



# Методы определения характеристик коагуляции и фибринолиза по последовательности изображений фибринового сгустка в плазме крови *in vitro*

*Бернштейн Ю. Д.<sup>1</sup>, Матвеев И. А.<sup>2</sup>, Брусов О. С.<sup>3</sup>*

juliebernshtein@gmail.com, ivanmatveev@mail.ru, oleg.brusow@yandex.ru

<sup>1</sup>Москва, Московский физико-технический институт; <sup>2</sup>Москва, Вычислительный Центр им.

Дородницына РАН; <sup>3</sup>Москва, ФГБНУ Научный центр психического здоровья

Предложен метод количественной оценки роста фибринового сгустка в процессе тромбодинамики. Задача решается путем сегментации последовательных изображений пространственных изменений в плазме крови в измерительной кювете с активатором и введенным тканевым активатором плазминогена. По последовательности снимков определяется положение границ активатора, пространственно-временное изменение переднего и заднего фронтов роста фибринового сгустка, временное изменение средней плотности сгустка, а следовательно, и его массы, а также время от начала процесса до присоединения спонтанных сгустков, образующихся в объеме плазмы крови. Для выделения сгустков на изображении используются алгоритм бинаризации с адаптивным порогом, математическая морфология и метод проекций. Предложенный метод сравнивается с используемым на данный момент. Сравнение проведено для случаев с образцами плазмы доноров и пациентов.

**Ключевые слова:** *тромбодинамика, математическая морфология, алгоритм бинаризации с адаптивным порогом, метод проекций.*

## Methods for *in vitro* determination of coagulation and fibrinolysis characteristics using the blood plasma images sequence

*Bernshtein J. D., Matveev I. A., Brusov O. S.*

Moscow Institute of Physics and Technology

In this paper the method for quantifying the growth of a fibrin clot in the thrombus dynamics are proposed. The problem is solved by segmentation the subsequent images of blood plasma spatial changes in the measuring cell with an activator and with introduced tissue activator of plasminogen. The positions of the line of the activator, the beginning of clot growth, a temporary change in the front of the bunch, as well as the fill rate of blood clot, and the number of centers clots are determined on the set images. The position of the boundaries of the activator, spatial and temporal variations leading and trailing edges of growth fibrin clot, a temporary change in the average density of the bunch, and, consequently, its mass are determined from the sequence of images. Also are defined the speed of the processes of coagulation and fibrinolysis, the time from the process beginning to the spontaneous clots accession that in the blood plasma volume are formed. To highlight clots in the image the binarization algorithm with an adaptive threshold, mathematical morphology and projection method are used. The proposed method is compared with the currently used. Comparison the plasma samples of donors and patients is carried out.

**Keywords:** *thrombus dynamics, mathematical morphology, binarization algorithm with adaptive threshold, projection method.*

## Введение

В диагностической медицине одним из способов обнаружения нарушений в системе свертывания крови является диагностика склонности к тромбообразованию. В последнее

время для этого активно разрабатываются методы с привлечением компьютерных технологий обработки цифровых изображений. В работах [1, 2] рассмотрены метод активных контуров и математическая морфология соответственно для обнаружения опухоли мозга по изображениям. В работе [3] описано несколько способов обнаружения перелома кости по изображению.

В данной работе рассматривается процесс тромбодинамики — метод диагностики гемостаза, предназначенный для исследования *in vitro* пространственно-временной динамики свертывания крови, инициированной локализованным активатором свертывания в условиях, близких к условиям свертывания крови *in vivo*, [4, 5, 6]. Метод тромбодинамики был разработан в лаборатории физической биохимии ГНЦ РАМН под руководством доктора биологических наук Фазли Атауллаханова, разработкой, производством оборудования и диагностикой данного метода выступает компания "ГемаКор", появившаяся в 2010 году, [7]. С помощью тромбодинамики врачи могут с большей точностью выявить склонность свертывающей системы крови пациента к гипо- и гиперкоагуляции (кровоточивости и тромбообразованию), а также осуществить персонализированный подбор антикоагулянтной терапии, которая необходима при лечении и профилактике тромбозов в послеоперационном периоде, при сердечно-сосудистых заболеваниях и других патологиях.

Ранее были получены два алгоритма: один из них умеет распознавать положения фронтов роста сгустка, однако выдает результаты, несоответствующие действительности, другой ориентируется только на изменение интенсивности изображения (которая пропорциональна плотности фибринового сгустка), что не может в полной мере описать процессы коагуляции и фибринолиза (образования и рассасывания тромбов); в отдельной программе вычисляются необходимые параметры и строятся необходимые графики. Предлагается усовершенствовать имеющийся алгоритм, опирающийся как на изменение положений фронтов сгустка, так и на изменение его плотности, выполняющий необходимые задачи в одной программе, Matlab [8], а также сделать его максимально удобным для пользователей — врачей.

## Методика измерений

Процесс тромбодинамики протекает в кювете, расположенной в передней части регистратора (см. рис. 1а, б). Кювета разделена на два канала: в одном из них находится чистая плазма крови пациента, в плазму в другом канале в различных количествах вводится тканевой активатор пламиногена (ТАП), запускающий процесс фибринолиза. Затем в каналы кюветы помещается специальная вставка, на торце которой иммобилизован активатор свертывания — тканевой фактор. Как только плазма крови соприкасается с активатором, стартует процесс свертывания, и от локализованного на торце вставки тканевого фактора в объем плазмы начинает расти фибриновый сгусток, в точности как на поврежденной стенке сосуда *in vivo*. Весь процесс тромбодинамики регистрируется цифровой видеокамерой, расположенной в задней части регистратора (см. рис. 1б, в). Видео с камеры разбивается на последовательность изображений, на которых видны границы кюветы, активатора, а также фибриновый сгусток (см. рис. 2). В процессе роста плотность сгустка увеличивается, о чем свидетельствует увеличение его яркости на снимках. Через определенный промежуток времени в канале кюветы с введенным ТАПом контрастность сгустка резко падает, что говорит об уменьшении его плотности. Сразу после этого он отрывается от активатора: сначала от краев его горизонтальной части, затем от центра — начинается процесс фибринолиза (см. рис. 2). Камера и кювета неподвижны в течение всего процесса. Эксперимент длится 30-45 минут. Полученная серия кадров дает деталь-

ную информацию о динамике свертывания крови во времени и пространстве. На основе этих данных рассчитываются численные параметры пространственно-временной динамики роста фибринового сгустка. В данной работе рассматриваются снимки только правого канала кюветы с введенным ТАПом в различных количествах. Шум камеры незначителен, освещение стабильно. Все изменения с течением времени - это изменения в самой плазме крови и небольшие шумы (гауссов от камеры, перепады яркости и др.).

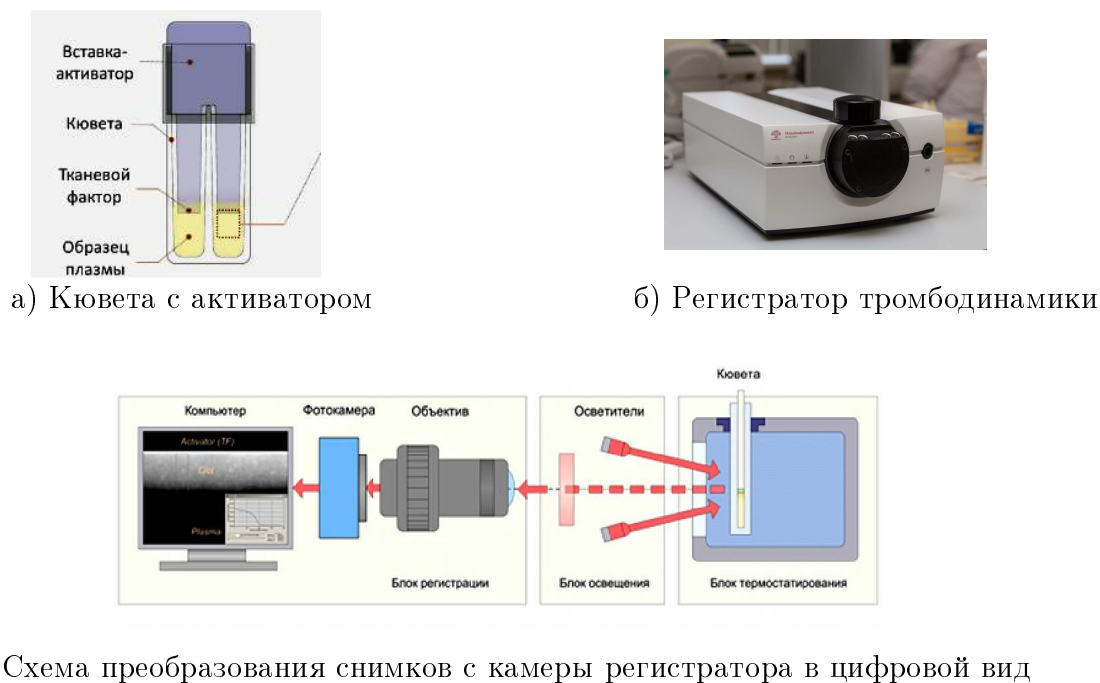


Рис. 1. Установка.

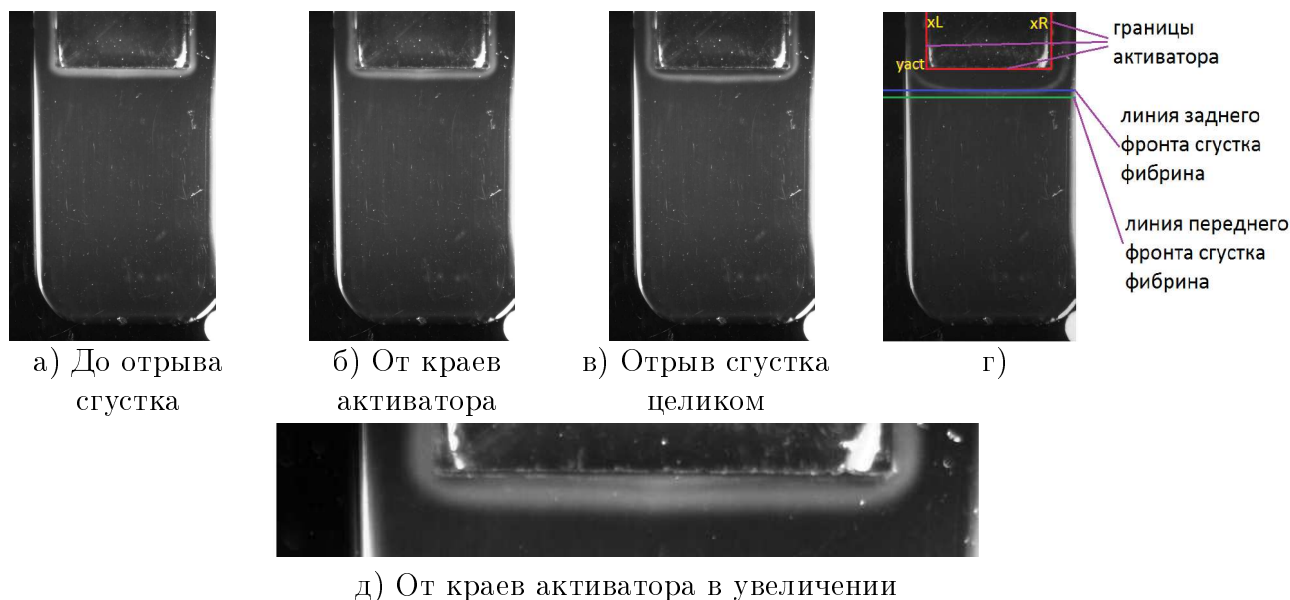


Рис. 2. Отрыв сгустка.

## Постановка задачи

На вход принимается последовательность из  $N + 1$ -го черно-белого изображения размерами  $H \times W$  пикселей (нумерация с нулевого), которые можно описать с помощью двумерной матрицы  $\mathbf{I}_n$ ,  $n \in \overline{0, N}$ , в каждой  $(i, j)$ -й ячейке которой хранится значение интенсивности  $(i, j)$ -го пикселя  $n$ -го изображения в промежутке  $[0; M]$ .

По первому снимку необходимо вычислить границы активатора (см. рис. 2д):  $x_R, x_L$  и  $y_{act}$  (начало координат находится в верхнем левом углу изображения, оси абсцисс,  $x$ , и ординат,  $y$ , направлены вправо и вниз соответственно). По следующим — три параметра:  $y_n^{LL}$  — положение заднего фронта сгустка в процессе фибринолиза на  $n$ -м снимке,  $y_n^{UL}$  — положение переднего фронта сгустка в процессе коагуляции на  $n$ -м снимке (см. рис. 2д) и среднее значение интенсивности пикселей изображения, соответствующих положению сгустка,  $\bar{I}_n$  на  $n$ -м снимке.

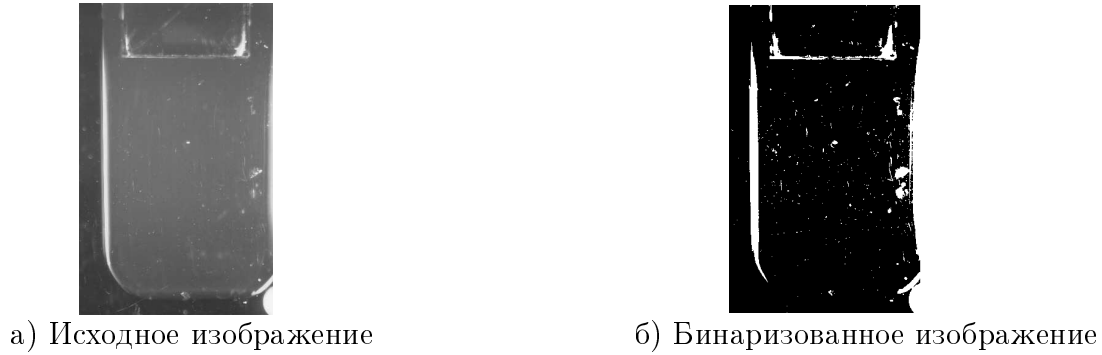
Для каждой серии снимков необходимо построить графики зависимости толщины сгустка фибрина от времени в мм/мин, средней интенсивности изображения от времени в мин<sup>-1</sup>, произведения толщины сгустка на интенсивность (массы сгустка) от времени в мм/мин, а также положения каждого из фронтов в зависимости от времени в мм/мин; из первого графика найти такие параметры, как  $T_L$  — время от начала коагуляции до начала фибринолиза — и  $T$  — время от начала съемки до начала коагуляции. По последовательности снимков найти  $T_{attach}$  - время присоединения к движущемуся сгустку фибрина сгустков спонтанных, образующихся в объеме плазмы в кювете.

## Описание алгоритма

Рассмотрим  $\mathbf{I}_0$ . Вводим оси координат так, как было описано в постановке задачи, следовательно,  $\mathbf{I}_0(x, y) = \mathbf{I}_0(i, j)|_{i=y, j=x}$ . Так как камера и кювета во время съемки зафиксированы в регистраторе тромбодинамики, то границы самой кюветы для простоты считаем определенными. На всех снимках видна только левая граница кюветы, ее положение считаем фиксированным и равным  $x_{cuvLeft}$  пикселям по оси абсцисс, границы яркого белого блика от стенки кюветы примерно равными  $x_{cuvLeft1} \div x_{cuvLeft2}$  пикселей (см. рис. 1). Для определения границ активатора рассматриваем не весь снимок, а его часть с отсеченными правой и левой частью по вертикальным прямым  $x = l$  и  $x = r$  и отсеченной нижней частью по прямой  $y = y_{Low}$ . Далее подвергаем изображение адаптивной бинаризации, для этого выбираем порог бинаризации  $\theta$ . Матрицу  $\mathbf{I}_0$  преобразуем по следующему правилу, получая матрицу  $\mathbf{I}_0^{Bin}$ :

$$\mathbf{I}_0^{Bin}(x, y) = \begin{cases} 1, & \text{если } \mathbf{I}_0(x, y) \geq \theta; \\ 0, & \text{если } \mathbf{I}_0(x, y) < \theta. \end{cases}$$

Пример преобразования изображения с помощью адаптивной бинаризации показан на рис. 3.



**Рис. 3.** Адаптивная бинаризация с порогом  $\theta = 15000$  для изображения, значения интенсивности которого лежат в промежутке  $[0; 65535]$ .

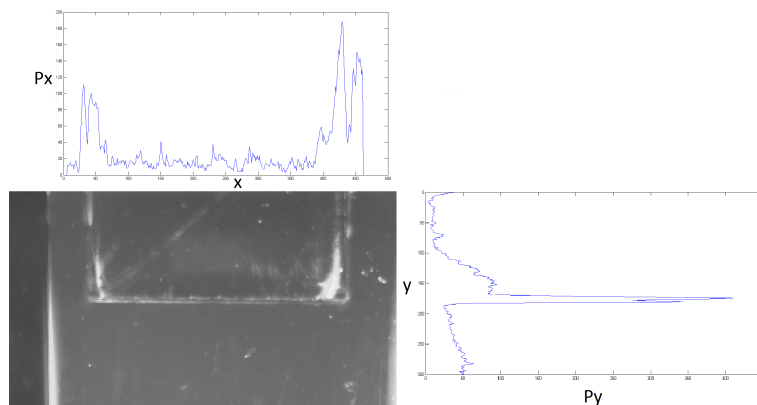
Для определения границ активатора применяем метод проекций на оси абсцисс и ординат. Массив значений проекций на ось абсцисс  $P_x$  заполняется следующим образом:

$$P_x(x) = \sum_{y=1}^H \mathbf{I}_0(x, y).$$

Аналогично заполняется массив значений проекций на ось ординат:

$$P_y(y) = \sum_{x=1}^W \mathbf{I}_0(x, y).$$

График зависимости значений массива  $\mathbf{P}_x$  от номера его элемента имеет два ярко выраженных пика, находящихся на месте вертикальных границ активатора (см. рис. 4). Для каждого элемента массива  $\mathbf{P}_x$  вычисляем сумму значений пяти предшествующих элементов, пяти последующих и его самого. Ищем два максимума этих сумм: среди элементов из первой половины массива проекций и из второй. Таким образом, определяются положения вертикальных границ активатора  $x_L$  и  $x_R$ . Аналогично определяется положение горизонтальной границы активатора  $y_{act}$  по одному ярко выраженному пику на графике зависимости значений массива  $\mathbf{P}_y$  от номера элемента массива (см. рис. 4).



**Рис. 4.** Проектирование на горизонтальную и вертикальную оси.

Рассмотрим оставшиеся в последовательности изображения  $\mathbf{I}_n$ ,  $\forall n \in \overline{1, N}$ . Вычисляем значение средней интенсивности пикселей, соответствующих положению сгустка, следующим образом: выделяем прямоугольную часть изображения  $x \in [x_L + \text{ind}_1; x_R - \text{ind}_1]$ ,  $y \in [p_n - \text{ind}_2; p_n + \text{ind}_2]$ , где  $\text{ind}_1$  - отступ по оси абсцисс,  $\text{ind}_2$  - отступ по оси ординат,  $p_n$  - ордината центра выделенной области, вычисляемая следующим образом:

$$p_1 = y_{\text{act}}, p_{n+1} = p_n + \text{st}, n \in \overline{1, N-1}$$

где  $\text{st}$  - некий шаг. Среднее значение интенсивности вычисляем по формуле:

$$\bar{I}_n = \frac{\sum_{x=x_L+\text{ind}_1}^{x_R-\text{ind}_1} \sum_{y=p_n-\text{ind}_2}^{p_n+\text{ind}_2} \mathbf{I}_n(x, y)}{(x_R - x_L - 2 \cdot \text{ind}_1 + 1) \cdot (2 \cdot \text{ind}_2 + 1)}, n \in \overline{1, N}.$$

Одновременно со средней интенсивностью для каждого изображения вычисляем максимальное значение интенсивности сгустка  $\text{MaxInt}_n$  в той же области. Динамика изменения состояния плазмы в кювете определяются с помощью новой последовательности изображений, каждое из которых является разностью текущего и первого снимков  $\{\mathbf{I}_n\}_{n=1}^N$  (см. рис. 5(a)). Каждое полученное таким способом изображение бинаризуем с по порогу  $\theta = \max_{n \in \overline{1, N}} \text{MaxInt}_n \cdot 10\%$ , следовательно, мы получаем последовательность изображений  $\{\mathbf{I}_n^{\text{Bin}}\}_{n=1}^N$ .

К каждому изображению из полученной последовательности применяется морфологическая операция размыкания по примитиву  $\mathbf{SE}$ , являющимся квадратом размерами  $(2k + 1) \times (2k + 1)$ , заполненный единицами (см. рис. 5). Морфологическое размыкание состоит из двух базовых операций: дилатация и эрозия.

**Определение 1.** Для множеств  $\mathbf{I}_n^{\text{Bin}}$  и  $\mathbf{SE}$  эрозия  $\mathbf{I}_n^{\text{Bin}}$  по  $\mathbf{SE}$  определяется как:

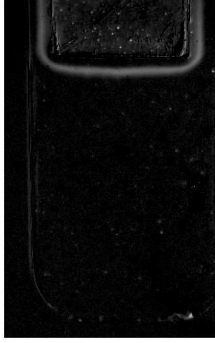
$$\mathbf{I}_n^{\text{Bin}}(x, y) \ominus \mathbf{SE} = \min_{i \in [-k, k]} \mathbf{I}_n^{\text{Bin}}(x + i, y + i)$$

**Определение 2.** Для множеств  $\mathbf{I}_n^{\text{Bin}}$  и  $\mathbf{SE}$  дилатация  $\mathbf{I}_n^{\text{Bin}}$  по  $\mathbf{SE}$  определяется как:

$$\mathbf{I}_n^{\text{Bin}}(x, y) \oplus \mathbf{SE} = \max_{i \in [-k, k]} \mathbf{I}_n^{\text{Bin}}(x + i, y + i)$$

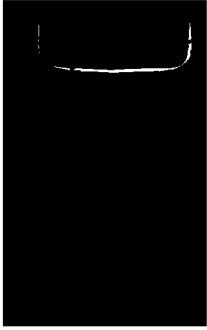
**Определение 3.** Размыкание множества  $\mathbf{I}_n^{\text{Bin}}$  по  $\mathbf{SE}$  определяется как:

$$\mathbf{I}_n^{\text{Open}} = \mathbf{I}_n^{\text{Bin}} \circ \mathbf{SE} = (\mathbf{I}_n^{\text{Bin}} \ominus \mathbf{SE}) \oplus \mathbf{SE}.$$



а) Разность текущего изображения (10-я минута) и первого в последовательности

б) Бинаризованное разностное изображение



в) Преобразованное морфологической дилатацией

г) Преобразованное морфологической эрозией

д) Преобразованное морфологическим размыканием

**Рис. 5.** Пример применения морфологических операций по множеству **SE**.

Таким образом на изображении отсекаются нежелательные шумы. На рис. 5 изображены примеры применения к изображению из последовательности  $\{\mathbf{I}_n^{\text{Bin}}\}_{n=1}^N$  операций бинаризации, морфологической дилатации, эрозии и размыкания. В результате получаем последовательность изображений  $\{\mathbf{I}_n^{\text{Open}}\}_{n=1}^N$ .

Далее, в прямоугольной области матрицы  $\mathbf{I}_n^{\text{Open}}$ ,  $n \in \overline{1, N}$ ,  $x \in [x_L + \text{ind}_1; x_R - \text{ind}_1]$ ,  $y \in [y_1; y_2]$ , где

$$y_1 = \begin{cases} y_{\text{act}}, & \text{если } n = 1 \text{ или } y_{n-1}^{\text{LL}} - y_{\text{act}} < \text{ind}_2, n > 1; \\ y_{n-1}^{\text{LL}} - \text{ind}_2, & \text{иначе} \end{cases}, \quad y_2 = \begin{cases} y_{\text{act}} + \text{ind}_2, & \text{если } n = 1; \\ y_{n-1}^{\text{UL}} + \text{ind}_2, & \text{если } n > 1 \end{cases},$$

$\forall x \in [x_L + \text{ind}_1, x_R - \text{ind}_1]$  ищем максимальную по длине последовательность единиц с положениями ее начала  $B(x)$  и конца  $A(x)$  по оси ординат — таким образом приближенно получаем расположение каждой точки переднего и заднего фронтов сгустка в заданных границах. Значения элементов полученных массивов приближаем полиномами четной степени  $p$  —  $C(x)$  и  $D(x)$  для переднего и заднего фронтов соответственно. Вычислим  $\delta_n^{\text{Up}} = \sqrt{\sum_{x=x_L + \text{ind}_1}^{x_R - \text{ind}_1} (A(x) - C(x))^2}$ ,  $\delta_n^{\text{Low}} = \sqrt{\sum_{x=x_L + \text{ind}_1}^{x_R - \text{ind}_1} (B(x) - D(x))^2}$ . Положения самих переднего и заднего фронтов определяем по формулам:



$$y_n^{UL} = \frac{1}{x_R - x_L} \sum_{y=x_L}^{x_R} (C(y) - y_{act}),$$

$$y_n^{LL} = \frac{1}{x_R - x_L} \sum_{y=x_L}^{x_R} (D(y) - y_{act}), \quad n \in \overline{1, N}.$$

Рассмотрим матрицу  $I_n^{Open}$ ,  $\forall n \in \overline{1, N}$ . Найдем проекцию на ось ординат по следующему правилу:

$$\tilde{P}_{y_n}(y) = \sum_{x=x_L+ind_1}^{x_R-ind_1} I_n^{Open}(x, y), \quad y \in [y^{LL_n-ind_2}; y_n^{UL} + ind_2]$$

Для определения  $T_{attach}$  найдем момент времени, когда  $\delta_{T_{attach}}^{Up} > \frac{y_{T_{attach}}^{UL} - y_{T_{attach}}^{LL}}{2}$  и  $\delta_{T_{attach}-1}^{Up} \leq \frac{y_{T_{attach}-1}^{UL} - y_{T_{attach}-1}^{LL}}{2}$  или  $\delta_{T_{attach}}^{Low} > \frac{y_{T_{attach}}^{UL} - y_{T_{attach}}^{LL}}{2}$  и  $\delta_{T_{attach}-1}^{Low} \leq \frac{y_{T_{attach}-1}^{UL} - y_{T_{attach}-1}^{LL}}{2}$ ,  $T_{attach} > 1$ .

Строим графики зависимостей:  $\delta_n^{Up}(n)$ ,  $\delta_n^{Low}(n)$ ,  $n \in \overline{1, N}$ , на одном графике,  $\bar{I}_n(n)$ ,  $(y_n^{UL} - y_n^{LL})(n)$ ,  $((y_n^{UL} - y_n^{LL}) \cdot \bar{I}_n)(n)$  и  $y_n^{UL}$ ,  $y_n^{LL}$ ,  $n \in \bar{\tau}$  также на одном графике. На последнем находим момент времени  $T$  - начало коагуляции:  $y_T^{UL} > y_{act}$ ,  $y_{T-1}^{UL} = y_{act}$ , если  $T > 1$ , или  $T = 1$ , если  $y_1^{UL} > y_{act}$ . Т.к. сгусток сначала растет, при этом его яркость увеличивается, то зависимость от времени на первых трех графиках поначалу является возрастающей. Как только сгусток отрывается от активатора, зависимости на этих графиках начинают убывать. Следовательно, мы имеем хорошо выраженный пик. Находим положение пика на графиках, вычитаем  $T$  - это время  $T_{L_1}$ ,  $T_{L_2}$ ,  $T_{L_3}$  (Lag time) для каждой из трех зависимостей  $(\bar{I}_n(n))$ ,  $(y_n^{UL} - y_n^{LL})(n)$ ,  $((y_n^{UL} - y_n^{LL}) \cdot \bar{I}_n)(n)$ .

### Базовый вычислительный эксперимент

Для данного эксперимента использовалось  $N + 1 = 46$  снимков плазмы крови донора размерами  $1024 \times 640$  с интенсивностью в промежутке  $[0; 65535]$ . Используемые параметры:  $l = 120$ ,  $r = 575$ ,  $y_{Low} = 300$ ,  $wnd = 5$ ,  $ind_1 = ind_2 = 30$ , порог бинаризации первого изображения  $\theta = 15000$ , морфологическое размыкание применяется по примитиву с полушириной  $k = 5$ , аппроксимация значений массивов  $A(x)$  и  $B(x)$  производится полиномами степени  $p = 4$ .

Согласно выше описанному алгоритму по первому снимку были получены границы активатора:  $x_L = 158, x_R = 568, y = 177$  (точные данные, определенные непосредственно по рисунку  $x_L = 146, x_R = 555, y = 181$ ). Как видно, горизонтальная граница активатора определяется достаточно точно. Т.к. для самого алгоритма вертикальные границы активатора не так важны, то полученная данным алгоритмом погрешность является допустимой.

### Заключение

В ходе работы были определены границы активатора, положения фронтов сгустка, моменты начала коагуляции, фибринолиза и присоединения спонтанных сгустков.

### Литература

- [1] Hwa-Seok Lee Yoo-Sool Yoon Chang-Moon Lee June Ho Park Kyeong-Jun Mun, Hyeon Tae Kang. Active contour model based object contour detection using genetic algorithm with wavelet based image preprocessing. *International Journal of Control, Automation, and Systems*, 2:100–106, 2004.

- 
- [2] Mr. Sanjit Nandy Sushovan Mandal. Brain tumor detection using mathematical morphology and density approximation approach. *International Journal of Computer Applications (0975 - 8887)*, 71:31–34, 2013.
- [3] M.V. Wyawahare Nathanael .E. Jacob. Survey of bone fracture detection techniques. *International Journal of Computer Applications (0975 - 8887)*, 71:31–34, 2013.
- [4] Balandina AN Fadeeva OA Kretchetova AV-Galstian GM Panteleev MA Ataullakhanov FI. Soshitova NP, Karamzin SS. Predicting prothrombotic tendencies in sepsis using spatial clot growth dynamics. *Blood Coagul & Fibrinolysis*, pages 498–507, 2012.
- [5] Ataullakhanov FI. Hemker HC. Good mathematical practice: simulation of the hemostatic-thrombotic mechanism, a powerful tool but one that must be used with circumspection. *Pathophysiology of haemostasis and thrombosis*, pages 55–57, 2005.
- [6] Lipets E.N Panteleev M.A., Balandina A.N. Taskoriented modular decomposition of biological networks: trigger mechanism in blood coagulation. *Biophysical Journal*, 98:1751–1761, 2010.
- [7] <http://www.hemacore.com/>.
- [8] Rafael C. Gonzalez, Richard E. Woods, and Steven L. Eddins. Digital image processing using matlab / R.C. gonzález, R.E. woods, S.L. eddins., 2010.