

Caracterización Geométrica de la Morfología del Equinocito

Geometrical Characterization of Morphology Equinocyte

Javier Rodríguez¹,
Nury Moreno²,
Diana Alfonso³,
Marcela Méndez⁴ and
Azucena Flórez⁵

Resumen

Introducción: La geometría fractal ha sido aplicada para caracterizar diferentes estructuras irregulares del cuerpo humano.

Materiales y métodos: Se analizaron 20 imágenes de extendidos de sangre periférica, provenientes de diferentes tipos de muestras de sangre, en las cuales se observó la presencia de equinocitos. Se superpusieron dos rejillas Kp de 5 × 5 píxeles y Kg de 10 × 10 píxeles, para calcular el espacio ocupado por los equinocitos, así como su dimensión fractal mediante el método de Box Counting.

Resultados: Los espacios ocupados por los equinocitos con la rejilla Kp variaron entre 35 y 46. La dimensión fractal de los equinocitos varió entre 0,807 y 1,122.

Conclusiones: Se estableció un rango de valores a partir de los espacios ocupados por los equinocitos, independientes de las características morfológicas establecidas por la hematología.

Palabras claves: Matemáticas; Fractales; Hematología; Eritrocito; Morfofisiología

Abstract

Background: Fractal geometry has been applied to characterize different irregular structures of the human body.

Material and methods: Images of 20 extending peripherally from different types of blood samples blood, in which an expert observed the presence of echinocytes analyzed. Kp two grids of 5 × 5 pixels and Kg of 10 × 10 pixels overlapped, to calculate the space occupied by the echinocytes and its fractal dimension by Box Counting method.

Results: The spaces occupied by the echinocytes with grid Kp varied between 35 and 46. The fractal dimension of the echinocytes varied between 0.807 and 1.122.

Conclusions: A range of values was established from the spaces occupied by the echinocytes, independent of the morphological characteristics established by hematology.

Keywords: Math; Fractals; Hematology; Erythrocyte; Morphophysiology

- 1 MD. Director del Grupo Insight, Docente Línea de Profundización e Internado Especial: Física y Matemáticas Aplicadas a la Medicina, Universidad Militar Nueva Granada - Centro de Investigaciones de la Clínica del Country, Bogotá, Colombia
- 2 Mg. Administración de Operaciones, Docente Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería ECBTI, Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD, Bogotá, Colombia
- 3 Esp. Administración de la Informática Educativa, Docente Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería ECBTI. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD, Bogotá, Colombia
- 4 Ing. Alimentos, Docente Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería ECBTI, Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD, Bogotá, Colombia
- 5 Ing. Sistemas, Docente Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería ECBTI, Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD, Bogotá, Colombia

Correspondencia:

Javier Rodríguez Velásquez

✉ grupoinsight2025@yahoo.es

Fecha de recepción: Dan 28 2016, **Fecha de aceptación:** Mar 08, 2017, **Fecha de publicación:** Mar 13, 2017

Introducción

La regularidad de las figuras geométricas es caracterizada mediante reglas euclidianas como son la longitud, área y el volumen. Dichas reglas son propiedades y relaciones geométricas de las figuras regulares en el plano o el espacio. No obstante, se ha demostrado que la irregularidad de algunas figuras u objetos no es posible caracterizarla mediante la geometría euclidiana, dando origen a una nueva rama de la matemática denominada geometría fractal. El objeto caracterizado mediante esta geometría se denomina fractal, y su irregularidad cuantificada mediante la dimensión fractal [1-3]. Debido a los diferentes tipos de fractales, cada uno de ellos cuenta con un método matemático que permite calcular la dimensión fractal. Por ejemplo el fractal salvaje se caracteriza por la superposición de sus partes, la auto-similitud y la irregularidad es calculada mediante el método de Box-Counting [4].

En la literatura médica, los glóbulos rojos se caracterizan por la capacidad que tienen para someterse a grandes deformaciones pasivas durante el paso repetido a través de los capilares estrechos de la microvasculatura, a lo largo de su vida útil de 120 días [5]. Rand y Burton, desarrollaron la técnica de aspiración micropipeta para medir la "rigidez" de la membrana, en relación a la regulación de la funcionalidad de los glóbulos rojos [6]. El eritrocito normal se caracteriza por presentar una forma bicóncava y de disco cóncavo, además se le atribuye una forma redonda cuyo diámetro varía entre 7 μm y 9 μm . Al observar a través de microscopio de luz las variaciones en las características anteriormente mencionadas, se considera la muestra como anormal y es asociada a una posible enfermedad [7]. Entre estas variaciones se encuentra el equinocito su nombre se deriva de la palabra erizo de mar, en vista que este presenta espículas cortas con extremos romos, distribuidas regularmente por toda la superficie de la célula [7].

El estudio de la morfología de los hematíes se usa como método para el diagnóstico de numerosas hemopatías. La cuantificación del factor de forma en la deformabilidad eritrocitaria se realiza mediante la relación de superficie (S) - volumen (V). El resultado de S/V, es considerado también como un índice que evalúa la incidencia del factor de forma en la deformabilidad eritrocitaria. Los equinocitos se presentan en muestras de extendidos de sangre periférica de pacientes con anemia hemolítica aguda [8], con enfermedad renal crónica [9,10], con quemaduras severas [11], y en pacientes que han sido transfundidos [12], debido a que en la sangre de banco se forman equinocitos en cantidad proporcional con la edad de la sangre, conocidos como esferoequinocitos [13].

En cambio, los estudios realizados en el contexto de teorías físicas y matemáticas han logrado caracterizar de manera óptima las alteraciones de los eritrocitos, aplicando para ello las nociones de la geometría fractal y euclidiana de manera simultánea [14-16]. Los eritrocitos normales y sus alteraciones fueron caracterizados por vez primera en el contexto de la geometría fractal; logrando cuantificar la irregularidad de las alteraciones de los eritrocitos de manera objetiva y reproducible con el método de Box Counting

[14]. Esta metodología fue posteriormente refinada mediante la aplicación conjunta de la geometría euclidiana y fractal, logrando evaluar de forma más precisa las irregularidades de otras muestras de extendido de sangre periférica. Esto fue posible, mediante las proporciones entre la superficie y el borde de la estructura del eritrocito, estableciendo un orden matemático que diferencia las distintas alteraciones de los eritrocitos [15]. Como resultado de estas dos metodologías, se realizó una simulación teórica para las distintas estructuras eritrocitarias, la cual facilita un seguimiento de la evolución de estas alteraciones morfológicas en el tiempo [16].

El propósito de la presente investigación es aplicar las metodologías previamente desarrolladas para caracterizar la estructura de los equinocitos, mediante el método de Box Counting en el contexto de la geometría fractal [14-16].

Metodología

Método de box counting: Método matemático para evaluar el grado de irregularidad y la dimensión fractal de un objeto. Siendo K: el grado de partición de la cuadrícula, N: es el número de espacios que contiene el contorno del objeto y D: la dimensión fractal.

$$D = \frac{\text{Log}N(2^{-(k+1)}) - \text{Log}N(2^{-k})}{\text{Log}2^{k+1} - \text{Log}2^k} = \text{Log}_2 \frac{N(2^{-(k+1)})}{N(2^{-k})}$$

Rejillas cuadros pequeños (Kp) y cuadros grandes (Kg): consiste en dos cuadrículas con dimensiones de 5 x 5 y 10 x 10 píxeles.

Superficie en píxeles de las regiones de los equinocitos: número de píxeles que tocan el interior o el borde de la imagen medida.

Procedimiento

Del Laboratorio de referencia en Morfología Hematológica, se tomaron diferentes tipos de muestras de sangre, cuyos extendidos de sangre periférica presentaba equinocitos, los cuales fueron evaluados por el especialista del laboratorio según los parámetros convencionales. Las muestras de sangre fueron observadas en extendidos tratados con colorante Romanowsky, con un aumento de 10 x por 100 x a través de un microscopio Carl Zeiss y las imágenes fueron tomadas por una Cámara de microscopio digital.

Para que el software reconozca las imágenes de extendido de sangre periférica, estas fueron editadas en Microsoft Office Professional Plus 2010, dejando la dimensión de cada una de ellas en 448 x 336 píxeles. Posteriormente, y según la imagen del extendido de sangre periférica fueron seleccionados entre uno a tres equinocitos, para ser delineado su contorno tal y como se puede ver en la **Figura 1**. Luego se superpusieron las dos rejillas (ver definiciones), para evaluar mediante el método de Box Counting el espacio ocupado por los equinocitos, así como su dimensión fractal. Estas dos rejillas fueron escogidas porque sus escalas permitieron evidenciar diferencias entre normalidad y enfermedad en las dos metodologías previamente desarrolladas [14-16]. En vista que con la rejilla Kg no se logró cuantificar con mayor precisión las irregularidades de los equinocitos, lo que sí

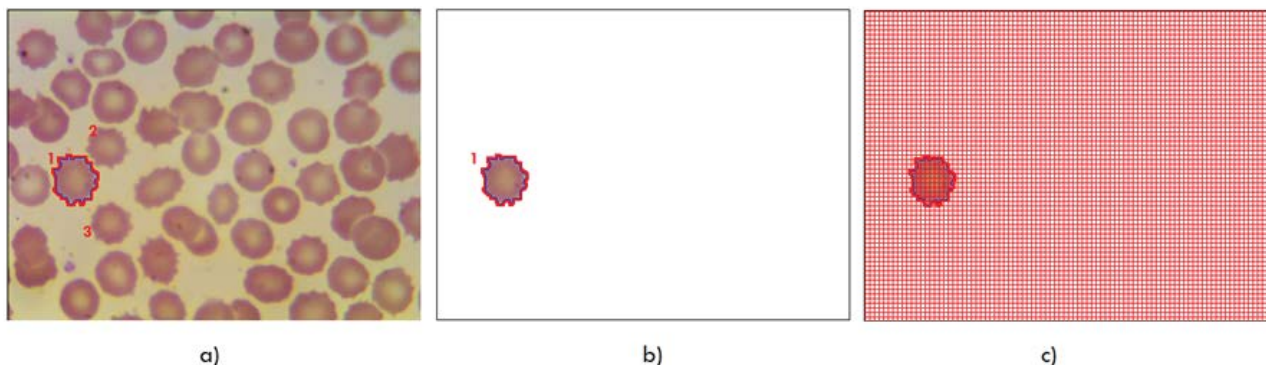


Figura 1 Imagen de un extendido de sangre periférica en el cual se encuentra como ejemplo algunos de los equinocitos medidos. a) Equinocitos a los que se les delinea su contorno; b) Equinocito delimitado y separado del resto de la muestra; c) Superposición de la rejilla Kp de 5 × 5 pixels en el equinocito delimitado y separado del resto de la muestra.

pudo hacer con la rejilla Kp (**Figura 1**), los valores calculados con esta rejilla no fueron considerados para realizar el análisis.

Finalmente, para establecer los valores que permiten establecer igualdades o diferencias entre los equinocitos, se calculó las proporciones, es decir, el cociente entre los valores de la superficie y la rejilla Kp de los equinocitos seleccionados para el estudio.

Resultados

Los valores ocupados por los equinocitos con la rejilla Kp variaron entre 37 y 45. La dimensión fractal los equinocitos variaron entre 0,96 y 1,23. La superficie de los equinocitos variaron entre 1280 y 1977 y la proporción entre la superficie y la rejilla Kp varió entre 34,59 y 46,50 (**Tabla 1**).

Discusión

Este es el primer trabajo en el que caracteriza la irregularidad de los equinocitos en el contexto de la geometría fractal. Para ello fue evaluado el contorno y la superficie del equinocito mediante el método de Box Counting. Se estableció un orden matemático a partir de valores hallados que permite hacer distinciones entre los espacios ocupados por los equinocitos. Como consecuencia de esto, la metodología contribuye a realizar caracterizaciones más precisas de los equinocitos, no por el número de espículas cortas con extremos romos comúnmente observadas en los equinocitos, sino por los valores matemáticos que evalúan su grado de irregularidad.

A partir de las características morfológica particulares de los equinocitos se establecen distinciones entre los diferentes tipos de eritrocitos con el propósito de clasificarlos. Cabe decir que el presente estudio en cambio, aporta un nuevo sistema de medida que permite caracterizar la estructura del eritrocito aun cuando este no cumpla con todas las características morfológicas de un equinocito, aplicando para ello una misma metodología. La presente metodología, evaluó la irregularidad del equinocito independiente del tamaño, color y la cantidad de espículas cortas con extremos romos, los cuales son considerados en otros estudios desarrollados en el contexto de la geometría fractal y redes neurales [17].

De igual manera, las estructuras eritrocitarias normales y anormales, evaluadas previamente a partir de la metodología desarrollada Rodríguez et al., evidencian que tan apropiado resulta caracterizar las estructuras eritrocitarias desde la noción de la geometría fractal, logrando como resultado medidas objetivas y reproducibles independientes de las características morfológicas atribuidas a las alteraciones de los eritrocitos, desde el ámbito clínico [14-16]. Debido a este tipo de estudio, recientemente se realizó una generalización de todas las posibles trayectorias de las alteraciones de los eritrocitos, con base en los valores de los espacios ocupados por el borde y superficie de los eritrocitos normales y equinocitos [9]. Así mismo, la metodología reveló como ambas geometrías pueden caracterizar la estructura eritrocitaria, mediante la aplicación correcta de las nociones de irregularidad, área y superficie.

La geometría euclidiana en su dimensión física da cuenta de las propiedades espaciales de los objetos físicos, así como de sus representaciones modelando el espacio que nos rodea a partir de ellas [17]. Es por ello que los eritrocitos y las distintas alteraciones en su forma, son descritos mediante reglas euclidianas, que relacionan los eritrocitos con figuras que tienen por forma un anillo o disco cóncavo, esfera y elipse [6,18,19]. Como resultado es esto, las características particulares de los eritrocitos, resultan a menudo insuficientes para dar cuenta de las variaciones de un eritrocito, en pleno comienzo y evolución de la infección de la malaria [20] u otra patología, así mismo, para evaluar el nivel de efectividad y adversidades de un tratamiento terapéutico [21]; por ejemplo cuando el tratamiento es realizado por radiación de rayos X [22]. En cambio, estudios realizados desde el contexto de la geometría fractal han evidenciado que los valores de la dimensión fractal de los agregados de sedimentación, generan un modelo matemático que permite predecir el comportamiento de los eritrocitos [23].

Espacio geométrico de Box Counting, proporciona las herramientas necesarias para establecer relaciones armónicas matemáticas entre el objeto medido y el espacio ocupado por el objeto, permitiendo caracterizar otras estructuras como son la arterial, ventricular y en células de cuello uterino, entre otras [24-26]. La presente metodología se puede entender, considerando el estudio desde el ámbito acausal, el obedece a la noción de ventanas temporales, cuya finalidad se centra

Tabla 1 Medidas de 10 de los 20 equinocitos tomados de la sangre periférica. Kp: es el número de cuadros ocupados por la rejilla de 5 × 5 pixeles. Df: es la dimensión fractal; S: superficie. S/Kp: proporción entre la superficie y el número ocupados con la rejilla Kp.

Equinocito	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kp	37	43	37	37	37	45	43	45	42	40
Df	0,96	1,10	1,04	1,04	1,12	1,17	0,97	1,17	1,00	1,23
S	1529	1552	1412	1385	1280	1634	1737	1977	1628	1860
S/Kp	41,32	36,09	38,16	37,43	34,59	36,31	40,4	43,93	38,76	46,50

en el establecimiento de órdenes matemáticos implícito en la estructura del equinocito independientemente de cualquier análisis poblacional, siendo posible contrastarlos en cada caso particular.

A la luz de estos nuevos métodos de investigación, se han desarrollado nuevas metodologías de aplicación clínica, que contribuyen a dar soluciones en otros ámbitos de la medicina como son en el estudio de la dinámica cardiaca de adulto [27], fetal [28], neonatal [29], logrando recientemente una metodología que predice casos de mortalidad [30]. En epidemiología se han desarrollado predicciones de brotes de malaria en 820 municipios de Colombia en rangos de tres semanas, con un 99,86% de efectividad [31]. También se han desarrollado métodos predictivos en inmunología [32], biología molecular [33] e infectología [34,35]. En consecuencia, estas metodologías evidencian la aplicabilidad práctica que tiene el uso de las mismas en las diferentes ramas de la medicina.

Conclusiones

Los principios matemáticos de la geometría fractal que fundamentan la presente metodología, contribuyen a realizar una descripción y cuantificación más precisa de los cambios externos del equinocito.

Agradecimientos

Agradecemos a los docentes de la Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería de la Universidad Nacional Abierta y A distancia.

Este artículo es producto del proyecto: Evaluación física y matemática de variables hemodinámicas de pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos fundamentada en la geometría fractal y los sistemas dinámicos: Cuantificaciones de aplicación clínica en 14 horas; desarrollado en el Centro de Investigaciones de Clínica del Country, en alianza con la Universidad Militar Nueva Granada.

Agradecemos a la Universidad Militar Nueva Granada, por su apoyo a nuestras investigaciones. Especialmente a la Vicerrectoría de Investigaciones y la Facultad de Medicina. Extendemos un agradecimiento especial a la Dra. Nydia Alexandra Rojas, Directora de Investigaciones de la Facultad de Medicina, al Dr. Jorge Luque, Decano de la Facultad de Medicina, a la Dra. Yanneth Méndez, Vicerrectora académica y a la Ing. Marcela Iregui, Vicerrectora de Investigaciones.

Agradecemos también, al Centro de Investigaciones de la Clínica del Country, en especial a los Doctores Tito Tulio Roa, Director de Educación Médica, Jorge Ospina, Director Médico, y Alfonso Correa, Director del Centro de Investigaciones; a la Doctora del Centro Adriana Lizbeth Ortiz, epidemióloga, y a la enfermera Silvia Ortiz, por el apoyo a nuestras investigaciones.

Dedicatoria

A los hijos del primer autor.

References

- Mandelbrot B (1967) How long is the coast of Britain? statistical self-similarity and fractional dimension. *Science* 156: 636-638.
- Mandelbrot B (2000) Árboles jerárquicos o de clasificación, y la dimensión. En: Los objetos fractales. Barcelona: Tusquets Eds S.A. 161-166.
- Mandelbrot B (1972) The fractal geometry of nature. San Francisco: Freeman Ed, pp: 341-348.
- Peitgen H, Jürgens H, Saupe D (1992) The box-counting dimension en: Chaos and chaos and fractals: New frontiers of science. New York: Springer-Verlag. pp: 655-768.
- Narla M, Gallagher P (2008) Red cell membrane: past, present, and future. *Blood* 112: 3939-3948.
- Rand RP, Burton AC (1964) Mechanical properties of the red cell membrane. I. membrane stiffness and intracellular pressure. *Biophys J* 4: 115-135.
- Campuzano G (2008) Utilidad clínica del extendido de sangre periférica: los eritrocitos. *Medicina & laboratorio* 14: 311-313.
- Jacob HS, Amsden T (1971) Acute hemolytic anemia with rigid red cells in hypophosphatemia. *N Engl J Med* 285: 1446-1450.
- Agroyannis B, Kopelias I, Fourtounas C, Paraskevopoulos A, Tzanatos H, Dalamangas A, et al. (2001) Relation between echinocytosis and erythrocyte calcium content in hemodialyzed uremic patients. *Artif Organs* 25: 486-490.
- Sakthivel R, Farooq SM, Kalaiselvi P, Varalakshmi P (2007) Investigation on the early events of apoptosis in senescent erythrocytes with special emphasis on intracellular free calcium and loss of phospholipid asymmetry in chronic renal failure. *Clin Chim Acta* 382: 1-7.
- Harlan WR, Shaw WA, Zerkowicz M (1976) Echinocytes and acquired deficiency of plasma lipoproteins in burned patients. *Arch Intern Med* 136: 71-76.
- Laczko J, Feo CJ, Phillips W (1979) Discocyte-echinocyte reversibility in blood stored in CPD over a period of 56 days. *Transfusion* 19: 379-388.
- Bain BJ (2006) Blood cells. A practical guide. (4th edn.), Malden, Massachusetts USA: Blackwell Publishing.
- Rodríguez J, Correa C, Prieto S, Ospino B, Bernal P, et al. (2008) Caracterización geométrica de los glóbulos rojos. Diferenciación de muestras normales y patológicas. *Rev Cienc Salud* 6: 47-56.
- Correa C, Rodríguez J, Prieto S, Álvarez L, Ospino B, et al. (2012) Geometric diagnosis of erythrocyte morphophysiology. *J Med Med Sci* 3: 715-720.
- Rodríguez J, Prieto S, Correa S, Mejía M, Ospino B, et al. (2014) Simulación de estructuras eritrocitarias con base en la geometría fractal y euclidiana. *Arch Med (Manizales)* 14: 276-284.
- Camargo L, Acosta M (2012) La geometría, su enseñanza y su aprendizaje. *Rev Fac Cienc Tecnol* 32: 4-8.
- Pinzón R, Garavito G, Hata Y, Artega L, García JD (2004) Desarrollo de un sistema de análisis automático de imágenes de Extendido Sanguíneos. En memorias del congreso español de la sociedad de ingeniería biomédica pp: 45-59.
- Diez-Silva M, Dao M, Jongyoon H, Chwee-Teck L, Suresh S (2010) Shape and biomechanical characteristics of human red blood cells in health and disease. *MRS Bull* 35: 382-388.
- Thurston H, Karl S, Malcolm M, Terrie, Pradipsinh R (2012) Estimating Physical splenic filtration of plasmodium falciparum Infected red blood cells in malaria patients. *Cell Microbiol* 14: 1880-1891.
- Zuk A, Targosz M, Szymonski M (2011) Effect of selected drugs used in asthma treatment on morphology and elastic properties of red blood cells. *Int J Nanomedicine* 6: 249-257.
- Xu D, Peng M, Zhang Z, Dong G, Zhang Y, et al. (2012) Study of damage to red blood cells exposed to different doses of γ -ray irradiation. *Blood Transfus.* 10: 321-330.
- Tang P, Greenwood J, Raper JA (2002) A model to describe the settling behavior of fractal aggregates. *J Colloid Interface Sci* 247: 210-219.
- Rodríguez J, Prieto S, Correa C, Bernal P, Puerta G, et al. (2010) Theoretical generalization of normal and sick coronary arteries with fractal dimensions and the arterial intrinsic mathematical harmony. *BMC Medical Physics* 10: 1-6.
- Rodríguez J, Prieto S, Correa C, Bernal P, Álvarez L, et al. (2012) Diagnóstico fractal del ventriculograma cardiaco izquierdo. Geometría fractal del ventriculograma durante la dinámica cardiaca. *Rev Colomb Cardiol* 19: 18-24.
- Velásquez J, Prieto S, Catalina C, Dominguez D, Cardona DM, et al. (2015) Geometrical nuclear diagnosis and total paths of cervical cell evolution from normality to cancer. *J Cancer Res Ther* 11: 98-104.
- Rodríguez J, Prieto S, Domínguez D, Melo M, Mendoza F, et al. (2013) Mathematical-physical prediction of cardiac dynamics using the proportional entropy of dynamic systems. *J Med Med Sci* 4: 370-381.
- Rodríguez J (2012) Nuevo diagnóstico físico y matemático de la monitoria fetal: predicción de aplicación clínica. *Momento Revista de Física* 44: 49-65.
- Rodríguez J, Prieto S, Flórez M, Alarcón C, López R, et al. (2014) Physical-mathematical diagnosis of cardiac dynamic on neonatal sepsis: predictions of clinical application. *J Med Med Sci* 5: 102-108.
- Rodríguez J (2015) Dynamical systems applied to dynamic variables of patients from the intensive care unit (ICU): Physical and mathematical mortality predictions on ICU. *J Med Med Sci* 6: 209-220.
- Rodríguez J (2010) Método para la predicción de la dinámica temporal de la malaria en los municipios de Colombia. *Rev Panam Salud Pública*. 27: 211-218.
- Rodríguez J, Bernal P, Álvarez L, Pabón S, Ibáñez S, Chapuel N, et al (2010) Predicción de unión de péptidos de MSP-1 y EBA-140 de plasmodium falciparum al HLA clase II Probabilidad, combinatoria y entropía aplicadas a secuencias peptídicas. *Inmunología* 29: 91-99.
- Rodríguez J, Bernal P, Prieto S, Correa C (2010) Teoría de péptidos de alta unión de malaria al glóbulo rojo. Predicciones teóricas de nuevos péptidos de unión y mutaciones teóricas predictivas de aminoácidos críticos. *Inmunología* 29: 7-19.
- Rodríguez J, Prieto S, Correa C, Forero M, Pérez C, et al. (2013) Teoría de conjuntos aplicada al recuento de linfocitos y leucocitos: predicción de linfocitos T CD4 de pacientes con VIH/SIDA. *Inmunología* 32: 50-56.
- Rodríguez J, Prieto S, Correa C, Mora J, Bravo J, et al. (2013) Predictions of CD4 lymphocytes' count in HIV patients from complete blood count. *BMC Medical Physics*. BMC Medical Physics 13:3.