



MÉTODO AUTOMÁTICO PARA LA MEDIDA DE LA VELOCIDAD DE FLUJO DE HEMOSUSTITUTOS EN ARTERIOLAS MEDIANTE PROCESAMIENTO DE IMÁGENES

**Manuel Forero, Paula
Katherine Reyes,
Nicolás Ramírez**

**Universidad de Ibagué
Ibagué, Colombia**

**Homero Fernando
Pastrana Rendón**

**Universidad Antonio
Nariño
Bogotá, Colombia**

**Sandra Liliana Cancino
Suárez**

**Escuela Colombiana de
Ingeniería
Bogotá, Colombia**

Resumen

En algunos casos médicos, como cirugías y tratamiento de enfermedades cardiovasculares, o traumatismos es necesario el uso de la transfusión de sangre debido al riesgo o la presencia de hemorragia. Sin embargo, puede haber inconvenientes como la disponibilidad limitada de sangre, por falta de donantes, así como incompatibilidad de grupo sanguíneo o factor Rh, el riesgo de transmisión de enfermedades a través de la transfusión o el rechazo del procedimiento por parte del paciente. Por ello, se ha hecho necesario desarrollar sustancias denominadas hemosustituto, o hemoglobinas modificadas, que puedan sustituir a la sangre en su función de transporte de oxígeno. Uno de los fenómenos a evaluar para determinar la seguridad de los hemosustitutos, es el esfuerzo cortante sobre el endotelio. Tanto los esfuerzos elevados como muy bajos pueden generar daños en la función del endotelio produciendo arterias rígidas cuando se tiene un esfuerzo cortante elevado o el colapso de la arteria cuando el esfuerzo cortante disminuye o tiende a cero. Este fenómeno puede observarse mediante secuencias de imágenes de microscopía. En esta evaluación se requiere un grado importante de experticia, ya que los vasos capilares son muy pequeños y determinar la velocidad del flujo sanguíneo es difícil manualmente. Por ello, en este trabajo se propone una nueva técnica para la medición del flujo sanguíneo, desarrollada como un plugin para el programa imageJ. Emplea el canal de color con mayor entropía, sobre el que se realiza una detección de simetría y una transformación de producto de gradiente para la extracción del eje central y la estimación de la velocidad del flujo arteriolar hemostático. Los resultados fueron comparados con los obtenidos manualmente, presentando una mayor precisión y una estimación

más rápida al permitir una mejor localización del punto por el que transita el hemosustituto en un tiempo determinado.

Palabras clave: sustituto sanguíneo; hemosustitutos; velocidad de flujo

Abstract

In some medical cases, such as surgeries and treatment of cardiovascular diseases, traumas or hemorrhages, blood transfusion is necessary. However, there may be drawbacks such as limited availability of blood, due to lack of donors as well as blood group or Rh factor incompatibility, risk of disease transmission through transfusion, or procedure rejection by the patient or his family beliefs. Therefore, it has become necessary to develop substances called hemo-substitutes or modified hemoglobins, which can replace blood in its function of transporting oxygen through the circulatory system. To evaluate hemo-substitutes' performance, their effect on the endothelium of arterioles is studied in animal models such as rabbits, observing whether vascular injury or damage occurs due to the variations in the shear stress resulting from flow velocity or vascular diameter changes. This phenomenon can be observed by microscopy imaging sequences. This assessment is difficult, as capillary vessels are very small and blood flow velocities are difficult to measure manually. Hence, a new technique for blood flow measurement, developed as a plugin for the ImageJ program, is proposed in this work. It employs the color channel with higher entropy, on which a symmetry detection and gradient product transformation is performed for central axis extraction and estimation of the hemostatic arteriolar flow velocity. Results were compared with those obtained manually, presenting a greater precision and a faster estimation by allowing a better localization of the point through which the hemo-substitute transits in a specific time.

Keywords: blood substitute; hemo-substitutes; flow velocity

1 Introducción

La función principal de la sangre es transportar oxígeno, glucosa, hormonas, distribución de nutrientes, intercambios gaseosos, desechos metabólicos y otros elementos necesarios para el funcionamiento normal del organismo [1]. Sin embargo, en algunas situaciones, puede presentarse una pérdida de volumen sanguíneo o unas características sanguíneas inadecuadas. En estos casos, es necesario utilizar sustancias que sustituyan y mantengan la función principal de la sangre con un suministro adecuado de sus elementos constitutivos, también se requiere mantener bajo los valores normales parámetros como el esfuerzo cortante sobre el endotelio [2]. Una solución para garantizar este suministro es realizar transfusiones de sangre. En este procedimiento pueden surgir inconvenientes como la insuficiente disponibilidad de sangre, la incompatibilidad en el grupo sanguíneo o en el factor Rh, los cortos tiempos de almacenamiento, la inadecuada calidad de la sangre, el riesgo de transmisión de enfermedades y el rechazo al procedimiento por parte del paciente o su familia debido a creencias personales, entre otros [3]. Por ello, se desarrollan alternativas mediante el uso de hemosustitutos sintéticos que permitan evitar estos inconvenientes, considerando que el suministro de hemosustitutos puede generar cambios en las características de



la sangre y sus efectos sobre los vasos sanguíneos como en el diámetro de las arteriolas, la velocidad de flujo, la viscosidad de la sangre y su densidad generando variaciones en el esfuerzo cortante sobre el endotelio [4].

El efecto del flujo de la sangre sobre la arteriola determinará posibles lesiones en el endotelio que generan alteraciones como flujos ausentes o inversos, discontinuos, turbulentos con viscosidades y velocidades extremas. Estos tipos de flujos se asocian a un mayor riesgo de tromboembolismo o colapso vascular [5]. El aumento del esfuerzo cortante, por ejemplo, induce la formación de ateromas y la rigidez de la pared vascular [6]. Por lo tanto, es importante considerar estos factores que determinan el buen funcionamiento de las sustancias que sustituyen a la sangre. Para ello, Pastrana analizó manualmente los efectos del esfuerzo cortante sobre el endotelio con el uso de hemosustitutos a base de perfluorocarbono para determinar los cambios en la velocidad de flujo y el diámetro de los vasos sanguíneos tras su administración [7]. Posteriormente, Cancino et al. propusieron un método para la medición de la variación del diámetro de un vaso sanguíneo en la microcirculación de un hemosustituto mediante el procesamiento de imágenes micrométricas digitales [8]. Sin embargo, esta técnica no permite medir la velocidad de flujo del hemosustituto, la cual es una tarea tediosa, demorada, difícil e imprecisa debido a la dificultad de seguir el hemosustituto en las arteriolas. Por lo tanto, en este trabajo se propone un nuevo método basado en el procesamiento digital de imágenes que permite obtener este parámetro con gran precisión y en muy poco tiempo.

2 Materiales

Se utilizaron ocho conejos para realizar este trabajo. Cada conejo fue anestesiado con xilacina (Rompun 0,02g/ml), según las especificaciones una dosis de 6 mg/kg y ketamina (Ketamina 50(r) 5g/100ml) dosis de 50 mg/kg, ambos sedantes fueron administrados por vía intramuscular. El suministro de oxígeno se realizó mediante mascarillas a una velocidad de 2 lts/min, Una vez sedado el conejo, se procedió a la depilación de la zona abdominal donde se realizó una incisión desde el esternón hasta el tercio inferior del abdomen con el objetivo de llegar a la cavidad abdominal. Se vació la vejiga del conejo y se realizó la disección de la aorta y las venas cercanas, con 2(0) seda se fijaron los catéteres de 24G. El mesenterio se colocó en un portaobjetos de microscopio, luego se enfocó uno de los vasos sanguíneos bajo el microscopio, a partir de ese momento se inició la administración de hemosustitutos a un ritmo de aproximadamente 0,4 ml/min. En el procedimiento se utilizaron dos tipos de hemosustitutos, hiperosmolar y normosmolar, que constituyen una suspensión de perfluorocarbonos en lecitina, y que fueron fabricados en el laboratorio de hemosustitutos de la Fundación Cardioinfantil, con una viscosidad de 4,38 cp a 10 RPM y 3,05 a 100RPM.

Para la adquisición de imágenes se utilizó un microscopio digital kombistereio LEICA, que tiene un aumento máximo de 240X para un diámetro de campo de visión de 0,9mm. Una cámara digital JVC CCD conectada a una tarjeta de vídeo (MSI Personalcinema, GForce nVIDIA FX 5200 AGP 4x RAM 128MB). Para el desarrollo de la aplicación se utilizó un procesador Intel Corei5-1035G1 a 1,00GHz con 8GB de RAM, corriendo en la plataforma Windows 10. El método fue implementado en lenguaje Java como un plugin del software de libre acceso ImageJ.



3 Métodos

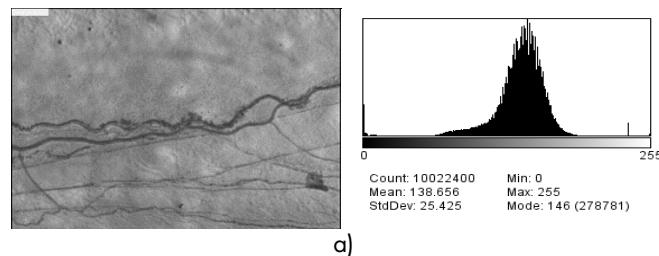
Como puede verse en la Figura 1, el fondo de cada fotograma de un vídeo típico tiene varias zonas oscuras en la región en la que se encuentran los vasos sanguíneos y en la que hay que detectar el flujo de sangre. Además, el color no proporciona información significativa. Por lo tanto, se analiza cada canal de color para averiguar cuál contiene más información. Para ello, se estima la entropía de cada canal en 20 imágenes. Como se muestra en la Tabla 1, la entropía media del canal verde es la más alta y es siempre la mayor en cada muestra. Este resultado puede observarse en la Figura 2, donde se muestran los componentes de color de la imagen de la Figura 1 y sus respectivos histogramas. Como se puede observar, el histograma del canal verde es el que presenta la mayor variación de intensidad, lo que facilita la distinción entre la región de interés y el fondo. Por esta razón, sólo se utiliza este canal para el procesamiento posterior.



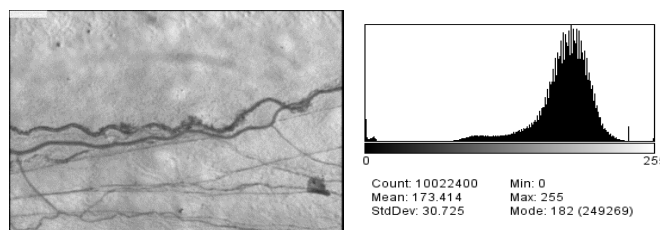
Figura 1. Imagen de microcirculación original a color.

Entropía promedio		
Canal rojo	Canal verde	Canal azul
15.22	15.71	14.96

Tabla 1. Entropía media de cada canal en 20 imágenes.



a)



b)



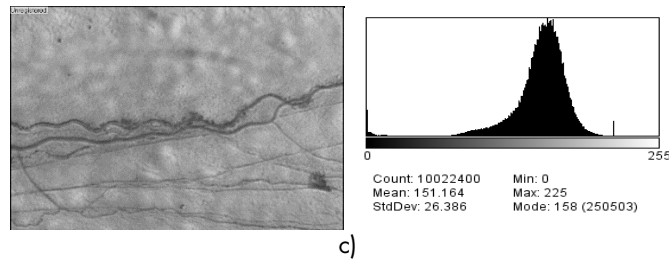


Figura 2. Canales de color y sus respectivos histogramas de la imagen de la microcirculación mostrada en la Figura 1. a). Componente rojo. b). Componente verde. c). Componente azul.

Una vez seleccionado el canal de color, se obtiene una imagen proyectando el valor mínimo de intensidad en cada píxel a lo largo del vídeo. De este modo, como se muestra en la Figura 3-a, las arteriolas tienen siempre una coloración oscura y no se ven afectadas en gran medida por el hemosustituto que produce un color claro en las arterias en los lugares por los que circula. Entonces, para reducir el oscurecimiento en la región donde se encuentran las arterias, se realiza una uniformización del fondo y una mejora del contraste. Para facilitar la distinción de las arteriolas, la imagen se suaviza con un filtro gaussiano con una desviación estándar alta ($\sigma=25$) para eliminar las arteriolas de la imagen y obtener un patrón de iluminación de fondo. De este modo, se obtuvo el patrón de iluminación del fondo de la imagen, como se ilustra en la Figura 3-b. Para contrarrestar su efecto, se restó la imagen filtrada de la imagen original, obteniendo el resultado mostrado en la Figura 4-a. Por último, se realiza la sustracción de la Figura 4-a. a imagen la original obteniendo el resultado mostrado en la Figura 4-b.

Como se observa en la Figura 4-b, los vasos sanguíneos son ahora más fácilmente distinguibles y el fondo de la imagen es más uniforme. Una vez mejorado el contraste, se estima la línea media arteriolar, ya que la máxima variación de gris se produce cuando el hemosustituto circula por el vaso sanguíneo, como se ve en el círculo rojo en un detalle ampliado de un fotograma en la Figura 5.

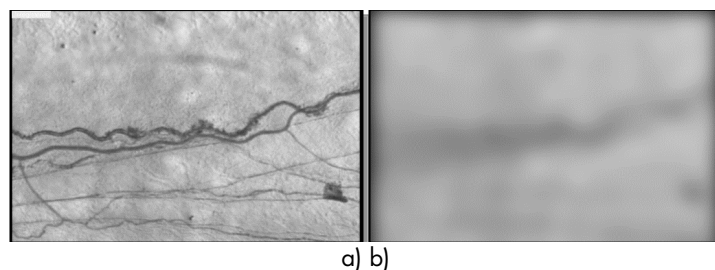


Figura 3. Proceso de detección arteriolar. a) Proyección de intensidad mínima de los fotogramas de vídeo. b) Patrón de iluminación de la imagen obtenido mediante un filtro gaussiano de sigma bastante grande.

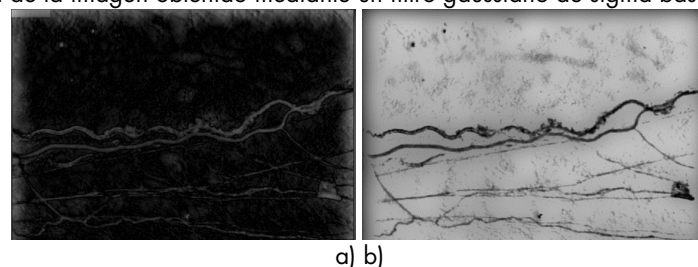


Figura 4. Proceso de detección de arteriolas. a) Imagen obtenida tras la corrección de la iluminación de fondo. b) Imagen ajustada para obtener el máximo rango dinámico.





Figura 5. Ampliación de una región del cuadro, mostrando en el círculo rojo la circulación del hemosustituto a través de la arteriola.

Para obtener el eje central se calcula la transformada del producto del gradiente, que utiliza una puntuación de simetría para encontrarlo [9][10][11]. Para ello, se obtienen los gradientes en X y Y de la imagen mediante el operador de convolución de Sobel y Feldman, como se muestra en la Figura 6. La Figura 7 muestra la puntuación de simetría y la Figura 8 muestra el eje central obtenido.

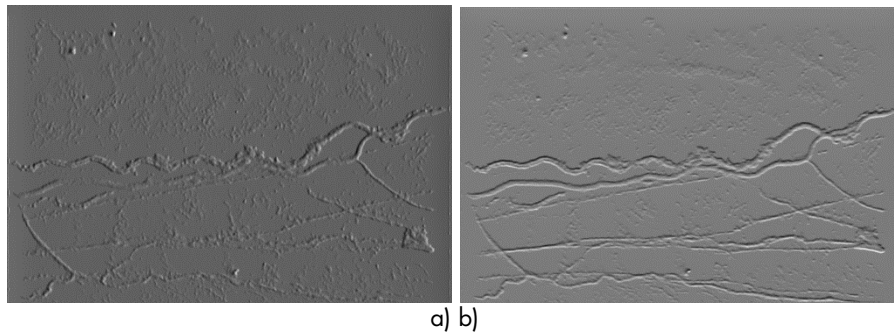


Figura 6. Gradiente de la imagen obtenido con el operador de Sobel y Feldman. a) Gradiente x. b) Gradiente y.

A continuación, se realiza la transformación del producto de gradiente, que calcula tres imágenes flotantes a partir de una imagen en escala de grises; como resultado se obtiene una imagen que representa la puntuación de simetría en cada punto, que llamaremos S, y dos imágenes Rx, Ry que representan la mitad de la diagonal de la región de simetría rectangular correspondiente al valor de la puntuación de simetría en la imagen S.

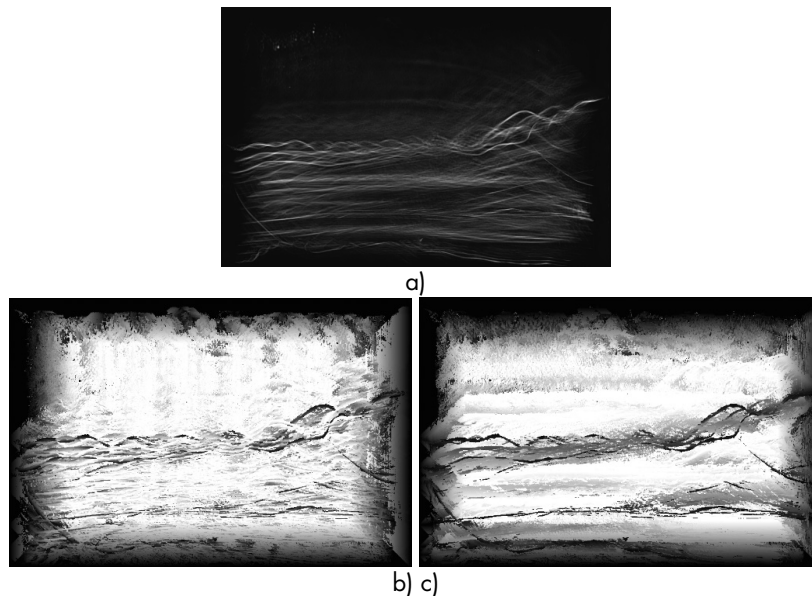


Figura 7. Puntuación de simetría. a) Simetría en cada punto S. b) La mitad de la diagonal de la región de simetría rectangular (Rx). c) La mitad de la diagonal de la región de simetría rectangular (Ry).



A continuación, se encuentran los píxeles con mayor puntuación de simetría, que se muestran en azul en la Figura 8-a, superpuestos a la imagen de entrada. Como puede observarse, la mayoría de ellos corresponden a los ejes centrales arteriolares. A continuación, se utilizó el método de umbralización de máxima entropía para seleccionar los valores con más información correspondientes a los ejes centrales, como se muestra en la Figura 8-b.

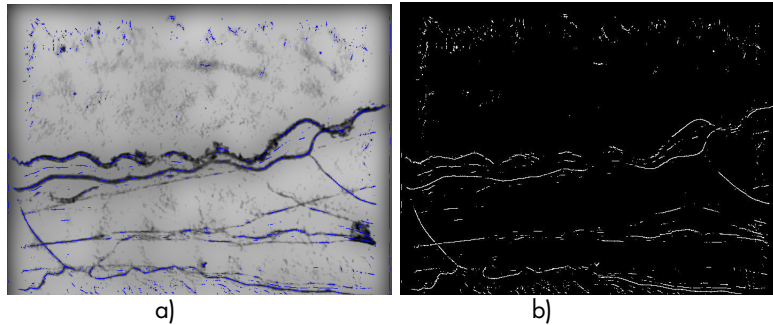


Figura 8. Obtención del eje central de las arteriolas. a) Píxeles con mayor puntuación de simetría. b) Ejes centrales obtenidos mediante umbralización.

4 Resultados

Una vez obtenidos los ejes centrales, se despliegan sobre el vídeo original, permitiendo al experto elegir los puntos entre los que desea medir la velocidad del flujo. Una vez elegidos, se obtiene el perfil de los niveles de gris a lo largo del eje central, lo que permite apreciar claramente un pico en el perfil que corresponde al desplazamiento en el tiempo del hemosustituto (Figuras 9 y 10). El pico máximo se utiliza entonces para estimar la velocidad de flujo del hemosustituto, utilizando la distancia en píxeles entre ellos a lo largo del eje medio y el tiempo transcurrido.

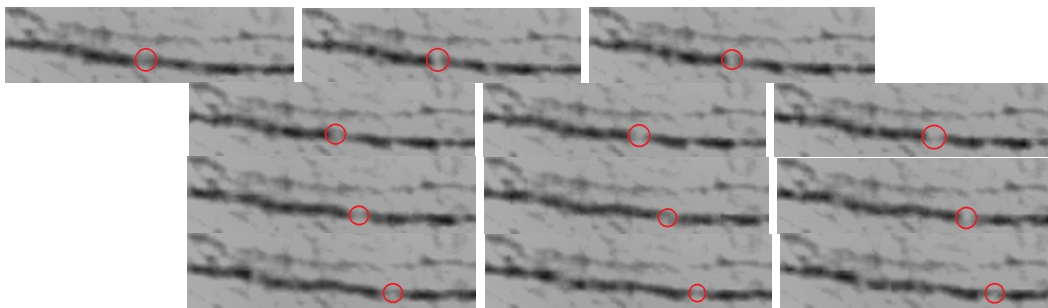


Figura 9. Apreciación de la variación del flujo hemostático.



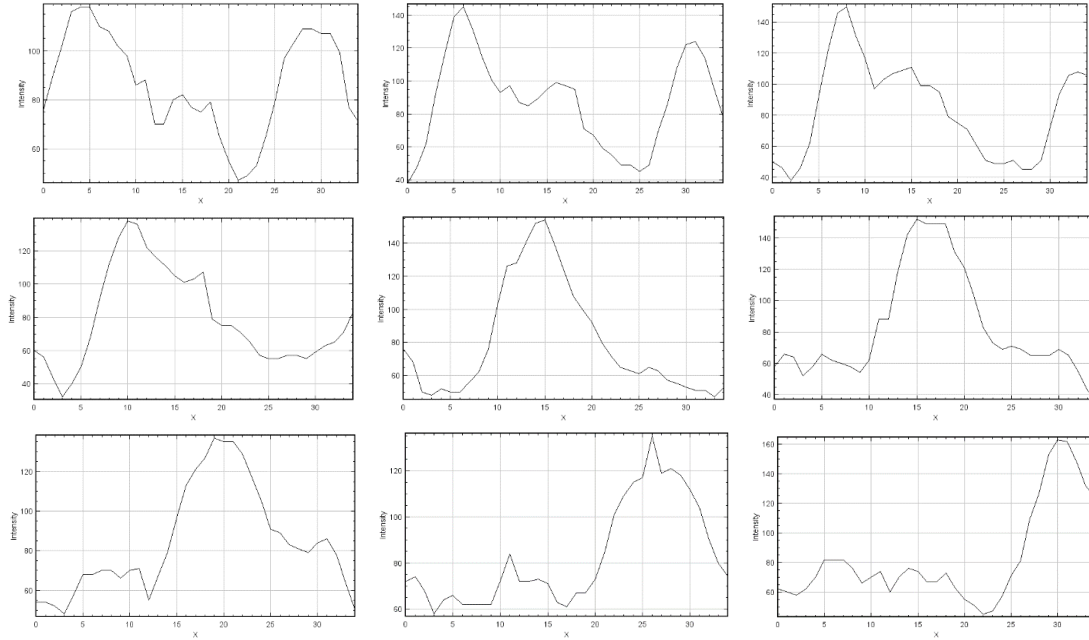


Figura 10. Apreciación automática del flujo de hemostáticos a través de perfiles que miden la variación de grises.

En la Figura 11. se puede observar el recorrido del flujo del hemosustituto a partir de una paleta de colores (escala de grises y colores), en la cual los tonos blancos y amarillos representan el paso del hemosustituto y los tonos oscuros representan el paso de los eritrocitos en la arteriola a lo largo de los fotogramas de uno de los videos.

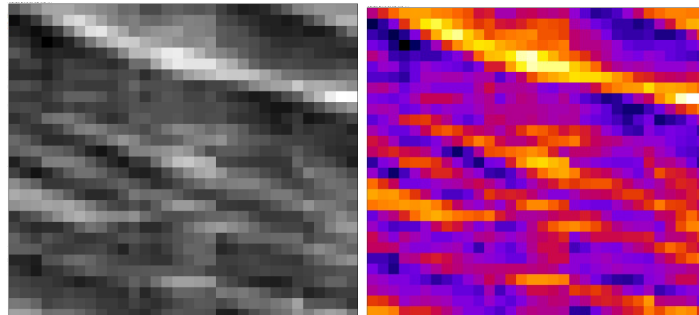


Figura 11. Recorrido del flujo del hemosustituto en la arteriola a lo largo de los fotogramas de un video

Finalmente, el método propuesto permite calcular la velocidad del hemosustituto en píxeles por segundo. El tiempo de estimación toma aproximadamente dos minutos.

Por otro lado, el proceso de hallar manualmente la velocidad de flujo de los hemosustitos es muy complejo, ya que la diferenciación precisa de los hemosustitos y los eritrocitos no puede seguirse a simple vista; es fácil perder los píxeles seleccionados. Dada esta dificultad, se trata de un proceso que suele llevar al experto 80 minutos para establecer la velocidad con relativa precisión. Además, la velocidad medida por el experto no tiene en cuenta la deformación de la arteriola, ya que la mide aproximadamente mediante segmentos de línea recta. Por lo tanto, la comparación de los resultados entre la medición obtenida por el experto y por el método propuesto no es fácil de llevar a cabo. Aun así, se logra estimar en uno de los videos, que el método propuesto calcula una



velocidad del flujo del hemosustituto de 90,90 píxeles/seg y, manualmente, se estima que esa misma velocidad es de 92 píxeles/seg. A pesar de que en este ejemplo los resultados son bastante cercanos entre los dos métodos, el tiempo de estimación toma 40 veces más en el método manual que en el propuesto.

5 Conclusiones

En este trabajo se presenta un nuevo método que, a través de técnicas de procesamiento de imágenes, estima la velocidad del flujo de hemosustitutos a lo largo de arteriolas, en un tiempo mucho menor al del proceso manual y con una mayor objetividad y precisión.

6 Referencias

Artículos de revistas

1. Cabrales, P.J. 2003. *Use Of Perfluorocarbons Emulsions As Oxygen Carrier Increasing The Plasma Oxygen Solubility, Alternative To Delay Red Blood Cell Transfusion. U. Andes.*
2. Bai, L. y Shyy, J.Y.J. 2018. Shear stress regulation of endothelium: A double-edged sword. *Journal of Translational Internal Medicine* 6: 58–61.
3. Spahn, D.R. y Goodnough, L.T. 2013. Alternatives to blood transfusion. *The Lancet* 381: 1855–1865.
4. Ballermann, B.J., Dardik, A., Eng, E. y Liu, A.. 1998. Shear stress and the endothelium. *Kidney International* 54: S100–S108.
5. Sheriff, J., Bluestein, D, Girdhar, G. y Jesty, J. 2010. High-Shear Stress Sensitizes Platelets to Subsequent Low-Shear Conditions. *Annals of Biomedical Engineering* 38: 1442–1450.
6. Heo, K.S., Fujiwara, K. y Abe, J.I. 2014. Shear Stress and Atherosclerosis. *Molecules and Cells* 37: 435–440.
7. Pastrana, H.F. 2006. Efectos del esfuerzo cortante sobre el endotelio con el uso de hemosustitutos basados en perfluorocarbonos. *Uniandes.*
8. Cancino, S.L. 2006. Medición de la variación del diámetro y de la velocidad del flujo en un vaso sanguíneo en la microcirculación de un hemosustituto mediante el procesamiento de imágenes digitales de micrometría. *U. Andes.*
9. Dalitz, C., Wilberg, J. y Jeltsch, M. 2019. The Gradient Product Transform: An Image Filter for Symmetry Detection. *Image Processing On Line* 9: 413–431.
10. Dalitz, C. y Pohle R. 2013. Detection of Symmetry Points in Images. In *Proceedings of the International Conference on Computer Vision Theory and Applications*, 577–585.
11. Dalitz, C., Pohle, R., Schmitt, F. y Jeltsch, M.. 2015. The Gradient Product Transform for Symmetry Detection and Blood Vessel Extraction. En *Proceedings of the 10th International Conference on Computer Vision Theory and Applications*, 177–184.

Sobre los Autores

- **Manuel Guillermo Forero Vargas:** Ingeniero Electrónico. Máster en Ingeniería Eléctrica. Máster en Imágenes Médicas y Doctor en Ingeniería Biomédica. Director del



Semillero en procesamiento de imágenes y reconocimiento de patrones Lún, Decano Facultad de Ingeniería, Universidad de Ibagué. manuel.forero@unibague.edu.co.

- **Paula Katherine Reyes Garibello:** Estudiante de Ingeniería Electrónica, Miembro del Semillero en procesamiento de imágenes y reconocimiento de patrones Lún, Universidad de Ibagué. 2420161052@estudiantesunibague.edu.co.
- **Nicolás Ramírez Polanía:** Estudiante de Ingeniería Electrónica, Miembro del Semillero en procesamiento de imágenes y reconocimiento de patrones Lún, Universidad de Ibagué. 2420151049@estudiantesunibague.edu.co.
- **Homero Fernando Pastrana Rendón:** Medico General y Cirujano. Especialista en Marketing Farmacéutico. Máster en Ciencias Biomédicas y Doctor en Ingeniería. Director del Doctorado en Ciencias de la Salud de la Universidad Antonio Nariño hpastrana32@uan.edu.co.
- **Sandra Liliana Cancino Suárez:** Ingeniera Electrónica, Máster en Ingeniería, Estudiante de Doctorado en Ingeniería de la Universidad del Norte, Profesora Asistente, Escuela Colombiana de Ingeniería Julio Garavito. sandra.cancino@escuelaing.edu.co.

Los puntos de vista expresados en este artículo no reflejan necesariamente la opinión de la Asociación Colombiana de Facultades de Ingeniería.

Copyright © 2021 Asociación Colombiana de Facultades de Ingeniería (ACOFI)

