

RECONSTRUCCIÓN PANORÁMICA DE IMÁGENES EN LA ENSEÑANZA DE HISTOLOGÍA

Lucas Schneider Lopes¹, Denner Jardim Porto², Rosangela Ferreira Rodrigues³, Maria Gabriela Rheingantz⁴, Rafael Gianella Mondadori⁵, Anderson Ferreira Rodrigues⁶, Luiz Fernando Minello⁷, Luis Augusto Xavier Cruz⁸

¹Estudiante de Ciencias Biológicas, Universidad Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil

²Estudiante de Odontología, Universidad Luterana do Brasil, Rio Grande do Sul, Brasil.

³ Profesor, Histología y Biología Celular, Departamento de Morfología, Instituto de Biología, Universidad Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

⁴ Profesor, Histología y Biología Celular, Departamento de Morfología, Instituto de Biología, Universidad Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

⁵ Profesor, Histología y Biología Celular, Departamento de Morfología, Instituto de Biología, Universidad Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

⁶Analista y Desarrollador de Sistemas, Académico Curso Ingeniería Eléctrica, Universidad Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

⁷ Professor, Histología y Biología Celular, Departamento de Morfología, Instituto de Biología, Universidad Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

⁸ Técnico, Departamento de Morfología, Instituto de Biología, Universidad Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

luks-s-l@hotmail.com

Resumen

Estudios estructurados e jerarquizados que empiezan del "todo" simples para detalles cada vez más complejos, empezando en anatomía macroscópica, pasando por aspectos microscópicos de las células, sus componentes, productos, interacciones y organización, son cada vez más necesarios para la enseñanza de Histología. Los objetivos de este estudio fueron formar imágenes panorámicas de cortes histológicos, con grandes áreas de superficie, en formato digital navegable, y elaborar ilustraciones didácticas con base en estas imágenes. En la colección de láminas utilizadas en las clases prácticas de la disciplina de Histología del departamento de Morfología (UFPel/Brasil) se seleccionaron cortes cuya superficie es mayor que el campo de observación en la objetiva de 4x de los microscopios de enseñanza utilizados en las clases prácticas. Los cortes seleccionados fueron fotografiados sistemáticamente en secuencia de barrido en "Z" de toda superficie. Las imágenes panorámicas fueron montadas por reconstrucción, juntando la secuencia sistemática de imágenes utilizando Image Composite Editor. Recortes y ajustes se realizaron utilizando Picosmos Tools. La captura de la secuencia de imágenes se realizó en el microscopio acoplado a la cámara digital Motic (5MP) y controlada por el software Motic Image. Para la reconstrucción, se utilizó objetiva de 10x, mientras que las objetivas de 20x, 40x y 100x fueron usadas en la captura de imágenes para la elaboración de ilustraciones didácticas. Así, concluimos que es posible montar imágenes panorámicas navegables a partir de secuencias ordenadas de imágenes, y que la elaboración de imágenes representa un recurso importante en la enseñanza y aprendizaje de Histología.

Introducción

La Morfología puede ser subdividida en distintas áreas, como Anatomía, Embriología, Histología y Biología Celular¹. Por lo tanto, el estudio de las células, sus componentes, productos, interacciones y organización, va más allá

de la anatomía microscópica, involucra también aspectos de fisiología y bioquímica, exigiendo armonizar conocimientos de diferentes áreas.

Por la evolución del conocimiento científico, los estudios estructurados y jerarquizados partiendo del "todo" simple para detalles cada vez más complejos, empezando en la anatomía macroscópica, pasando por los aspectos microscópicos de las células, hasta llegar al nivel molecular, son cada vez más necesarios. Las actividades teóricas concomitantes con entrenamientos prácticos, así como textos descriptivos acompañados de ilustraciones, diagramas y esquemas organizan el estudio, facilitan la comprensión y la memorización durante el aprendizaje².

Un recurso muy útil en el estudio de la Histología y de la Biología Celular es el abordaje a través de dibujos o ilustraciones, representando estructuras y revelando detalles que no siempre pueden ser observados en una única preparación. La percepción visual es considerada uno de los sentidos más importantes para el aprendizaje, ya que el acto de observar visualmente transforma un concepto abstracto en una información específica³.

Actualmente, existen diversos materiales de apoyo que facilitan la comprensión y que ayudan a dirimir dudas que surgen naturalmente durante los procesos de enseñanza y aprendizaje. Silva⁴ describe algunos recursos como video-clases, apostillas, guiones ilustrados, atlas virtuales y monitores. Estos recursos, además de ayudar a condensar conceptos teóricos, permiten organizar y jerarquizar el estudio, permitiendo crear ideas que faciliten la localización de los tejidos en los órganos y de las células en los tejidos, además de permitir relacionar con mecanismos involucrados en su funcionamiento.

Por lo tanto, la elaboración de ilustraciones didácticas exige una preparación prudente con sólida fundamentación teórica y creatividad. Así, en el Departamento de Morfología de la Universidad Federal de Pelotas, se está

desarrollando un proyecto que busca la elaboración de material didáctico de apoyo dirigido al estudio complementario de la disciplina de Histología.

Objetivos

Montar imágenes panorámicas de cortes histológicos con grandes áreas de superficie en formato digital navegable y elaborar ilustraciones didácticas basadas en estas imágenes.

Materiales y métodos

Se realizó una clasificación en las láminas histológicas de la colección utilizadas en las clases prácticas de la disciplina de Histología del Departamento de Morfología del Instituto de Biología de la Universidad Federal de Pelotas. Se seleccionaron láminas cuya superficie del corte es más grande que el campo de observación proporcionado por la objetiva de 4x (menor aumento) de microscopio Nikon Eclipse E200. Entre las láminas seleccionadas, fueron escogidas aquellas con menos artefactos como pliegues, medio de montaje resecaado, pérdida de coloración, superficie de corte fragmentada (o con grietas), en fin, todas las alteraciones que podrían comprometer o dificultar el estudio del corte histológico.

Los cortes histológicos fueron fotografiados sistemáticamente en secuencia de barrido en "Z" de toda su superficie, para obtener la menor superposición posible entre los campos microscópicos adyacentes. Para la reconstrucción panorámica de las imágenes, las fotos parciales fueron capturadas con una objetiva de 10x, mientras que las fotos con las objetivas de 20x y 40x fueron utilizadas para mostrar elementos específicos y montar las ilustraciones didácticas.

Las imágenes fueron capturadas en microscopio Nikon Eclipse E200 con cabezal trinocular acoplado a una cámara digital Motic con resolución de 5 megapíxeles y controlada por el software Motic Image Plus 2.0. Las imágenes se guardaron en formato TIFF y se capturaron utilizando la objetiva de 10 veces. A continuación, según la necesidad, las imágenes individuales fueron editadas en el software Picosmos Tools 2.0.0, donde fueron recortadas y sometidas a ajustes de color, brillo y contraste, buscando obtener la mejor presentación posible. Este software también fue utilizado en la elaboración de las ilustraciones didácticas y para añadir títulos con denominación de estructuras.

Las imágenes ajustadas fueron reunidas en orden para componer, por reconstrucción, la secuencia original, hasta abarcar la imagen completa de toda superficie del corte histológico. La reconstrucción fue realizada a través del software Image Composite Editor 2.0.3.0, utilizando los puntos de superposición de las imágenes adyacentes como referencial para su unión. Las imágenes obtenidas con las objetivas de aumento más grande (20 y 40x) fueron utilizadas en la elaboración de ilustraciones didácticas para presentar detalles de las estructuras hasta el límite del mayor aumento permitido por el equipo (objetiva de inmersión de 100x).

Resultados y Discusión

En este estudio se realizó la reconstrucción de la imagen panorámica de corte histológico con gran área de superficie y fueron confeccionadas ilustraciones didácticas como material de apoyo para el estudio de la Histología. Como modelo para la descripción de la metodología utilizamos lámina de fémur de conejillo de indias (*Cavia porcellus*) preparada por desmineralización, incluida en parafina y coloreada por hematoxilina y eosina (HE), midiendo en promedio 6,98 mm de ancho en las epífisis y 3,36mm en el

diáfisis, con 30,41 mm de longitud y área superficial de 150,39mm². Para registrar toda la superficie del corte de esta pieza, fueron capturadas 129 imágenes individuales con objetiva de 10x, que fueron agrupadas en la reconstrucción.

Este aumento permitió obtener un buen grado de detalle al aplicar zoom en la imagen digital durante la navegación. En la Figura 1 se muestra la capacidad de ampliación cuando se aplica el zoom en la imagen panorámica. Con el zoom digital de aproximadamente 40%, no hubo pérdida de calidad de la imagen, y este aumento digital es equivalente al aumento proporcionado por la lente objetivo de 10x conjugada con lente ocular de 10x del microscopio óptico, con un aumento total de 100x.

En experimento piloto, la lámina fue digitalizada en escáner de mesa con resolución de 1200 dpi (puntos por pulgada), sin embargo, la imagen obtenida con escáner presentaba distorsiones al aplicar zoom durante la navegación. La comparación con imágenes escaneadas demostró que el método de obtención de imagen panorámica por reconstrucción a partir de imágenes secuenciales, aunque más laborioso, permitió obtener una imagen final con menor grado de distorsiones al aplicar zoom durante la navegación por la imagen digital.

Estimamos que, en el futuro, será posible perfeccionar el método para reconstruir imágenes a partir de capturas realizadas con objetivos de aumentos mas grandes (20x, 40x y 100x), ya que las limitaciones encontradas en el presente estudio se relacionan con el tamaño final de la imagen generada (formato TIFF) y la capacidad de procesamiento del ordenador utilizado (portátil Hp Pavilion Dm4 Core i5, 500gb, 4gb y tarjeta de vídeo Ati Radeon).

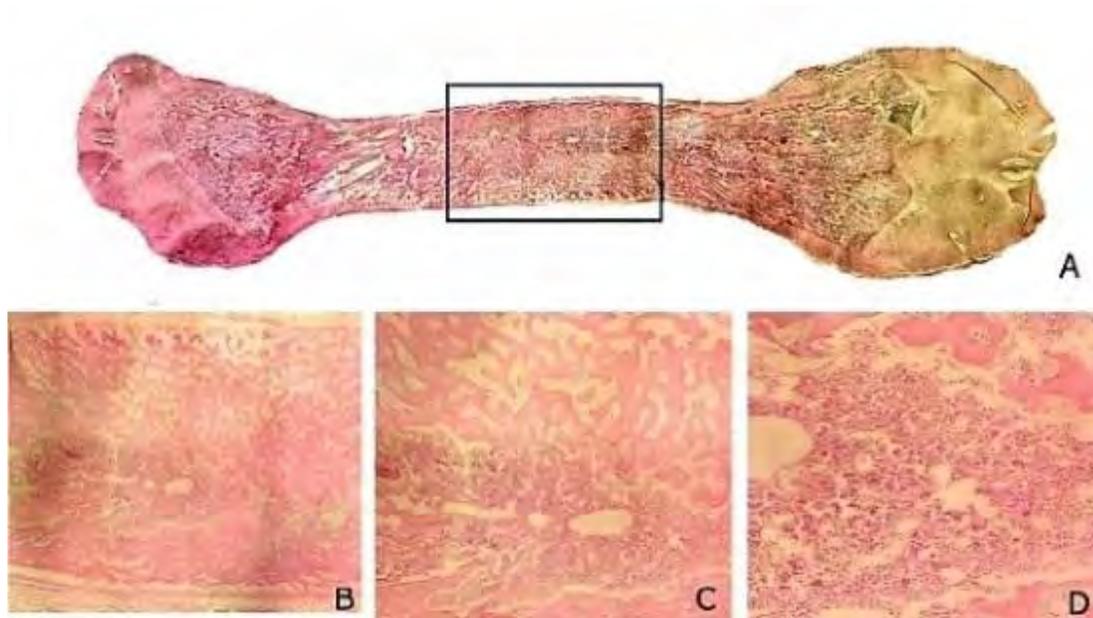


Figura 1. Hueso largo de cobaya (*Cavia porcellus*) preparado por desmineralización, incluido en parafina y coloreado por hematoxilina y eosina. A) Imagen panorámica montada por reconstrucción a partir de imágenes secuenciales capturadas con objetiva de 10x; B) Aumento digital del 15%; C) Aumento digital del 25%; D) Aumento digital del 40%.

La intención es poner a disposición las imágenes obtenidas por reconstrucción en una plataforma online, que está en fase de desarrollo, donde será posible ampliar las regiones deseadas y recorrer toda la pieza, simulando la experiencia del uso de microscopio óptico aplicando el concepto de microscopio virtual.

La reconstrucción panorámica de imágenes amplía el campo de visión de estructuras que sólo se observan en partes. Creemos que utilizar la ilustración como figura estática (Figura 2) es alternativa cuando un dispositivo electrónico para acceder a la imagen digital navegable no está disponible, proporcionando una forma didáctica y auto explicativa de las principales regiones, estructuras y células. Este tipo de ilustración, basado en imágenes fotográficas, corresponde exactamente a lo que se ve en el microscopio, posibilitando la asociación inmediata y de fácil comprensión, que también puede ser utilizada como material de apoyo durante los estudios en clases prácticas o de apoyo, cuando no se tiene acceso a las imágenes electrónicas.

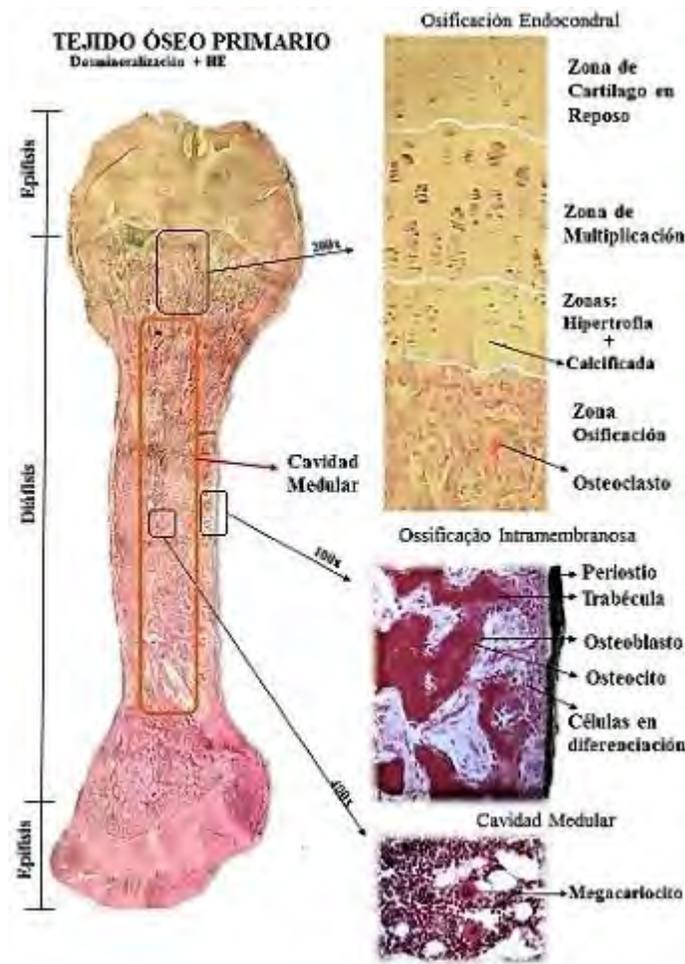


Figura 2. Ilustración didáctica basada en la foto panorámica montada por reconstrucción a partir de imágenes secuenciales con objetiva de 10x de microscopio óptico. Se indican las principales regiones del corte histológico con detalle e indicación de las estructuras en diferentes aumentos, proporcionados por la microscopia óptica utilizando objetiva de 10x para el aumento final de 100x y objetivas de 20x y 40x para los aumentos finales de 200x y 400x, respectivamente.

La ilustración didáctica fue presentada para 24 alumnos que ya cursaron la disciplina de Histología y todos afirmaron que su utilización en el aula facilitaría el entendimiento, pues propició una mejor comprensión de la estructura como un todo. En la percepción de los estudiantes, observar el canal medular en toda su extensión, así como el periostio en ambos lados y el cartílago hialino

en las epífisis, permitió relacionar la localización de la osificación intramembranosa y endocondral, con su función.

Las imágenes panorámicas están siendo elaboradas también para otros órganos como riñón, ganglio, bazo, timo y vena de largo calibre, que son estructuras con grandes áreas de superficie que no están cubiertas en la totalidad por la objetiva de 4x de los microscopios de enseñanza utilizados en las clases prácticas .

Conclusiones

Es posible montar imágenes panorámicas navegables a partir de secuencias ordenadas de imágenes. La elaboración de ilustraciones didácticas representa un recurso importante en la enseñanza y el aprendizaje de la Histología.

El montaje de imágenes panorámicas por reconstrucción, a partir de imágenes secuenciales, reveló ser un importante recurso para auxiliar en el entendimiento y facilitar la localización de las diversas regiones en láminas histológicas con área superficial mas grande que la capacidad de cobertura del campo visual de microscopios ópticos de enseñanza utilizados en clases prácticas.

Este recurso permite una visión integral que facilita la correspondencia con modelos anatómicos, pudiendo ser realizados con recursos ya disponibles en cualquier laboratorio de enseñanza de Histología, necesitando sólo de software distribuido gratuitamente, planificación y creatividad para montar imágenes digitales, que pueden entonces ser explotadas en su formato digital interactivo por navegación en línea, o ser utilizadas como base para componer ilustraciones didácticas como material de apoyo para el estudio de Histología.

La metodología para obtener imágenes panorámicas de cortes histológicos por reconstrucción a partir de imágenes seriadas todavía necesita ser mejorada para mejorar aspectos como resolución y calidad de la imagen

final, además de elaborar estrategias para reducir el tiempo de preparación de la reconstrucción.

Bibliografia

1. Parker S. O Livro do Corpo Humano. 2 ed. [S.l.]: Ciranda Cultural, v.1, 2017, 7 p.

2. Ceccantini G. Os tecidos vegetais têm três dimensões. Rev Bras Bot. 2006; 29(2): 335-337.

3. McClean P, Johnson C, Rogers R, Daniels L, Reber J, Slator BM, Terpstra J, White A. Molecular and cellular Biology animations: development and impact on student learning. Cell Biol Educ. 2005; 4: 169-179.

4. Silva JMA. Quiz: Um questionário eletrônico para autoavaliação e aprendizagem em Genética e Biologia Molecular. Rev Bras Edu Med. 2010; 34: 607-614.