



LA FORMACIÓN DE INGENIEROS:
UN COMPROMISO PARA EL
DESARROLLO Y LA SOSTENIBILIDAD

15 al 18
DE SEPTIEMBRE

20
20

www.acofi.edu.co/eiei2020

MEDICIÓN DE LA VARIACIÓN DEL DIÁMETRO EN ARTERIOLAS MEDIANTE LA CIRCULACIÓN DE HEMOSUSTITUTOS A PARTIR DE PROCESAMIENTO DE IMÁGENES

**Manuel G. Forero,
Paula Katherine Reyes
Garibello, Nicolás
Ramírez Polania**

**Universidad de Ibagué
Ibagué, Colombia**

**Homero Fernando
Pastrana Rendón**

**Universidad Antonio
Nariño
Bogotá, Colombia**

**Sandra Liliana Cancino
Suárez**

**Escuela Colombiana de
Ingeniería Julio
Garavito
Bogotá, Colombia**

Resumen

En algunas situaciones médicas como cirugías y tratamiento de enfermedades cardiovasculares, traumas o hemorragias, se hace necesario el procedimiento de la transfusión sanguínea. Sin embargo, este procedimiento puede presentar inconvenientes como no tener disponibilidad suficiente de sangre, una posible incompatibilidad en el grupo sanguíneo o el factor Rh, el riesgo de contagio de enfermedades a través de la transfusión, y el rechazo por parte del paciente o sus familiares al procedimiento de transfusión debido a creencias personales. Por esta razón, se hace necesario desarrollar sustancias denominadas hemosustitutos, o hemoglobinas modificadas, que puedan reemplazar la sangre en su función de transportar oxígeno a las células y tejidos del cuerpo a través de las vías circulatorias. Para evaluar la eficiencia de los hemosustitutos, se estudia el efecto de estos fluidos sobre el endotelio de arteriolas en modelos animales como son los conejos. Se observa si se producen lesiones o daños vasculares, debido al esfuerzo cortante derivado de la velocidad del flujo sanguíneo y la variación del diámetro de las arteriolas. Este fenómeno puede ser observado a través de secuencias de imágenes de microscopía, y por medio de técnicas de procesamiento de imágenes es posible implementar una herramienta semi-automática que permita realizar el análisis cuantitativo de las características del hemosustituto de forma rápida y objetiva. El presente trabajo introduce un nuevo método basado en técnicas de procesamiento digital de imágenes para la identificación de las arteriolas en el modelo animal, para la medición de la variación de su diámetro a lo largo del tiempo y para la estimación de la velocidad de flujo del hemosustituto.

Palabras clave: hemosustitutos; transfusión sanguínea; flujo sanguíneo; ingeniería biomédica

Abstract

In some medical situations such as surgery and treatments of cardiovascular disease, trauma or bleeding, a blood transfusion procedure is necessary. However, this procedure may have drawbacks such as insufficient blood availability, a possible incompatibility in blood type or RH factor, the risk of disease transmission through transfusion, and rejection by the patient or family members of the transfusion procedure due to personal beliefs. For this reason, it is necessary to develop substances called blood substitute, or modified hemoglobins, which can replace blood in its function of carrying oxygen to the cells and tissues of the body through the circulatory system. To evaluate the efficiency of blood substitutes, we study the effect of these fluids on the endothelium of arterioles in animal models such as rabbits. It is observed if injuries or vascular damage occur, due to the shear stress derived from the speed of blood flow and the variations of the diameter of the arterioles. This phenomenon can be observed through microscopic image sequences, and by means of image processing techniques it is possible to implement a semi-automatic tool that allows the quantitative analysis of the characteristics of the blood substitute in a fast and objective way. The present work introduces a new method based on digital image processing techniques for the identification of the arterioles in the animal model, for the measurement of the variation of their diameter over time and for the estimation of the flow rate of the blood substitute.

Keywords: blood substitute; blood transfusion; blood flow; biomedical engineering

Introducción

La función principal de la sangre es el transporte de oxígeno, glucosa, hormonas, distribución de nutrientes, intercambios gaseosos, desechos metabólicos y todos los elementos necesarios para realizar sus funciones vitales, en algunas situaciones se puede presentar pérdida del volumen sanguíneo o características inadecuadas en la sangre, en estos casos es necesario utilizar sustancias que sustituyan y mantengan la función principal de la sangre con el aporte adecuado de los elementos que la componen, aunque una de las soluciones es realizar transfusiones sanguíneas este procedimiento puede presentar inconvenientes como no tener disponibilidad suficiente de sangre, una posible incompatibilidad en el grupo sanguíneo o el factor Rh, tiempos de almacenaje cortos, calidad inadecuada de la sangre, el riesgo de contagio de enfermedades a través de la transfusión, y el rechazo por parte del paciente o sus familiares al procedimiento de transfusión debido a creencias personales, entre otras. Por esta razón se implementan hemosustitutos sintéticos que permitan controlar estos factores, sin embargo, se debe tener en cuenta que el suministro de hemosustitutos puede generar cambios en el diámetro de las arteriolas y en sus velocidades de flujo, estos parámetros sumados a la viscosidad y densidad de esta sustancia generan un esfuerzo cortante sobre el endotelio de los vasos sanguíneos.

El efecto del fluido sobre el vaso es de suma importancia para determinar las posibles lesiones que pueden generar flujos irregulares cómo, por ejemplo, flujos ausentes ó reversos, discontinuos,

turbulentos, con viscosidades y velocidades extremas ya sean muy altas o muy bajas, en la formación de ateromas, o en un posible colapso vascular, es necesario contemplar estos factores ya que de ellos depende el buen funcionamiento de las sustancias que logran sustituir la sangre. El objetivo de este estudio es realizar un nuevo método basado en técnicas de procesamiento digital de imágenes para la identificación de las arteriolas en el modelo animal, para la medición de la variación de su diámetro a lo largo del tiempo y para la estimación de la velocidad de flujo.

Método

Características del Experimento

El conejo es anestesiado con Xilazina (Rompun® 0.02g/ml), de acuerdo a las especificaciones se le proporciona una dosis de 6 mg/Kg y Ketamina 50 mg/ml con una dosis de 50 mg/Kg, ambos sedantes son suministrados vía intramuscular a través de máscaras de oxígeno con un ritmo de 2 lts/min, luego de que el conejo está sedado es depilado en el área abdominal donde se realiza una incisión desde el esternón hasta el tercio inferior del abdomen con el objetivo de llegar a la cavidad abdominal, se vacía la vejiga del conejo, se realiza la disección de la arteria y de las venas cercanas, con seda 2(0) se fijan los yelcos número 24G. Se ubica la zona del mesenterio del intestino grueso y se sitúa sobre una lámina de vidrio, seguido de esto se enfoca uno de los vasos sanguíneos en el microscopio, a partir de ese momento se inicia el suministro de hemosustitutos a un ritmo aproximado de 0.4 ml/min.

Materiales

En el procedimiento se usaron dos tipos de hemosustitutos, hiperosmolar y normoosmolar, que constituyen en una suspensión de perfluorocarbonos en lecitina, y los cuales fueron fabricados en el laboratorio de hemosustitutos de la Fundación Cardioinfantil, cuentan con una viscosidad de 4.38 cp a 10 RPM y 3.05 a 100RPM.

Para la adquisición de imágenes se utilizó un microscopio LEICA® digital kombistereo, el cual cuenta con un aumento máximo de 240X para un diámetro de campo visual de 0.9mm. Una cámara digital JVC® CCD conectada a una tarjeta de video (MSI® Personalcinema, GForce nVIDIA® FX 5200 AGP 4x RAM 128), en un computador con procesador AMD® Athlon 64 de 3GHz con 1 G en RAM.

El procesamiento de imágenes se realizó en un computador con procesador Intel® Core™ i5-1035G1 CPU @ 1.00GHz (8CPUs), ~1.2GHz con 8192MB en RAM, a través del programa de procesamiento digital de imágenes ImageJ el cual cuenta con un lenguaje de programación tipo Java.

Procesamiento de Imágenes

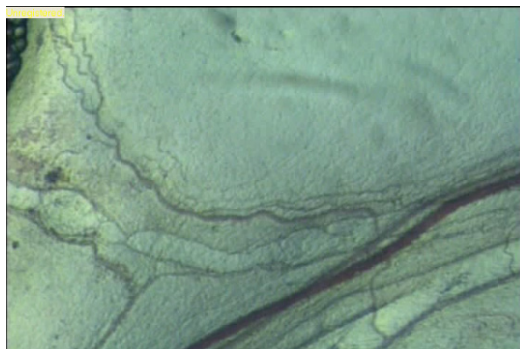


Fig. 1. Imagen de microcirculación original a color.

Inicialmente se busca eliminar el ruido del fondo de la imagen para que el contraste sea mayor y se puedan distinguir fácilmente los tejidos (venas o arterias), para esto es necesario buscar la manera de que el fondo sea más claro, por ende, se debe analizar la imagen en el espacio de color, es decir, analizar las características de la imagen original (Fig. 1) y sus componentes RGB

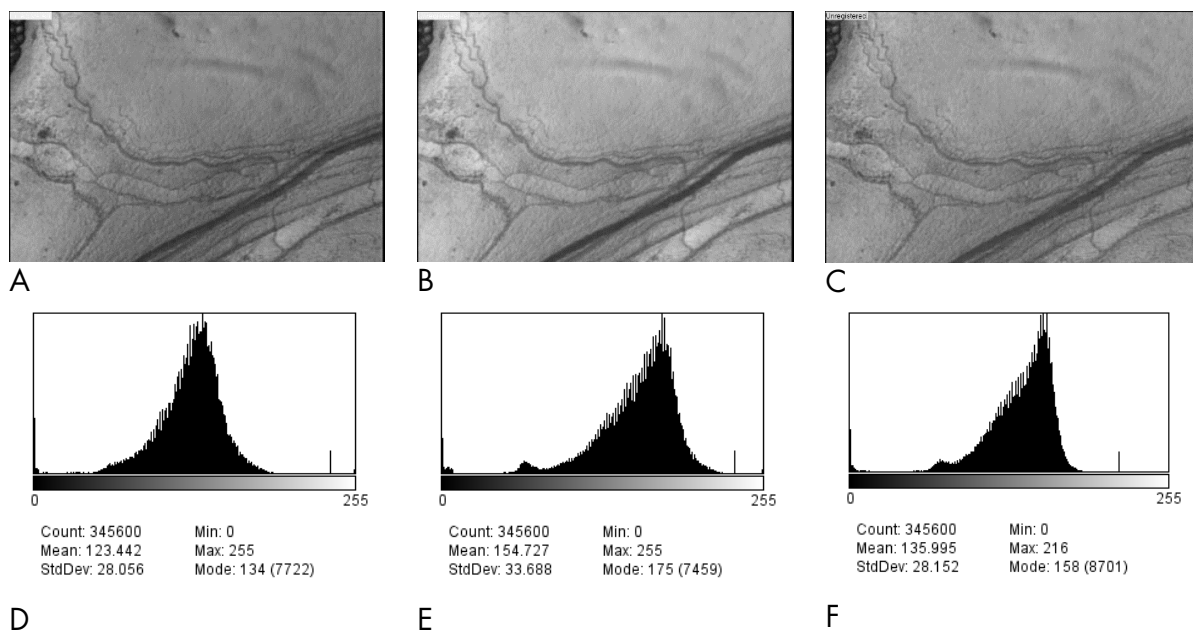


Fig. 2. A. Imagen de microcirculación componente rojo. **B.** Imagen de microcirculación componente verde. **C.** Imagen de microcirculación componente azul. **D.** Histograma Rojo **E.** Histograma Verde. **F.** Histograma Azul.

Los componentes rojo, verde y azul (Fig. 2A, 2B, 2C) permiten obtener la gama más amplia de colores, sin necesidad de emplear cantidades negativas de un componente y por lo tanto pueden ser considerados como los colores primarios. Se utiliza este modelo puesto que es el empleado por monitores de video. Se debe tener en cuenta que el histograma de una imagen es una gráfica que representa la distribución de los valores de acuerdo con la intensidad de los pixeles, representando las funciones relativas de los niveles de gris en la imagen. Al analizar el histograma de color verde (Fig. 2E) se puede concluir que este es el que mejor se ajusta, puesto que la curva se extiende, lo cual hace que el contraste sea mayor.

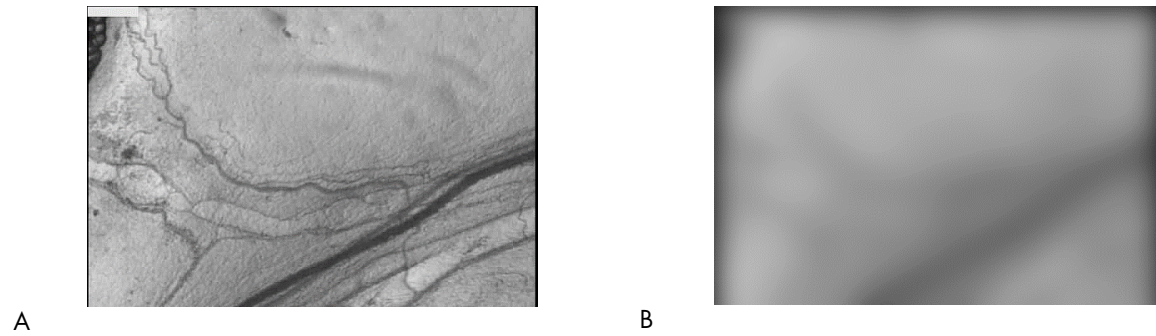


Fig. 3. A. Imagen de microcirculación componente verde con proceso sharpen o realce. **B.** Imagen de microcirculación componente verde con filtro gaussiano.

Es necesario duplicar la imagen de componente verde, a la primera se le realiza un proceso de realce. Este proceso busca aumentar el contraste y los detalles, aunque también se puede acentuar el ruido que posee la imagen (Fig. 3A). A la segunda copia, se le realiza un filtro gaussiano para suavizar el fondo de la imagen, puesto que cuando se suaviza una imagen con un radio de desenfoque muy alto en la salida prevalecerán los píxeles que hacen parte de las zonas homogéneas de la imagen, es decir la información más general de la misma (Fig.3B). Este procedimiento se hace con el fin de realizar el mínimo entre dos imágenes opuestas, una realmente detallada y la otra totalmente suavizada, para que en la imagen resultante se puedan distinguir fácilmente las venas o arterias del fondo (Fig.4).

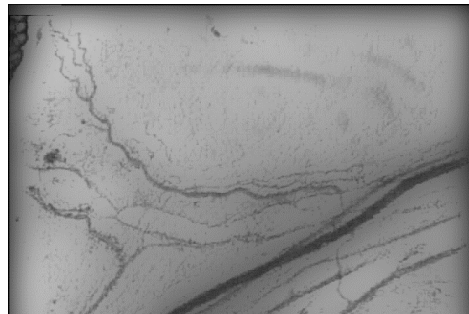


Fig. 4. Imagen resultante del mínimo entre la imagen con proceso sharpen o realce y la imagen con filtro gaussiano.

Luego de obtener este resultado, es necesario ajustar el histograma para obtener una mayor calidad y un mejor contraste en la imagen (Fig.5).

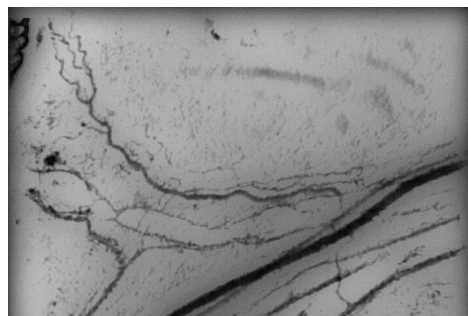


Fig. 5. Imagen de microcirculación con mejor calidad y contraste.

En la Fig. 5 se observa el resultado deseado, los vasos sanguíneos se pueden distinguir fácilmente y el fondo de la imagen no presenta el ruido que presentaba la imagen original. A partir de este resultado se procede a extraer el eje central de las arteriolas. El primer paso de la técnica que se desarrolló fue aplicar máxima entropía, esta técnica estima un umbral con base a la entropía que presenta el histograma. Este método se encarga de maximizar la entropía entre clases. Se debe recordar que la entropía es una medida de la incertidumbre de un evento. También es posible hallarla de manera analítica (Ec.1):

$$S = - (\sum) p * \log_2 (p) \quad \text{Ec.1}$$

Donde (p) es la probabilidad de un valor de píxel en escala de grises en la imagen, y (sum) es sigma. Así, es posible utilizar esta expresión para hallar la entropía de los datos proporcionados por el histograma.



Fig. 6. Imagen de microcirculación con Máxima Entropía en blanco y negro.

Luego de obtener la imagen resultado de la máxima entropía (Fig. 6), es posible extraer el eje central de las arteriolas utilizando un algoritmo de esqueletonización. Esta técnica elimina sucesivamente los píxeles de los bordes de un objeto hasta reducirlo a una forma de un solo píxel de ancho, pero manteniendo su topología. Este algoritmo calcula el número de índices de cada píxel del objeto y utiliza una tabla de búsqueda para decidir si el píxel puede eliminarse, repitiendo el proceso hasta que no se pueda eliminar píxel alguno (Fig.7).

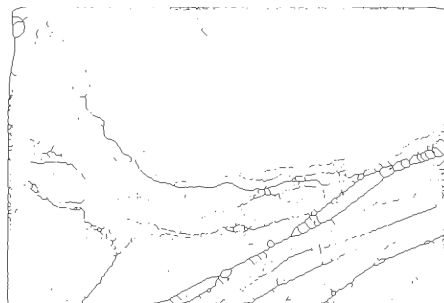


Fig. 7. Esqueleto de la imagen de microcirculación.

Por último, se realiza nuevamente máxima entropía en los colores rojo y amarillo, y se compara con el esqueleto de la imagen de microcirculación. Al hacer este proceso, se puede ver el fondo de color amarillo, las arteriolas en color rojo y el eje central en color negro (Fig. 8A y 8B).

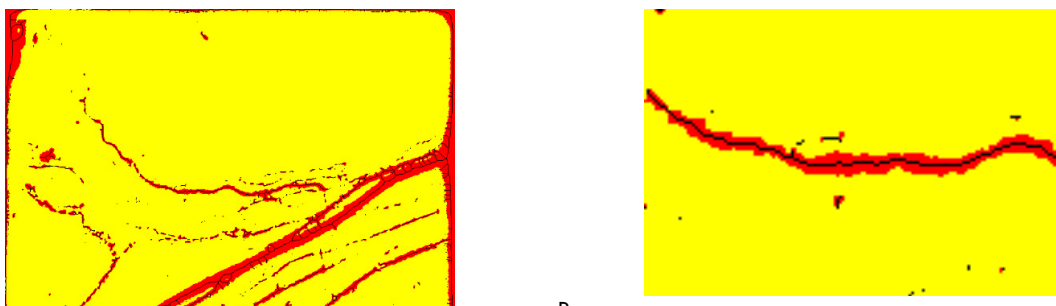


Fig. 8. A. Imagen de microcirculación con máxima entropía y algoritmo de esquelizar. **B.** Detalle de la imagen 8A.

Para la siguiente etapa del trabajo se debe lograr la medición de la variación del diámetro por medio de una técnica de procesamiento de imágenes. Sin embargo, esta parte de la metodología se encuentra aún en desarrollo.

Conclusiones

La metodología inicial usada por el médico Homero Fernando Pastrana Rendón en la tesis de maestría “Modelamiento del Estres Cortante sobre el Endotelio con Hemosustitutos (Perfluorocarbonos)” describe un procesamiento de imágenes a partir de la herramienta ADOBE PHOTOSHOP®, en los resultados obtenidos se logra observar que este método no es tan preciso a la hora de realizar la segmentación vascular y extracción del eje central en las variaciones. A continuación, la ingeniera Sandra Liliana Cancino Suarez desarrolla una nueva metodología la cual plantea en la tesis de maestría “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”, la cual describe un procesamiento de imágenes a partir del sistema de cómputo MATLAB, esta técnica es eficaz pero puede tornarse una poco larga y engorrosa. La metodología planteada en este artículo ha sido desarrollada en el programa de procesamiento digital de imágenes ImageJ y cumple con el objetivo principal de mejorar las técnicas anteriormente desarrolladas, haciéndola más rápida, más eficiente y precisa a la hora de realizar la segmentación vascular y la extracción del eje central de las arteriolas.

Referencias

Libros

- Cabrales, P. (2003). Use of perfluorocarbon as oxygen carrier. Universidad de los Andes, Bogotá, D.C.

- 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, Maestría de Ingeniería Eléctrica. Universidad de los Andes, Bogotá, D.C.
- Forero, M. G. (2002). Introducción al procesamiento digital de imágenes, 1ª Edición. La Silueta Ediciones Ltda, Bogotá, D.C., pp 47,82, 96.
- Oren, T. Bradford C. B. (1998). Laminar Shear Stress Mechanisms by Which Endothelial Cells Transduce an Atheroprotective Force. American Heart Association. Inc. 18:677-685, United States.
- Pastrana, H.F. (2005). Efectos del esfuerzo cortante sobre el endotelio bajo el uso de hemosustitutos, Maestría de Ciencias Biomédicas. Universidad de los Andes, Bogotá, D.C.

Fuentes electrónicas

- ImageJ User Guide. Maximum Entropy Threshold. Consultado el 17 de junio de 2020 en <https://imagej.nih.gov/ij/plugins/entropy.html>
- ImageJ User Guide. Skeletonize. Consultado el 17 de junio de 2020 en <https://imagej.nih.gov/ij/docs/guide/146-29.html#toc-Subsection-29.12>

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.
- **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.
- **Homero Fernando Pastrana Rendón:** Medico General y Cirujano. Especialista en Marketing Farmacéutico. Máster en Ciencias Biomédicas y Doctor en Ingeniería. hmmfast@gmail.com.
- **Nicolás Ramírez Polania:** Estudiante de Ingeniería Electrónica, Miembro del Semillero en procesamiento de imágenes y reconocimiento de patrones Lún, Universidad de Ibagué. 2420151049@estudiantesunibague.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.

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

Copyright © 2020 Asociación Colombiana de Facultades de Ingeniería (ACOFI)