématique. Application à la detection automatique des microcalcifications*. Thesis doct. Paris, 1991.