

Classificação de degeneração
tecidual em paciente com
sepsis usando imagens por
Sidestream Dark field (SDF)

Jihan Mohamad Zoghbi

TESE APRESENTADA
AO
INSTITUTO DE MATEMÁTICA E ESTATÍSTICA
DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO
DE
DOUTOR EM CIÊNCIAS

Programa: Ciência da Computação
Orientador: Prof. Dr. Marcel Jackowski

Durante o desenvolvimento deste trabalho o autor recebeu auxílio financeiro da
CAPES e FAPESP (processo 2012/19738-7)

São Paulo, Junho de 2016

Classificação de degeneração tecidual em pacientes
com sepse usando imagens por *Sidestream Dark
field (SDF)*

Esta versão original de tese elaborada pela
candidata Jihan Mohamad Zoghbi, tal como
submetida à Comissão Julgadora.

Comissão Julgadora:

- Prof. Dr. Marcel Parolin Jackowski - IME-USP
- Prof. Dr. Roberto Hirata Junior - IME-USP
- Prof. Dr. Junior Barrera - IME-USP
- Prof. Dr. Ivan Hong - EPM - UNIFESP
- Prof. Dr. Fábio Sotelo - UNIFESP

Resumo

Zoghbi, M. J. Classificação de degeneração tecidual em pacientes com sepse usando imagens por *Sidestream Dark field (SDF)*. 2016. 220 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Matemática e Estatística, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

A sepse é uma infecção generalizada do organismo, caracterizada por uma resposta inflamatória sistêmica que pode levar à falência múltipla de órgãos. Para diminuir a elevada taxa de mortalidade associada aos quadros da sepse grave, faz-se necessária a detecção de alterações estruturais de tecidos e da microcirculação o mais cedo possível. O advento da técnica de imageamento por *Sidestream Dark Field (SDF)* possibilitou a identificação de alterações da microcirculação usando imagens dinâmicas de alta resolução por meio da iluminação por diodos emissores de luz. As imagens *SDF* permitem uma caracterização eficiente da arquitetura de vênulas e capilares sanguíneos, tanto em seu estado normal quanto na presença de inflamações, que estão associadas aos quadros da sepse. Neste contexto, este projeto tem como objetivo desenvolver uma metodologia automatizada de detecção e caracterização do nível de heterogeneidade da arquitetura tecidual em imagens *SDF* de pacientes com sepse. Este projeto envolve o desenvolvimento de dois modelos matemáticos: o primeiro é baseado em grafos, redes com ramificações e fractais para representar e quantificar as estruturas dos vasos sanguíneos e suas respectivas correlações com os tecidos dos órgãos com sepse. O segundo modelo matemático é baseado em extrair descritores baseados em padrões de níveis cinza e coeficientes de wavelets.

Palavras-chave: Microcirculação; sepse; processamento de imagem; métricas de grafos; coeficiente de wavelets;

Abstract

Zoghbi, M. J. **Detection and Characterization of degeneration of Micro-circulation in Patients with Sepsis Using Sidestream Dark field (SDF) Images.** 2016. 220 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Matemática e Estatística, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Real-time detection of sepsis on a video data is a new aboard technique that aids the septic patient and decreases the high mortality rate. The progressive impairment of the micro-circulation associated with increased systemic inflammatory response in sepsis has been considered the origin of the multiple organ dysfunction syndrome that often leads to death. However, despite the recognized importance of the micro-circulatory dysfunction, analysis methods able to correlate the severity of sepsis with the degree of impairment of micro-hemodynamic captured by portable microscope Side-stream Dark Field Imaging (SDF) are rarely used. Hence, the classification of the severity of sepsis by analyzing the micro-circulatory dysfunction would be of great assistance in diagnosing severity and therapeutic management. In this context, the aim of this work is to propose a new computational methodology based mathematical models: the first isa graph based methodology to obtain metrics for determining the degree of micro-vascular and tissue commitment due to sepsis. The second model is based on the extraction of a features using local patterns of gray levels e wavelets coefficients.

Keywords: Microcirculation; sepsis; image processing; graph metrics; scattering coefficients;

Conteúdo

Lista de Figuras	v
Lista de Tabelas	viii
1 Introdução	1
1.1 Considerações preliminares	1
1.2 Filosofia e motivação	2
1.3 Contribuições	6
1.4 Organização da tese	8
I Revisão bibliográfica	10
2 Revisão Bibliografica	12
II Metodologia	13
3 Materiais e Métodos	14
3.1 Coleta de imagens	14
3.2 Registro de imagens	17
3.3 Segmentação de imagens	18
3.3.1 Metodologia de segmentação de imagens de cérebro, íleo e sublingual	19
3.3.2 Metodologia de segmentação de imagens de rim e fígado . . .	22
3.4 Extração de características	25
3.4.1 Extração de características baseada em grafos	25
3.4.2 Extração de características utilizando dimensão Hausdorff . .	35

3.4.3	Extração de característica baseada em geometria planar	39
3.4.4	Extração de características utilizando propriedades de textura	43
3.5	Classificação	46
3.6	Conjuntos aleatórios fechados	47
III	Aplicações	53
IV	Considerações finais	54
4	Discussão	55
5	Metodologia	57
5.1	LBP	57
5.2	GLCM	57
5.3	Transformada de fourier	59
5.4	wavelet	59
5.5	Características	60
5.5.1	Gray-Level Co-occurrence Matrix (GLCM)	60
5.5.2	Local Binary Patterns (LBP)	66
5.5.3	Transformada Scattering	73
5.6	Método	83
5.6.1	Dados experimentais	83
5.6.2	Método de Classificação	84
5.7	Nova Abordagem:	86
5.7.1	Background	86
5.7.2	Formulação	89
5.7.3	Comparações	90
5.8	Resultados Individuais	92
5.8.1	Background	92
5.8.2	Órgão: Fígado	92
5.8.3	Órgão: Intestino	93
5.8.4	Órgão: Rim	94
5.8.5	Órgão: Sublingual	95
5.9	Resultados Grupais:	96
5.9.1	Horas × Sepse6h	96
5.9.2	Horas × Normal	97
	Bibliografia	99
A	Artigo SIBGRAPI 2014	108

Lista de Figuras

1.1	Imagens <i>SDF</i> de cima para abaixo: rim , cerebro e sublingual: (a) sem sepse e (b) com sepse.	3
1.2	Imagens <i>SDF</i> ; (a) rim, (b) fígado, (c) cérebro, (d) íleo e (e) sublingual.	8
3.1	Instrumento <i>Microscan</i> utilizado para adquirir imagens <i>SDF</i>	15
3.2	Conjunto de quadros de um vídeo <i>SDF</i> do cérebro de rato.	18
3.3	(a) Imagem (quadro) <i>SDF</i> do cérebro saudável de rato e (b) a soma das diferenças entre os quadros.	20
3.4	(a) Imagem da soma das diferenças entre os quadros suavizada usando o filtro anisotrópico e (B) e imagem limiarizada.	21
3.5	(a) Remoção de ruídos pequenos e (b) detecção de bordas usando o filtro (<i>Canny</i>).	21
3.6	(a) Linha de centro do vaso, (b) Imagem original do cérebro + Linha de centro dos vasos.	22
3.7	Imagem ilustrando as bordas do rim em tempo: (a) T_1 e (b) T_2 . Aplicando o filtro <i>Canny</i> : (c) e (d).	23
3.8	Aplicação do filtro <i>steerable</i> em imagem <i>SDF</i> do rim: (a) T_0 ; (b) T_1 ; (c) T_2 . Resultado da limiarização: (d), (e) e (f).	24
3.9	(a) linha de centro dos vasos em preto e (b) linha de centro do vaso em branco, pontos terminais em vermelho, pontos de bifurcação em verde e a borda dos vasos sanguíneos em azul.	27
3.10	Redes vasculares representadas através de grafos.	28
3.11	(a) Taxonomia Tokunaga, (b) Matriz de número de bifurcação e (c) Matriz de razão de bifurcação.	31
3.12	(a) Grafo com laço e (b) grafo sem laço.	32
3.13	Os componentes conexos são representados em grafos com cores distintas.	32

3.14	O diâmetro médio dos vasos representados pelo índice strahler N_{ij} , para os quatro períodos de sepse.	34
3.15	Valores dos índices de Tokunaga par os quatro períodos de sepse.	34
3.16	Índices de Strahler para os quatro períodos de sepse.	35
3.17	Métricas relacionadas aos informações obtidas da rede vascular (cima para baixo, esquerda para direita): (a) densidade do esqueleto, (b) componentes conexos, (c) a razão da bifurcação R_N e (d) a razão do ordem do comprimento R_L	36
3.18	Cálculo da dimensão de Hausdorff utiliznado janelas de multi-escala.	37
3.19	Dimensão de Hausdorff em imagem sem sepse (a) e em imagem simulada manualmente com sepse (b).	38
3.20	Gráfico que representa $N(s)$ versus N : (a) imagem de rede vascular sem sepse e (b) imagem da mesma rede vascular com sepse.	39
3.21	Gráfico que representa $N(s)$ versus N na escala logarítmica: (a) imagem de rede vascular sem sepse e (b) imagem da mesma rede vascular com sepse.	39
3.22	Gráfico que representa $N(s)$ versus N . A cor verde representa imagem com sepse e a cor vermelha representa imagem sem sepse : (a) gráfico com escala normal e (b) gráfico com escala logarítmica.	40
3.23	40
3.24	Calcular o diâmetro médio dos vasos (DMV).	41
3.25	Área de uma partição dos vasos representada na cor cinza.	43
3.26	Diâmetro, área e volume de uma partição dos vasos em unidade de pixel.	44
3.27	Matriz de co-ocorrência de uma imagem de 8 níveis de cinza.	45
3.28	As propriedades estatísticas de matriz de co-ocorrência para imagem com sepse e sem sepse.	47
3.29	Mapa de Contraste, Correlação, Energia e Homogeneidade (cima para baixo) para: (a) a imagem sem sepse e para (b) imagem com sepse.	48
3.30	50
3.31	Número de partições em duas posições distintas X e Y versus o número de imagens das três formas: (a) losango na posição X , (b) cruz na posição X , (c) linha na posição X , (d) losango na posição Y , (e) cruz na posição Y e (f) linha na posição Y	51
3.32	As diferenças entre as distribuições de dois grupos de imagens consecutivos das seguintes formas: (a) losango na posição X , (b) cruz na posição X , (c) linha na posição X , (d) losango na posição Y , (e) cruz na posição Y e (f) linha na posição Y	52
5.1	Exemplo de filtros de <i>wavelets</i> ($\Psi_{512 \times 512}$) de resolução 512×512 com 4 orientações diferentes. (A visualização corresponde à parte real dos valores)	81

5.2 Exemplo de filtros de *wavelets* ($\Psi_{512 \times 512}$) de resolução 512×512 , da sétima escala, com 6 orientações diferentes. (A visualização corresponde à parte real dos valores) 81

5.3 Coeficientes de *scattering*: (a) Imagem intestino (512×512), (b) Coeficientes da 1ª ordem e (c) Coeficientes de 2ª ordem 82

Lista de Tabelas

3.1	Taxonomia Tokunaga do grafo 1.	32
3.2	Taxonomia Tokunaga do grafo 2.	33

Introdução

Neste capítulo apresentamos a definição de sepse e o problema de identificação de sepse na fase inicial em pacientes com sepse. O capítulo está dividido em quatro partes: em Considerações preliminares, apresentamos uma definição detalhada do sepse e seu impacto na área de saúde; em Filosofia e motivação, apresentamos a ideia principal de doutorado e motivação desse trabalho; em Contribuições, citamos as principais contribuições deste trabalho e na última seção, apresentamos a organização da tese.

1.1 Considerações preliminares

Sepse é uma infecção geral grave do organismo ocasionada por germes patogênicos e está associada à alta mortalidade de pacientes, apesar dos avanços da medicina. Mecanismos múltiplos podem causar a disfunção dos órgãos associados à sepse, os quais são relacionados à alteração da perfusão do tecido e à alteração do metabolismo celular, especialmente na fase inicial da doença [De Backer *et al.*, 2011]. O processo inflamatório causa uma dilatação dos vasos, levando a uma queda abrupta da pressão arterial, o que caracteriza o estado de choque circulatório (nesse caso específico, é chamado de "choque séptico"). Ainda nos vasos, onde os sintomas da

sepsis são observados, ocorre um aumento da permeabilidade, facilitando o extravasamento de líquidos para órgãos, causando até a formação de edemas e inundação dos pulmões, levando à insuficiência respiratória em alguns casos, com a necessidade de ventilação mecânica (respiração por aparelhos) [Pinheiro, 2011].

Além disso, esse extravasamento pode causar deficiência no fornecimento de oxigênio para as células, causando uma degeneração do tecido nas regiões onde há disfunção da microcirculação [Ince, 2005; Koh *et al.*, 2010]. Quando a sepsis é diagnosticada no estágio inicial, há uma possibilidade elevada de se diminuir significativamente a taxa de mortalidade, fato relevante especialmente em se tratando dos hospitais públicos do Brasil. Onde a taxa de mortalidade é elevada em função do diagnóstico tardio.

1.2 Filosofia e motivação

A identificação da sepsis por imagens *SDF* é uma técnica recente que promete progresso em relação ao diagnóstico inicial do processo inflamatório na microcirculação e nos tecidos afetados. A Figura 1.1 (a) mostra a imagem de um rim saudável. Nessa imagem podem-se observar as estruturas dos vasos bem conservadas, enquanto que a Figura 1.1 (b) mostra a imagem de um rim com sepsis, cujas estruturas dos vasos sanguíneos estão deterioradas, se comparadas com a Figura 1.1 (a). Além disso, quando se observa o órgão através de um vídeo *SDF*, nota-se que a circulação nos vasos sanguíneos tem mais fluidez na Figura 1.1 (a) do que na Figura 1.1 (b). Essas observações também são verdadeiras para as imagens de: fígado, íleo, cérebro e sublingual.

Nos últimos anos, foram documentados na literatura várias abordagens sobre a

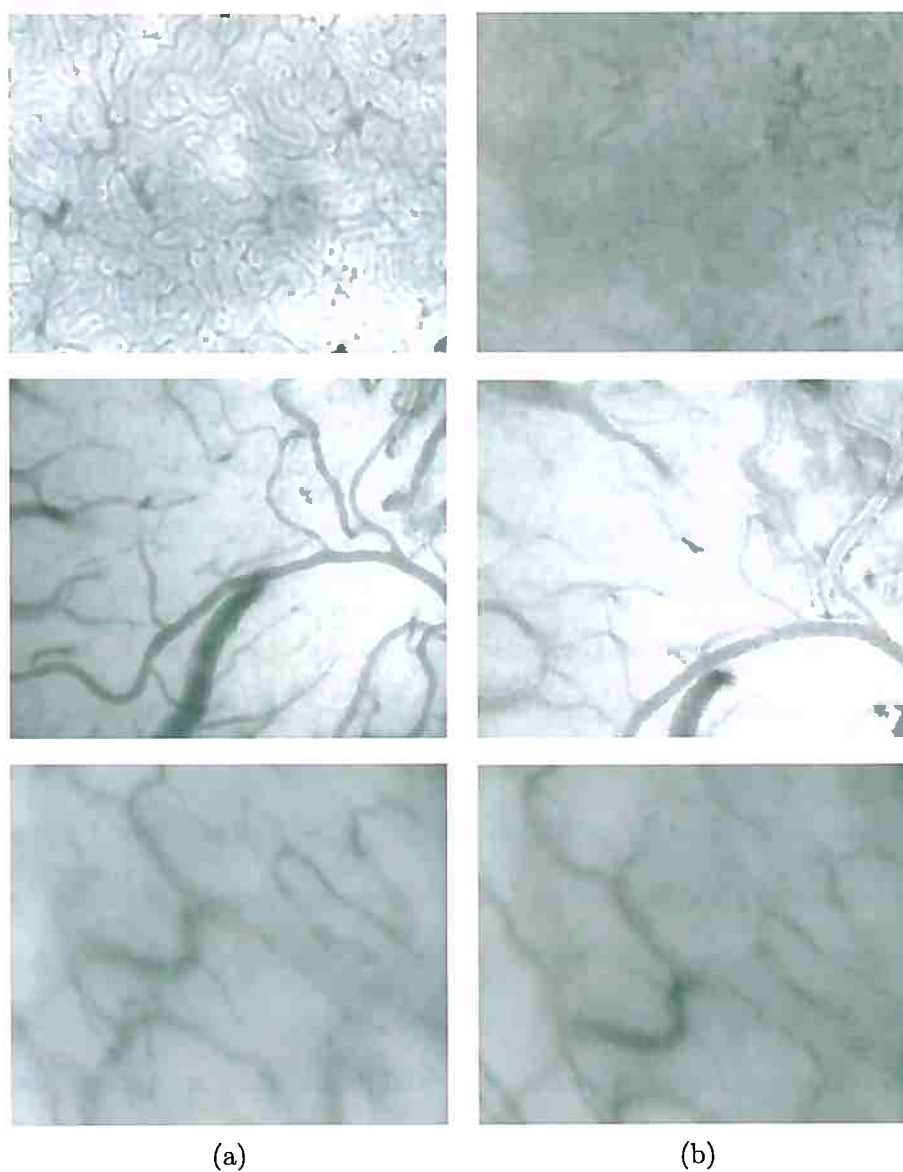


Figura 1.1: *Imagens SDF de cima para abaixo: rim , cerebro e sublingual: (a) sem sepse e (b) com sepse.*

análise das propriedades da microcirculação sanguínea para detectar sepse em sua fase avançada; porém, ainda não é possível evitar óbitos, pois essa fase é tardia para a recuperação do paciente [Bezemer *et al.*, 2011; De Backer *et al.*, 2011; Goedhart *et al.*, 2007; Sakr, 2011]. Aplicando-se técnicas de processamento de imagem espera-

se descobrir a presença da sepse em pacientes na sua fase inicial, quando é possível evitar a alta porcentagem de óbitos que ocorrem atualmente, sobretudo nos hospitais do Brasil. Segundo os pesquisadores do Laboratório de Pesquisa Experimental, do Departamento de Medicina da Escola Paulista de Medicina - UNIFESP, a porcentagem dos pacientes que entram em óbito devido à sepse é 30% mais alta nos hospitais públicos do que nos hospitais privados, no Brasil [Reinaldo, 2008]. No Brasil, estudo recente realizado em hospitais públicos mostrou um índice de mortalidade de aproximadamente 67% de pacientes adultos internados com sepse e/ou choque séptico, demonstrando que esta doença consiste em um problema social grave. Além disso, um em cada dois pacientes com sepse grave e choque séptico morre. Tal fato mostra a necessidade contínua de investigação para a descoberta de novos métodos de auxílio ao diagnóstico da sepse [Reinaldo, 2008].

Recentemente a sepse foi redefinida como uma doença que leva a disfunção de órgãos, com ameaça a vida, devido à resposta desregulada do hospedeiro frente a uma infecção sistêmica. Para este diagnóstico, os clínicos utilizam o score *SOFA* (*Sequential Organ Failure Assesment*) que consiste numa escala de variação de zero a quatro, conforme exame clínico e laboratorial do paciente, referente a coagulação sanguínea, avaliação renal, hepática, respiratória, cardiovascular e do sistema nervoso central. O choque séptico também recebeu uma nova definição que consiste em um quadro de sepse onde o indivíduo apresenta anormalidades circulatórias e do metabolismo celular profundas, suficientes para aumentar a mortalidade de forma substancial. São indivíduos que apresentam hipotensão, com necessidade de vasopressores para manter a pressão arterial média maior ou igual a 65mmHg e que apresentando valor de lactato maior que 2mmol/L , mesmo com volume de ressuscitação adequado [M *et al.*, 2016]. Os tratamentos atuais baseiam-se principalmente no

reconhecimento precoce da doença, permitindo a inserção de medidas terapêuticas como a administração dos antibióticos adequados, controle de origem e reanimação com fluidos e drogas vasoativas quando necessário.

A disfunção endotelial e a redução do fluxo microcirculatório são importantes aspectos na fisiopatologia da sepse. As persistências de alterações microvasculares estão associadas à disfunção de órgãos e morte dos pacientes, devido às alterações da extração de oxigênio, hipóxia celular e tecidual, com falência de órgãos. A disfunção microcirculatória ocorre de forma precoce na sepse, e pode estar presente mesmo quando os parâmetros da macro-hemodinâmica estão aceitáveis. Desta forma, para os clínicos e intensivistas, ter conhecimento do grau de disfunção microcirculatória que o paciente apresenta é de extrema importância para o diagnóstico do grau de acometimento da doença, tratamento adequado e diminuição da morbidade mortalidade. O Microcirculation Analysis System (MAS), acoplado ao equipamento *SIDESTREAM DARKFIELD IMAGING*, é o principal método de visualização e análise da microcirculação na clínica e em estudos experimentais. Atualmente, tem sido utilizado na região sublingual principalmente em UTIs, com o intuito de diagnosticar o estágio da disfunção microcirculatória e assim prever a evolução clínica e/ou para avaliar o benefício da terapêutica utilizada, principalmente nas fases de sepse grave e choque séptico. No entanto, ainda existem muitas dúvidas se as alterações observadas na microcirculação sublingual refletem os danos microcirculatorios de outros órgãos, bem como se o software de análise é capaz de detectar as alterações microcirculatória precoces na doença, bem como os estágios de disfunção que acompanham a evolução da doença. Muitos estudos experimentais tem mostrado que a sepse provoca alterações microcirculatórias de forma bastante precoce em diferentes órgãos como intestino, fígado, coração, pele, músculos, cérebro. Estas alterações são caracterizadas pela heterogeneidade da perfusão nos tecidos que, com a evolução da

doença, regiões de pouca ou nenhuma perfusão vão sendo cada vez mais frequentes.

Por outro lado, em humanos estes estudos são limitados, devido à ausência de técnicas não invasivas que possam medir a perfusão microcirculatória de órgãos internos. Pelo nosso conhecimento, não existem na literatura para o tratamento da sepse abordagens que utilizem processamento de imagens para detecção e análise de tecidos.

1.3 Contribuições

O principal objetivo deste projeto de doutorado é desenvolver uma abordagem computacional para a detecção de desarranjos nas estruturas dos tecidos em nível de microcirculação (padrão de heterogeneidade da arquitetura tecidual) a partir de imagens *SDF* de órgãos (cerebro, fígado, rim, ileo e sublingual) de pacientes com sepse. Para alcançar esse objetivo, o trabalho compreende as seguintes contribuições:

- I - Coleta de imagens *SDF* de órgãos (cerebro, fígado, rim, ileo e sublingual) de ratos por meio do equipamento *Microscan*, isso é feito pelo Colaboradores do Laboratório de Pesquisa Experimental do Departamento de Medicina da Escola Paulista de Medicina - UNIFESP;
- II - Avaliar a viabilidade de diagnosticar o sepse usando imagens *SDF*. Imageamento por *SDF* é uma técnica de imageamento recente e sua importância e aplicabilidade serão ainda exploradas. Neste trabalho, mostaremos que essa modalidade de imagens pode ajudar a detectar o sepse.
- III - Detecção das estruturas dos tecidos e dos vasos das imagens *SDF* cerebrais com sepse e sem sepse. Foram utilizados os filtros de detecção de bordas como *Canny* [Canny, 1986] e operadores matemáticos morfológicos;

- IV - Criação de medidas que indiquem o nível da sepse. Isso será possível usando-se um modelo estatístico e algumas propriedades dos grafos, gerados de acordo com o citado no item anterior, para analisar alterações estruturais na microcirculação ao longo da evolução da sepse. Neste trabalho, usamos as taxonomias: Tokunaga e Strahler. Também aplicamos geometria planar para o cálculo de algumas medidas dos vasos como diâmetro médio, área e volume;
- V - Extração de descritores baseados em padrões de níveis de cinza e coefficients de wavelets. Esses descritores são extraídos de imagens de fígado, rim, ileo e sublingual de períodos distintos: sem sepse, 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 5 horas e 6 horas.
- VI - Criação de um classificador para separar as estruturas dos vasos sanguíneos dos tecidos, nas imagens *SDF* dos períodos citados no item anterior.
- VII - Desenvolvimento de software com a funcionalidade baseada na metodologia proposta e sua integração à plataforma Medsquare (uma plataforma livre, desenvolvida pelo grupo de imagens médicas no IME-USP)¹.

Neste projeto, serão utilizadas imagens de: rins, fígado, sublingual, cérebro e ileo de ratos, para fins de pesquisa conforme a Figura 1.2. A partir dessas imagens, a detecção de anormalidades auxiliará o médico a visualizar as alterações nas áreas afetadas por sepse, observando-se os efeitos dessa doença no nível de microcirculação nos órgãos, além de possibilitar o acompanhamento da evolução da doença com o intuito de evitar óbitos em pacientes internados [Sakr, 2011].

¹<http://www.medsquare.org>

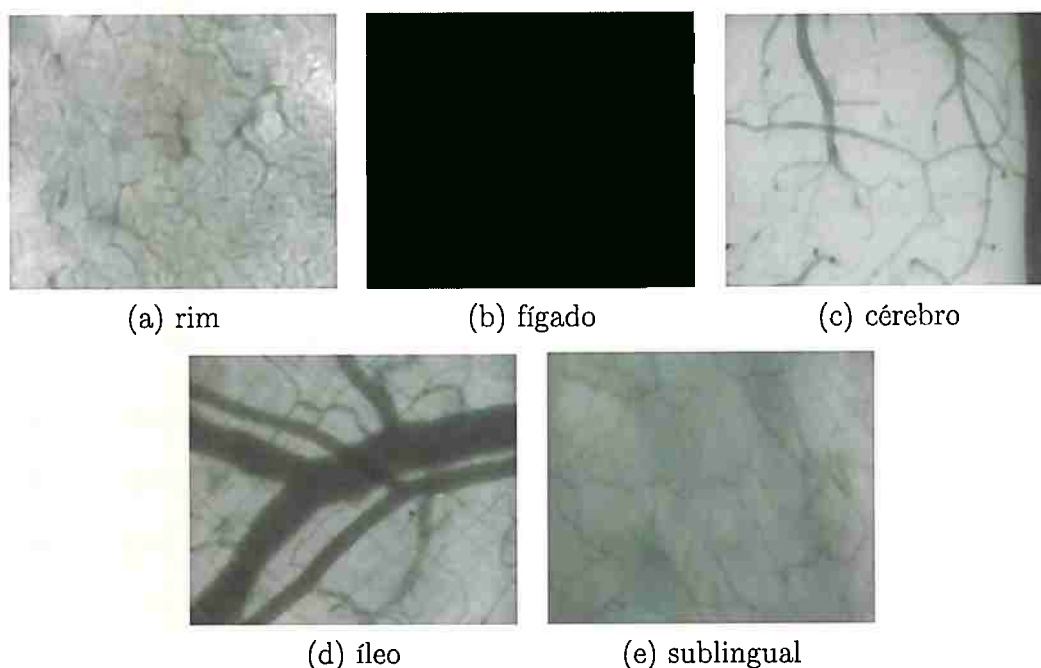


Figura 1.2: *Imagens SDF; (a) rim, (b) fígado, (c) cérebro, (d) íleo e (e) sublingual.*

1.4 Organização da tese

A tese esta dividida em quatro partes:

1. A Part I é dedicada a revisão da literatura sobre os trabalhos relacionados a este projeto.
2. Na Part II a metodologia desenvolvida, juntamente com as técnicas envolvidas, são descritas em detalhes. No capítulo 3, descrevemos os materiais e as metodologias utilizadas para alcançar os objetivos do trabalho.
3. Na Part III refere-se á apresentacao dos resultados obtidos com aplicação do metodo desenvolvida.

Capítulo 4 discutimos os resultados obtidos até o momento bem como as dificuldades enfrentadas ao longo do trabalho

4. A Part IV conclui esta tese com os comentários finais e a descrição de alguns trabalhos futuros.

Ademais, estão relacionados ao final do texto todos os trabalhos publicados em congressos resultantes desse trabalho.

Parte I

Revisão bibliográfica

Nesta parte fazemos um apanhado da literatura sobre métodos relacionados ao diagnóstico de sepse. Existe uma vasta literatura nacional e internacional que trata a detecção da sepse em paciente usando métodos clínicos e esporadicamente alguns estudos utilizando segmentação de imagens para identificar sepse. Primeiramente são revisados trabalhos que usam métodos clínicos para detectar e tratar pacientes com sepse. Em seguida, são apresentados trabalhos de estado do arte envolvendo detecção de sepse usando imagens SDF. Por fim, as limitações encontradas em métodos existentes são apontadas e o método sugerido desse trabalho para superar essas limitações é apresentado.

Revisão Bibliografica

Automated Vascular Analysis (AVA)—also known as MAS (Microvascular Analysis Software, Microvision Medical BV)—is the most current commercial software tool developed by Dobbe et al [24] for analysis of microcirculation videos. The method is the most accurate among the existing systems and performs a semi-automated process based on image stabilization, centerline detection and space time diagram. Despite all the capabilities provided by AVA, it does not provide full automation which leaves the burden of selecting the areas of interest, configuration, initialization, filtering of many false positives, dealing with many false negatives, and addressing of connectivity to the user. In addition, according to the developers of AVA, the software provides neither automatic vessel detection nor vessel diameter and blood flow calculation [24]. The system, while an improvement, requires manual editing which can take over 20 minutes for a typical video sequence. [Demir *et al.*, 2012; ?]

Parte II

Metodologia

Materiais e Métodos

Desde março de 2012, imagens *SDF* estão sendo adquiridas com nosso acompanhamento, por meio do equipamento *Microscan* no Laboratório de Pesquisa Experimental do Departamento de Medicina da Escola Paulista de Medicina - UNIFESP. Essas imagens, por sua vez, têm sido analisadas utilizando-se técnicas de processamento de imagens, reconhecimento de padrões e de visão computacional e metodologias usando grafo [Costa & Jr., 2001; Duda *et al.*, 2000; Fukunaga, 1990; Lowe, 1985; Lugosi *et al.*, 1996; Palmer, 1999; Umbaugh, 2005]. Essa análise de imagens é dividida em cinco etapas: coleta de imagens, registro de imagens, segmentação de imagens, extração de características e classificação. Neste Capítulo, vamos descrever as cinco etapas.

3.1 Coleta de imagens

A aquisição das imagens *SDF* é feita usando-se um aparelho de captura de imagens por vídeo chamado *Microscan*. Essa captura é mostrada na Figura 3.1, e utiliza o software *AVA (Automated Vascular Analysis)* desenvolvido pelo *Micro Vision Medical Inc.*, de Amsterdã, Holanda¹. Nesse aparelho, as imagens são baseadas em

¹www.microvisionmedical.com

Orthogonal Polarization Spectral (OPS) imaging. O protocolo experimental seguiu os critérios definidos pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), CEUA N 5854121115.

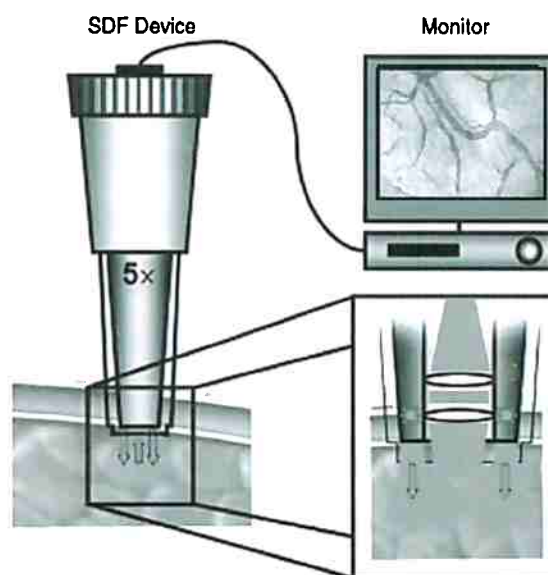


Figura 3.1: Instrumento Microscan utilizado para adquirir imagens SDF.

Em imagens por *SDF*, a iluminação é fornecida pela luz central guiada pela concentração de diodo, emissor de luz (*Light Emitting Diode* - LED). O sistema de lentes no núcleo da guia de luz é opticamente isolado da iluminação do anel exterior, impedindo, assim, que a imagem da microcirculação seja contaminada por reflexões da superfície do tecido. A luz proveniente do núcleo iluminante exterior da sonda do *SDF* penetra no tecido e ilumina a região dentro da microcirculação por espalhamento. Os LEDs emitem luz a um comprimento de onda central de $530nm$, escolhido para corresponder a um ponto isobéptico nos espectros de absorção de oxihemoglobina e desoxihemoglobina, a fim de garantir uma absorção óptica ótima pela hemoglobina nas hemácias, independentemente do seu estado de oxigenação. Esse processo leva a uma imagem em que os glóbulos vermelhos são vistos como glóbulos escuros em movimento contra um fundo branco ou cinza. Para melho-

rar a imagem de estruturas em movimento, como a fluidez das hemácias, os LEDs fornecem iluminação pulsada em sincronia com a taxa de quadros CCD para realizar estroboscopia intravital. Essa imagem estroboscópica evita parcialmente a ocorrência de manchas nas estruturas em movimento, tais como os glóbulos vermelhos [De Backer *et al.*, 2012; Goedhart *et al.*, 2007].

As imagens utilizadas em nossa pesquisa são imagens de órgãos (fígado, rim e íleo), cérebros e sublingual de ratos, nos quais foi introduzida uma bactéria para induzir a sepse. A amostra bacteriana de *E. coli* R – 6 (*Escherichia coli*) a ser utilizada nos grupos de experimento para o estudo da sepse foi isolada de um rato submetido a antibioticoterapia prolongada. Serão utilizados ratos *Wistar-EPM*, de ambos os sexos, com peso entre 200 e 250g, com idade aproximada de 3 meses, procedentes do biotério central da UNIFESP–Escola Paulista de Medicina. Caso seja necessária a validação dos achados em animais de médio porte, os experimentos considerados essenciais serão realizados em porcos. O *Microscan* tem uma lente que é ajustada à superfície de interesse aproximadamente a $1000\mu \times 750\mu\text{m}$ do órgão, com profundidade de 1mm, para se adquirir um vídeo do tipo AVI ou MPEG com intervalo $[0, 255]$ em níveis de cinza. Um exemplo dessa imagem pode ser visto na Figura 1.1. Precisa-se ajustar também a iluminação produzida pelo aparelho para não haver interferência na qualidade do vídeo produzido durante a captura da imagem. A profundidade do posicionamento do *Microscan* e a iluminação produzida durante o processo de aquisição das imagens podem comprometer os resultados do pós-processamento dessas imagens. Além disso, é necessário calibrar o equipamento, ajustando-se os parâmetros das coordenadas x e y , as quais variam de acordo com o tamanho do pixel das imagens de vídeo adquiridas.

As imagens dos órgãos e sublingual foram adquiridas em três tempos diferentes de indução da sepse nos ratos: T_0 , tempo inicial antes de induzir a bactéria que causa

a sepse; T_1 , após 2 horas da indução da sepse; e T_2 , após 6 horas da indução da sepse. O tecido e os vasos sanguíneos têm um certo padrão nas imagens de órgãos sem sepse (Figura 1.1(a)). Esse padrão é alterado na presença de sepse, como observado nas Figuras 3.7 (b) e (c). Quando ocorre sepse no corpo dos pacientes, a quantidade de vasos é alterada, causando simultaneamente uma alteração ou um desarranjo nos padrões das estruturas dos tecidos ao redor dos vasos. As imagens do cérebro foram adquiridas em quatro tempos: T_0 , sem sepse; T_1 , 1h de sepse; T_3 , 2:30h de sepse; e T_4 , 5h de sepse.

3.2 Registro de imagens

Como mencionamos anteriormente, a coleta de imagens é feita com o equipamento *Microscan*. O profissional necessita de bastante cuidado para evitar a produção de artefatos de movimento involuntários. Ademais, os órgãos investigados podem também sofrer movimentação fisiológica, já que o animal está vivo, sob efeito de anestesia. Tais movimentações geram alguns artefatos na coleta da imagem. Para solucionar esse problema, o vídeo obtido necessita passar por um processo de alinhamento geométrico (i.e. registro) entre os seus quadros. Um levantamento bibliográfico foi feito para examinar os métodos de registro de imagens e de vídeos [A. & Song X., 2010; A. & X., 2009; Myronenko A. & J., 2007a,b, 2009; Song X.B. & J., 2006; Zitova & Flusser, 2003]. Inicialmente, o vídeo adquirido pelo equipamento *Microscan* foi dividido em quadros para poder ser transformado em imagens 2D de tipo PNG, em que a diferença temporal entre quadros é de 15ms. Aplicamos as seguintes técnicas de alinhamento entre pares de imagens (quadros) consecutivos: soma das diferenças quadradas, coeficiente de correlação, soma das diferenças absolutas, informação mútua e minimização de complexidade residual [A. & Song X.,

2010; Zitova & Flusser, 2003]. Comparando-se os resultados de alinhamento dessas técnicas, a técnica de alinhamento usando informação mútua mostrou o resultado mais satisfatório. A teoria das técnicas de registro está fora do escopo deste trabalho.

3.3 Segmentação de imagens

Primeiramente, tem-se um vídeo obtido dos quadros alinhados conforme descrito na seção 3.2. Esse vídeo representa uma coleção de observações (quadros), tal como exibido na Figura 3.2,

$$V(T) = \sum_{t=1}^{T/15} X_t, \quad (3.1)$$

em que $X_1, X_2, \dots, X_{T/15}$ são os quadros, T é a duração do vídeo em segundos, e $T/15$ é a duração do vídeo em segundos dividida por 15. Nesse caso, a diferença entre os quadros é de 15ms.



Figura 3.2: Conjunto de quadros de um vídeo SDF do cérebro de rato.

Como mencionamos na seção 3.1, serão utilizadas imagens de rins, fígado, sublingual, cérebro e íleo de ratos. Devido à heterogeneidade entre as microestruturas desses órgãos, metodologias distintas serão utilizadas. A seguir, introduzimos: uma

metodologia para analisar imagens de cérebro, sublingual e íleo, por possuírem microestruturas semelhantes (Figura 1.2 (c), (d) e (e)), e uma metodologia para analisar imagens de rins e fígado. As seguintes ferramentas e linguagem de programação são utilizadas:

1. Qt Creator [Nokia, 2012] é uma IDE multi-plataforma que traz consigo a Qt SDK. O pacote da IDE Qt Creator oferece desenvolvimento de aplicações multi-plataforma de maneira fácil e rápida.
2. Python [Software Foundation, 1990–2008] é uma linguagem de programação dinâmica orientada a objetos, distribuída sob uma licença de código aberto, que pode ser usada para diversos tipos de desenvolvimento de *software*.
3. OpenCV (*Open Source Computer Vision*) [Bornet, 2008] é uma biblioteca de funções principalmente voltadas para visão computacional em tempo real.
4. O Matlab é um ambiente de programação para desenvolvimento de algoritmos, análise de dados, visualização e cálculo numérico. Usando MATLAB, problemas de computação técnica podem ser resolvidos mais rápido do que com linguagens de programação tradicionais, como C, C++ e Fortran.
5. Mmorph (*SDC Morphology Toolbox for MATLAB*) [Systems, 2008] é uma coleção poderosa das ferramentas mais atuais de morfologia em escala de cinza que podem ser aplicadas para segmentação de imagens, filtragem não linear, reconhecimento de padrões e análise de imagens.

3.3.1 Metodologia de segmentação de imagens de cérebro, íleo e sublingual

Dividimos o processo de segmentação de imagem em várias etapas:

1. Calculamos a soma das diferenças entre os quadros consecutivos - Figura 3.3:

$$F(x, y) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{n-1} (X_{i+1} - X_i) \quad (3.2)$$

em que $F(x, y)$ representa o valor de cinza do pixel em um quadro T_i , n é o número de quadros, e N é um fator de normalização. Observamos, na Figura 3.3, que a soma das diferenças ressalta os vasos sanguíneos.

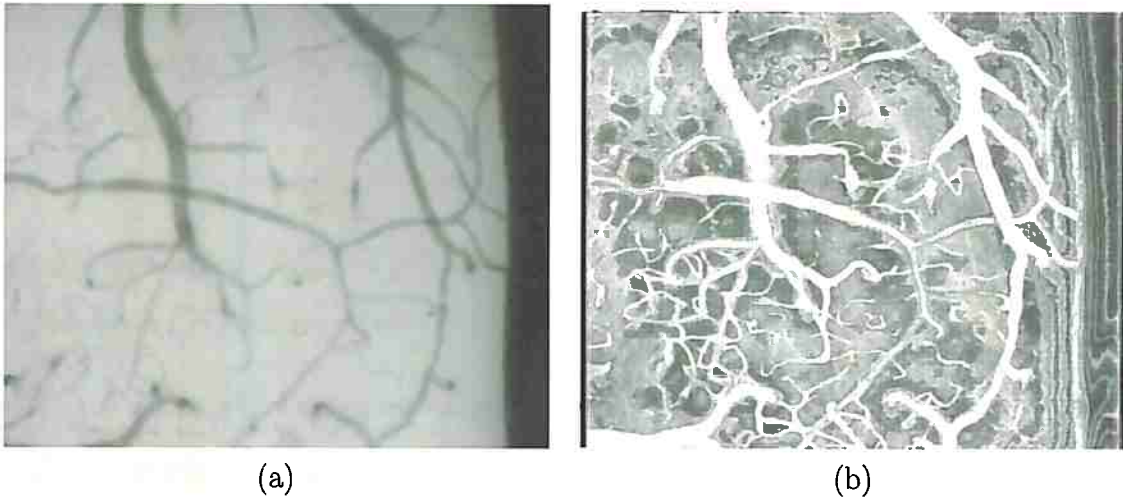


Figura 3.3: (a) Imagem (quadro) SDF do cérebro saudável de rato e (b) a soma das diferenças entre os quadros.

2. Nesta etapa, segmentamos a imagem em duas partes: o objeto que representa os vasos sanguíneos, e o fundo, que representa o tecido que não é vaso. Primeiramente, aplicamos um filtro anisotrópico para suavizar as imagens [Perona & Malik, 1990]. Após, calculamos a área do histograma da imagem suavizada e determinamos empiricamente um limiar correspondente a 30% da área do histograma para segmentar os vasos (Figura 3.4 (b)).
3. Para remover o ruído da imagem segmentada na Figura 3.4 (b) extraímos todos os componentes conexos que têm área menor que 40 pixels (Figura 3.5

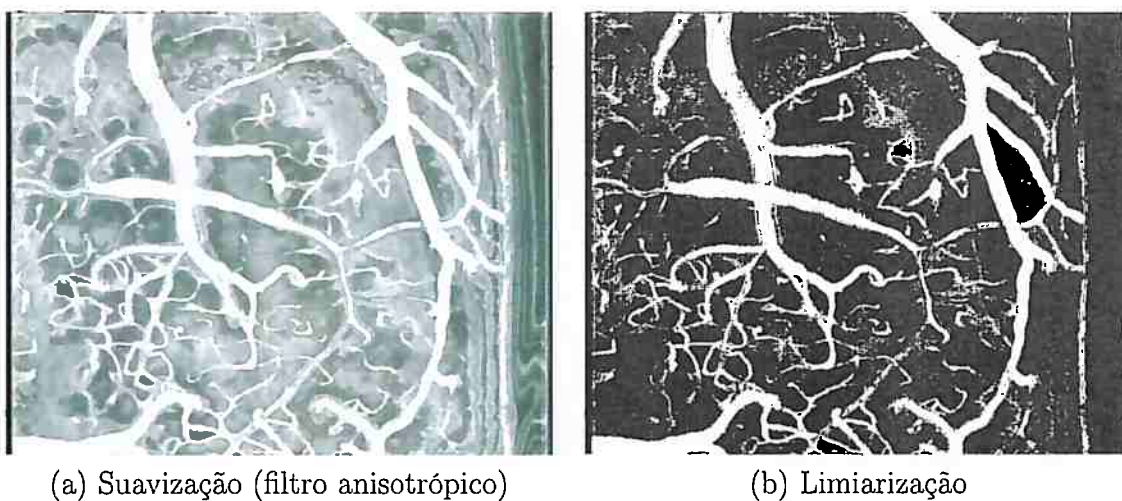


Figura 3.4: (a) Imagem da soma das diferenças entre os quadros suavizada usando o filtro anisotrópico e (B) e imagem limiarizada.

(a)). Em seguida, aplicamos o filtro Canny para extrair as bordas dos vasos (Figura 3.5 (b)).

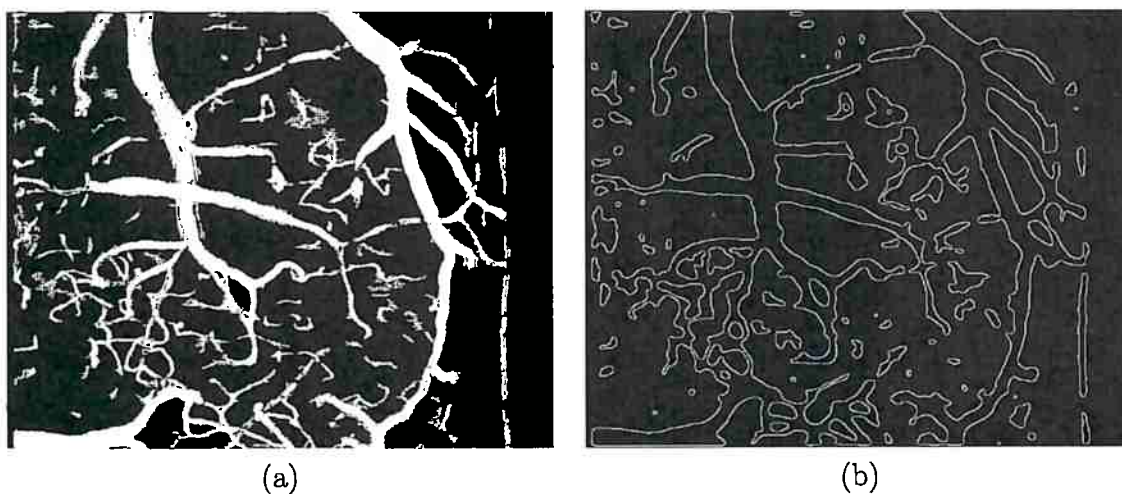


Figura 3.5: (a) Remoção de ruídos pequenos e (b) detecção de bordas usando o filtro (Canny).

4. Aplicamos o algoritmo de refinamento [Lam *et al.*, 1992] para as bordas do vaso, como mostra a Figura 3.5(b).

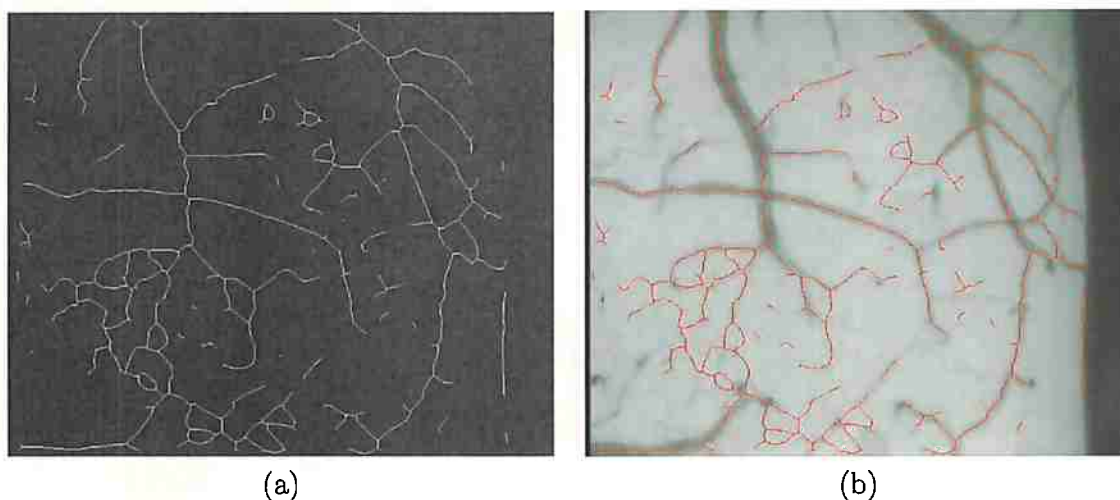


Figura 3.6: (a) *Linha de centro do vaso*, (b) *Imagem original do cérebro + Linha de centro dos vasos*.

3.3.2 Metodologia de segmentação de imagens de rim e fígado

A princípio, são escolhidas aleatoriamente três imagens dos vídeos com sepse induzida, nos tempos T_0 , T_1 e T_2 , respectivamente. Aplicamos algumas técnicas de processamento de imagens para detectar alterações nas estruturas dos vasos nos três tempos. Primeiramente, foi aplicado o filtro *Canny*, que consiste em um algoritmo de detecção de borda, conhecido por muitos como o detector de bordas ótimo [Canny, 1986]. O detector de bordas *Canny*, inicialmente suaviza a imagem para eliminar o ruído. Em seguida, é calculado o gradiente da imagem para destacar regiões com altas derivadas espaciais, suprimindo qualquer pixel que não esteja no seu gradiente máximo. A matriz de gradiente é agora ainda mais reduzida por histerese. Nas Figuras 3.7 (a) e (b), mostramos as bordas dos vasos sanguíneos de imagens com sepse de tempo T_1 e T_2 ; observa-se que a quantidade de vasos sanguíneos é menor em imagem com sepse de tempo T_1 .

Nas Figuras 3.7 (c) e (d), mostramos as bordas dos vasos sanguíneos de imagens sem sepse e com tempo T_1 e T_2 da sepse; observa-se que a quantidade de vasos

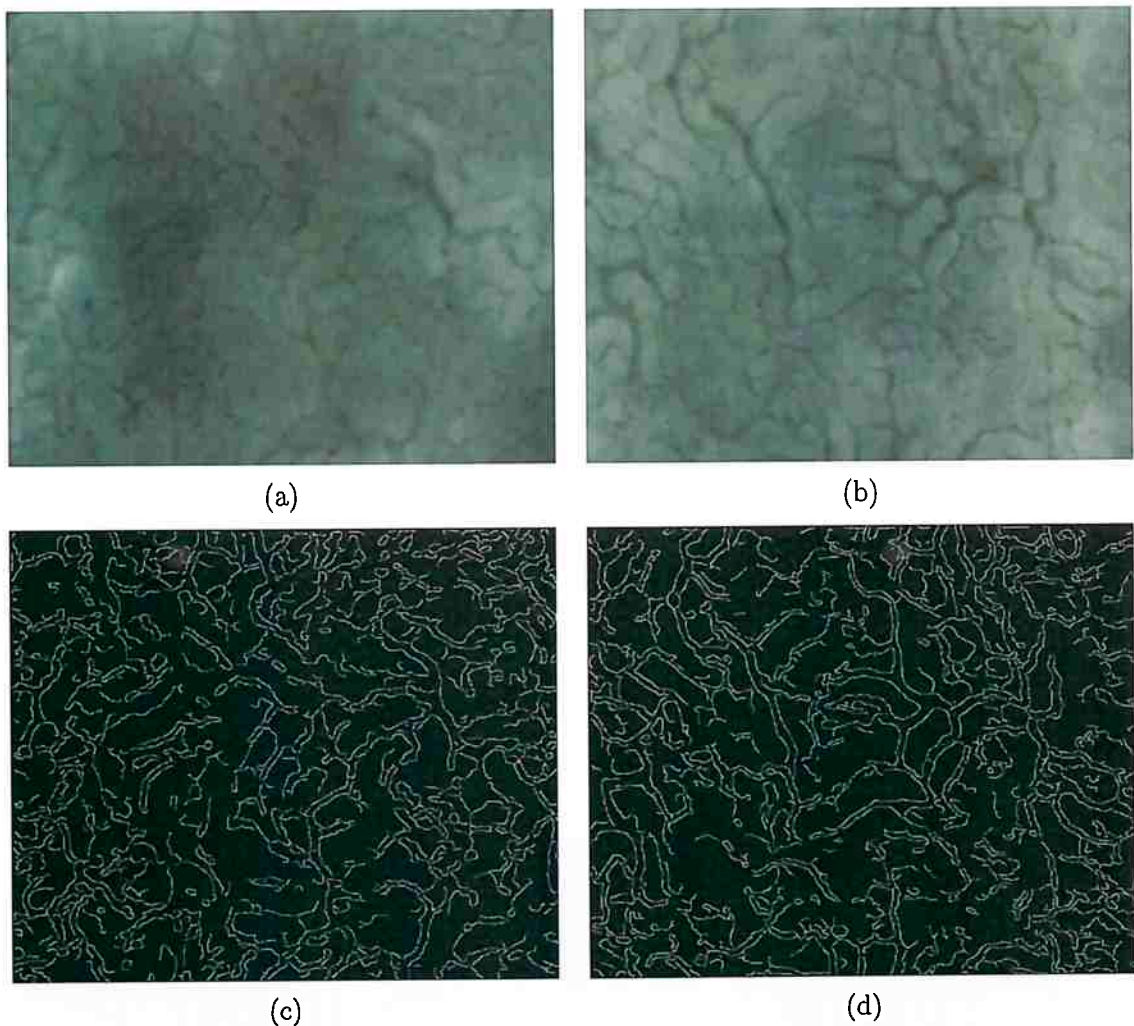


Figura 3.7: Imagem ilustrando as bordas do rim em tempo: (a) T_1 e (b) T_2 . Aplicando o filtro Canny: (c) e (d).

sanguíneos é menor com sepse de tempo T_1 e T_2 . A diminuição da quantidade de bordas que representam os vasos sanguíneos indica que alguns vasos foram rompidos devido à sepse, a qual causa uma degeneração e um desarranjo nos tecidos ao redor dos vasos. Esse processamento foi apenas uma iniciativa para nos familiarizarmos com as imagens e analisarmos visualmente as alterações nas estruturas dos vasos sanguíneos e dos tecidos.

Também foi aplicado o filtro *steerable* (Figura 3.8), que é um detector de bordas

em 2D, no qual uma classe de funções *steerable* baseada na otimização de um modelo tipo Canny [Jacob & Unser, 2004]. Esses filtros possuem expressões fechadas, e fornecem operadores que possuem uma seletividade de orientação melhor do que os detectores clássicos baseados na matriz Hessiana. Para se obter um detector de bordas, são usadas derivadas de alta ordem da Gaussiana, como mostrado nas Figuras 3.8 (d),(e) e (f). Um limiar deve ser aplicado ao resultado final para a obtenção de uma imagem binária, a fim de serem mostradas as bordas dos vasos (Figuras 3.8 (g),(h) e (i)). Esse limiar, assim como nos outros detectores, também controla a precisão da detecção. Uma implementação desses filtros está disponível como *plugin* para o programa ImageJ [Abramoff *et al.*, 2004]. Após a aplicação do limiar no resultado do filtro *steerable* percebemos que a quantidade de bordas dos vasos detectados é menor conforme o avanço da sepse nos tempos T_0 , T_1 , T_2 . Verificamos esse resultado na terceira linha das Figuras 3.8 (g), (h) e (i).

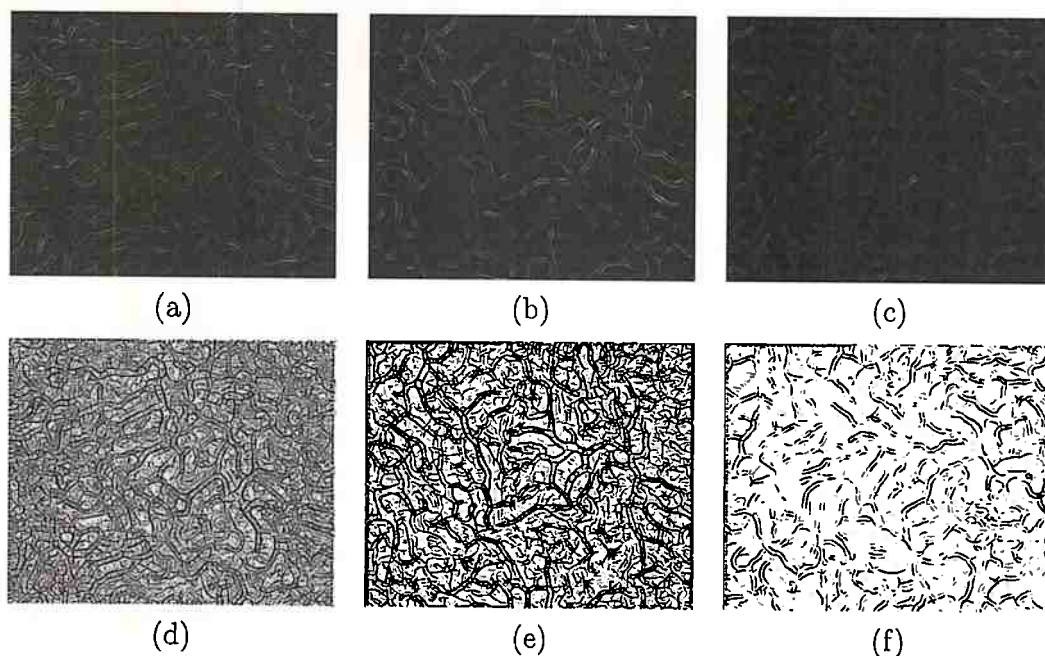


Figura 3.8: Aplicação do filtro *steerable* em imagem SDF do rim: (a) T_0 ; (b) T_1 ; (c) T_2 . Resultado da limiarização: (d), (e) e (f).

O processo de segmentação é importante em imagens com sepse para que se possa separar os vasos dos tecidos; usando abordagens eficientes podemos distinguir nessas imagens o que é vaso do que é tecido. Atualmente estamos estudando bibliografias que envolvem a aplicação de variáveis, de vetores, de campos e de conjuntos aleatórios em processamento de imagens. Trabalhos recentes mostraram que, usando informações estatísticas, *a priori*, das imagens, é possível obter melhores resultados quando comparados aos métodos tradicionais [Balafar *et al.*, 2008; Shen *et al.*, 2009].

3.4 Extração de características

Nessa seção tratamos de quatro metodologias de extração de características: extração de características baseada em grafos (subseção 3.4.1), extração de características utilizando dimensão Hausdorff (subseção 3.4.2), extração de característica baseada em geometria planar (subseção 3.4.3) e extração de características utilizando propriedades de textura (subseção 3.4.4).

3.4.1 Extração de características baseada em grafos

A extração de características discriminativas é essencial para facilitar o trabalho do classificador. O principal objetivo dessa extração é especificar um objeto para ser reconhecido por medidas cujos valores são similares para objetos da mesma categoria e diferentes para objetos de categorias distintas [Duda *et al.*, 2000]. Existem alguns trabalhos que utilizam uma combinação de grafos e propriedades estatísticas para extrair estruturas finas, as quais possuem propriedades semelhantes às dos vasos sanguíneos [Falcão *et al.*, 2004; Greig *et al.*, 1989; Perciano *et al.*, 2011; Qiu & Hancock, 2006; Tupin *et al.*, 2002, 1998]. Neste trabalho é possível extrair algumas características dos vasos e dos tecidos, tais como: diâmetro e comprimento

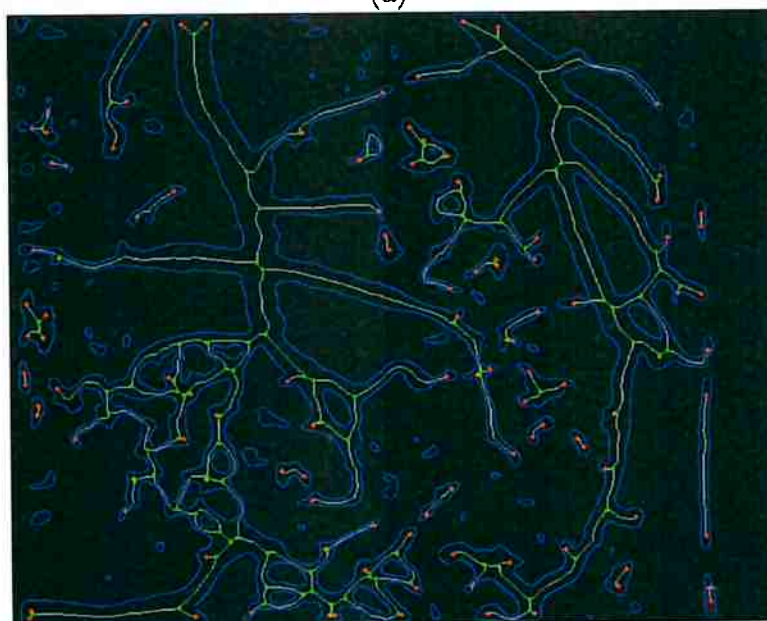
dos vasos sanguíneos, intensidade dos tecidos e vasos sanguíneos, curvaturas, extensão, área do tecido entre os vasos, direção das bordas dos vasos, entre outras. Com informações *a priori* sobre a estrutura microcircular, podemos analisar certas alterações nestas características para classificar a degeneração dos vasos e dos tecidos. Quando analisamos as estruturas dos vasos, observamos que eles têm bifurcações e pontos terminais onde os pequenos vasos interagem com o tecido. Baseando-se nessa observação, vamos representar a linha de centro dos vasos como um grafo G .

Definimos o grafo G como um par ordenado $(V(G), E(G))$ que consiste de vértices $V(G)$ e de arestas $E(G)$ [Bondy & Murty, 2008]. As arestas são linhas que conectam dois vértices distintos. Em nosso trabalho consideramos o grafo G (linha de centro) como um grafo unidirecional onde se pode andar em apenas uma direção, isso devido ao sentido do fluxo sanguíneo, que é unidirecional. Primeiramente, queremos construir o grafo a partir de linha de centro dos vasos; para tal, definimos dois tipos de vértices: vértices terminais e vértices não terminais. Um vértice terminal é considerado um pixel que tem apenas um vizinho pertencente à linha de centro de vaso; e um vértice não terminal é um pixel que tem pelo menos dois vizinhos pertencentes à linha de centro dos vasos. Um vértice terminal tem grau 1, e um vértice não terminal tem grau maior que 1. O grau de um vértice é o número de arestas incidentes a esse vértice.

Denominamos vértice terminal e vértice não terminal como um ponto terminal e um ponto de bifurcação, respectivamente. Utilizando-se a linha de centro obtida na Figura 3.6 (b), extraímos os pontos terminais e os pontos não terminais, como mostra a Figura 3.9 (b). Definimos esses pontos terminais e não terminais como os vértices do grafo $V(G)$, e as linhas do centro do vaso entre esses vértices como as arestas do grafo $E(G)$ (Figura 3.10). Notamos que a linha de centro do vaso tem um arranjo semelhante ao de rios, de árvores e de raízes de plantas. Um vértice



(a)



(b)

Figura 3.9: (a) linha de centro dos vasos em preto e (b) linha de centro do vaso em branco, pontos terminais em vermelho, pontos de bifurcação em verde e a borda dos vasos sanguíneos em azul.

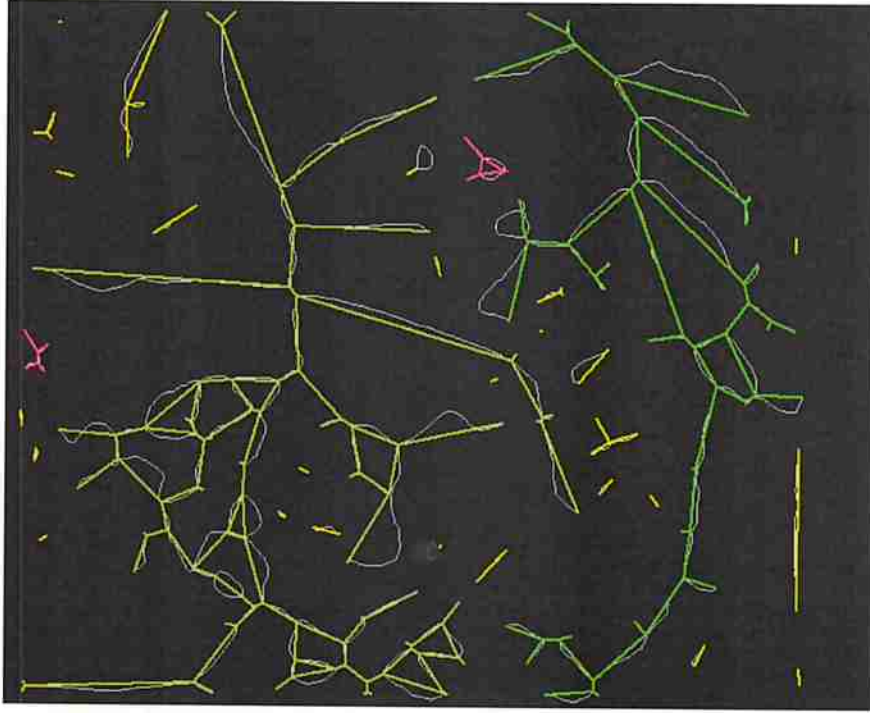


Figura 3.10: *Redes vasculares representadas através de grafos.*

terminal p que pertence a uma imagem f é considerado um pixel que tem apenas um vizinho pertencentes à linha do centro do vaso. O vértice terminal é definido com a seguinte função:

$$[\rho(f)](p) = \begin{cases} 1, & \text{se } f(p) = 1 \text{ e } \sum_{q \in N_8(p)} f(q) = 1 \\ 0, & \text{caso contrário,} \end{cases} \quad (3.3)$$

onde $N_8(p)$ denota o conjunto de vizinhos 8–conectados de p . Portanto, um vértice não-terminal é um pixel $p \in f$, que tem exatamente três vizinhos (de acordo com a 8–conectividade) pertencentes à linha de centro, e não são 4–conectado. O vértice

não terminal é definido de acordo com a seguinte fórmula:

$$[\xi(f)](p) = \begin{cases} 1, & \text{se } f(p) = 1 \text{ e } \sum_{q \in N_8(p)} f(q) = 3 \\ & \text{e } \forall p_1, p_2 \in N_8(p), p_1 \neq p_2, \\ & \text{se } f(p_1) = f(p_2) = 1 \rightarrow p_1 \notin N_4(p_2) \\ 0, & \text{caso contrário,} \end{cases} \quad (3.4)$$

onde $n_4(p)$ denota o conjunto de vizinhos 4-conectados de p .

Taxonomia Tokunaga para quantificação dos vasos sanguíneos

Neste trabalho vamos representar a linha de centro dos vasos com a taxonomia de ramificação Tokunaga [Tokunaga, 1978, 1984, 1994], que é uma taxonomia complementar às taxonomias Strahler [Strahler, 1957] e Horton [Horton, 1945]. Essas taxonomias são utilizadas em várias aplicações e em imagens naturais [Goldberger *et al.*, 2002; Horsfield, 1980; Mandelbrot, 1983; West *et al.*, 1997]. Nessas taxonomias, o grafo na Figura 3.10 é considerado como uma árvore. Nas taxonomias Strahler e Horton, o grafo é representado por árvores binárias em que uma aresta que tem um vértice terminal é definida como a primeira ordem $i = 1$; quando duas arestas de primeira ordem se encontram, formam uma aresta de segunda ordem $i = 2$; quando duas arestas de segunda ordem se encontram, formam uma aresta de terceira ordem $i = 3$; e assim por diante. O número total de arestas de i -th ordem é N_i , e sua média de comprimento é L_i . A razão de bifurcação R_N é,

$$R_N = \frac{N_i}{N_{i+1}} \quad (3.5)$$

e a razão de ordem de comprimento é ,

$$R_L = \frac{L_{i+1}}{L_i} \quad (3.6)$$

A dimensão fractal é definida como,

$$D = \frac{\log R_N}{\log R_L}. \quad (3.7)$$

Tokunaga estendeu as taxonomias de Strahler e Horton para permitir grafos com árvores não binárias. As arestas de ordem n podem ter qualquer tipo de ramificação de ordem $n - 1, n - 2, \dots, 1$ (Figura 3.11 (a)). Uma aresta de ordem 1 conectada a outra aresta de ordem 1 é denominada 11, e o número de arestas é N_{11} ; uma aresta de ordem 1 conectada a outra aresta de ordem 2 é denominada de 12, e o número de arestas com essa ordem é N_{12} ; uma aresta de ordem 2 conectada a outra aresta de ordem 2 é denominada 22, e o número total de arestas de ordem 22 é N_{22} ; e assim por diante (Figura 3.11 (a)) [Turcotte *et al.*, 1998]. O número total de arestas de ordem i , N_i , é relacionado a N_{ij} ,

$$N_i = \sum_{j=i}^n N_{ij} \quad (3.8)$$

Definimos a razão de bifurcação T_{ij} como a média de ramificação de ordem i conectadas a cada aresta de ordem j , $i < j$. A razão de bifurcação é relacionada ao número de ramificação da seguinte maneira:

$$T_{ij} = \frac{N_{ij}}{N_j}. \quad (3.9)$$

A taxonomia Tokunaga possui a restrição de que o nosso grafo não pode conter

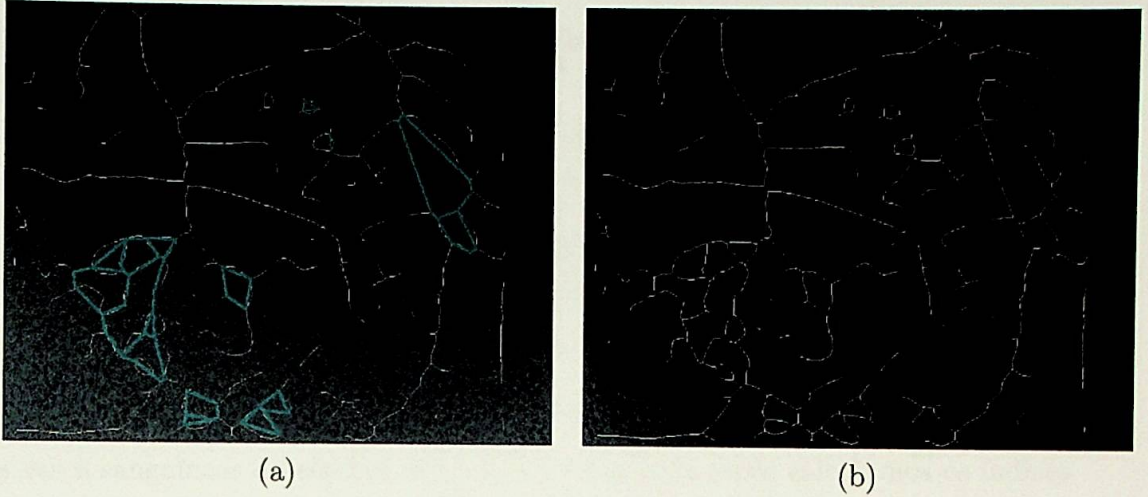


Figura 3.12: (a) Grafo com laço e (b) grafo sem laço.



Figura 3.13: Os componentes conexos são representados em grafos com cores distintas.

Tabela 3.1: Taxonomia Tokunaga do grafo 1.

NM				N_i	R_N	L_i	R_L	RM			
18	4	6	0	28	$\frac{28}{9}$	22.1	$\frac{43}{22.1}$	18	4	6	0
	6	2	1	9	$\frac{9}{3}$	43	$\frac{198.7}{43}$				
		2	1	3	$\frac{3}{1}$	198.7	$\frac{43}{198.7}$				
			1	1		205	$\frac{205}{1}$				
								28	$\frac{9}{6}$	$\frac{3}{3}$	$\frac{2}{1}$
									9	$\frac{3}{3}$	$\frac{1}{1}$
										3	$\frac{1}{1}$
											1

Resultados preliminares utilizando taxonomias: Strahler e Tokunaga

As imagens do cérebro foram adquiridas em quatro diferentes períodos de indução de sepse em ratos: o tempo inicial T_0 antes da indução da sepse; T_1 , após uma

Tabela 3.2: Taxonomia Tokunaga do grafo 2.

N_M				N_i	R_N	L_i	R_L	RM			
28	5	10	6	49	49	30.24	60.6	24	5	10	6
	10	2	2	14	14	60.6	87	49	14	10	6
		2	3	5	5	87	60.6		14		
			1	1	1	485	485				

hora e meia da indução da sepse; T_2 , depois de duas horas e meia da indução da sepse; e T_3 , após cinco horas de indução de sepse. Para comparar o comportamento dos vasos sanguíneos do cérebro durante a evolução da sepse calculamos os índices Tokunaga e Strahler para os quatro diferentes períodos, como mostrado nas Figuras 3.15, 3.11 e 3.16. Os experimentos realizados mostraram que o número de arestas terminais N_{11} , que são principalmente os pequenos vasos (capilares) diminuíram durante a evolução da sepse (Figura 3.15).

Percebemos que há também uma modificação na estrutura da rede dos vasos onde a quantidade de N_{ij} sofre uma alteração significativa. Por exemplo, $N_{11} = 110$ para um rato saudável sem sepse; no entanto, $N_{11} = 55$ para o mesmo rato, após cinco horas de sepse (Figura 3.15). Essa alteração mostra a deterioração dos vasos sanguíneos devido a gravidade da patologia. No entanto, à medida que fazemos uma busca de profundidade no gráfico a diferença entre os valores de N_{ij} para os quatro períodos de sepse começa a diminuir.

Notamos também uma diminuição no número de ordem de Strahler N_1 durante a evolução da sepse. Além disso, há uma alteração significativa de todos os valores de ordem N_i Strahler (Figura 3.16). Ainda, o diâmetro médio dos vasos é calculado em micrômetros e observar-se uma mudança de acordo com a variação do índice do Strahler durante os quatro períodos de sepse (Figura 3.14). No entanto, a alteração na ordem de Strahler não é tão significativa enquanto a mudança no número Tokunaga. Isso é devido à presença de ramificação lateral em taxonomia de Tokunaga, o

que não é permitido em taxonomia Strahler.

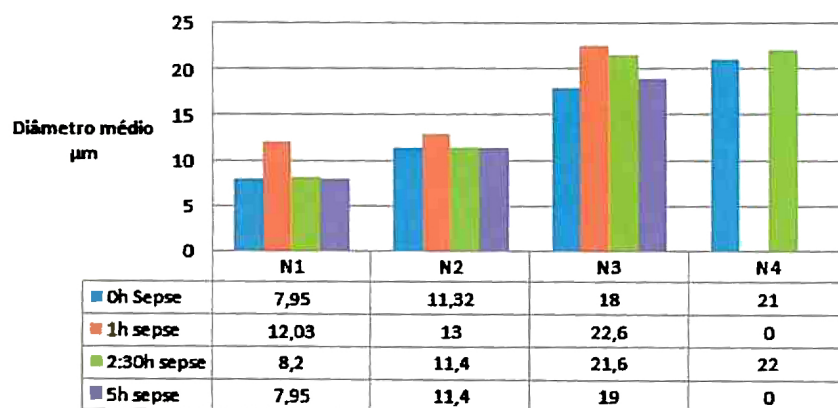


Figura 3.14: O diâmetro médio dos vasos representados pelo índice strahler N_{ij} , para os quatro períodos de sepse.

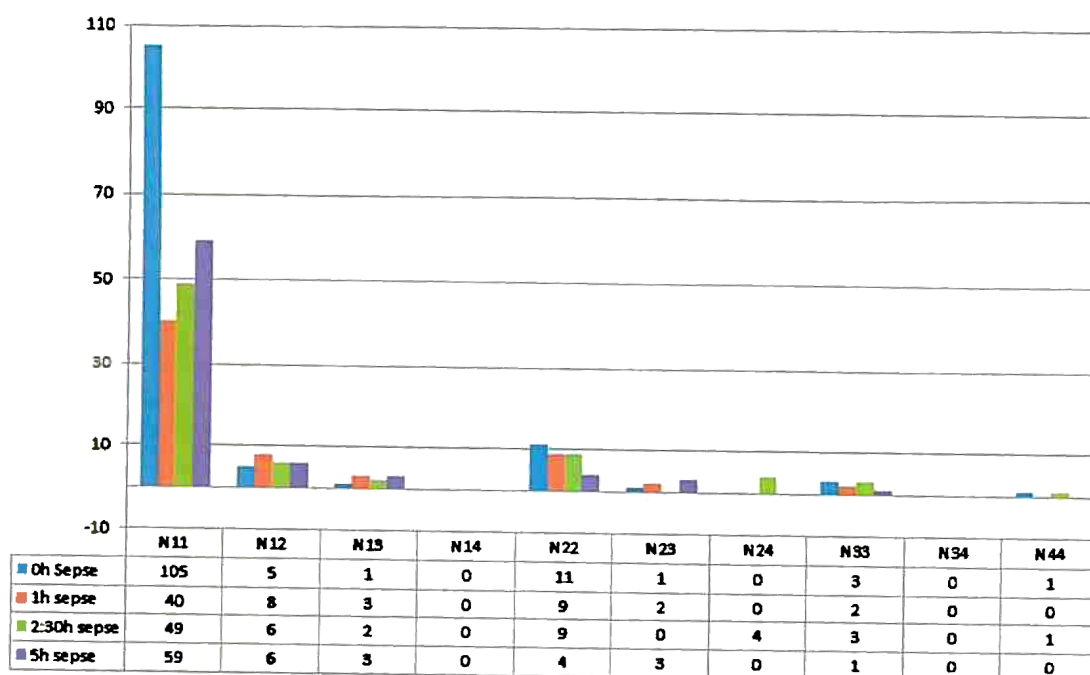


Figura 3.15: Valores dos índices de Tokunaga par os quatro períodos de sepse.

Na Figura 3.17 calculamos os seguintes parâmetros para os quatro períodos de sepse: a densidade do esqueleto, o número de componentes conexos, a razão da bifurcação R_N e a razão do ordem do comprimento R_L . Observamos que a densidade

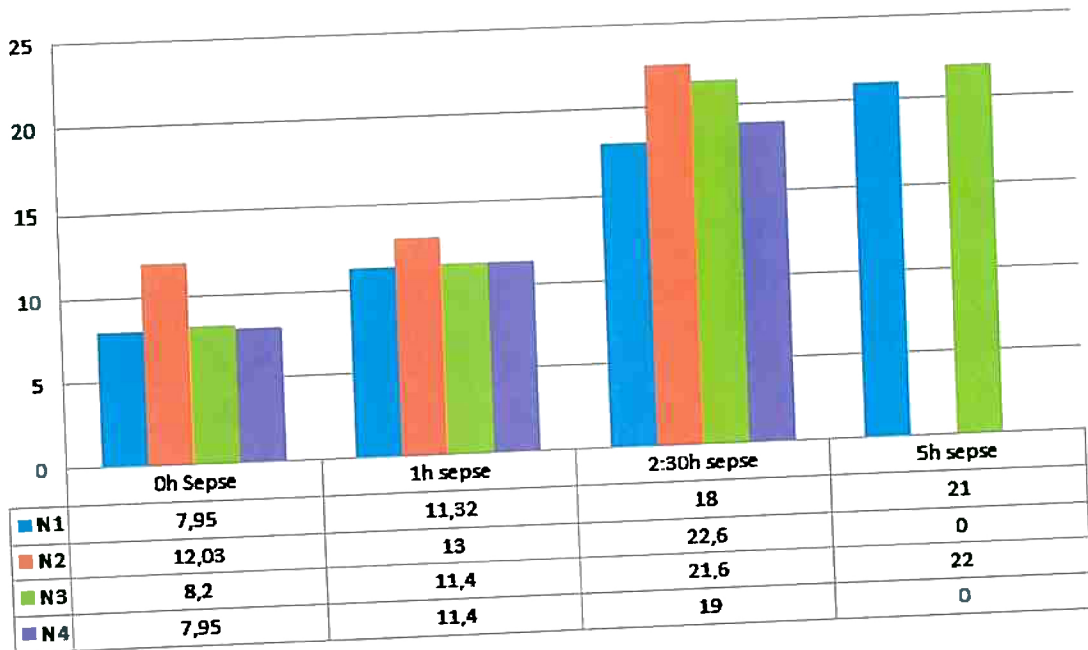


Figura 3.16: Índices de Strahler para os quatro períodos de sepse.

da linha do centro diminui à medida que a duração da sepse aumenta, o que implica na diminuição da quantidade de vasos sanguíneos durante a sepse. O número de componentes conexos de um rato saudável é maior do que o número de componentes conexos de um rato com uma hora e meia e duas horas e meia de sepse. No entanto, o número de componentes conexos de uma sepse após cinco horas é maior do que o número de componentes conexos de uma sepse de duas horas e meia e uma hora e meia. Isso é devido à desconexão dos componentes conexos durante a evolução da sepse. A razão de bifurcação aumenta após cinco horas de sepse, de 3,17 para 5,14, isso é devido ao aumento do número isolado de componentes conexos.

3.4.2 Extração de características utilizando dimensão Hausdorff

O termo "dimensão", em matemática, tem uma gama de definições e significados, a definição mais conhecida é de R^d . Para discriminar pontos distintos em R^d ,

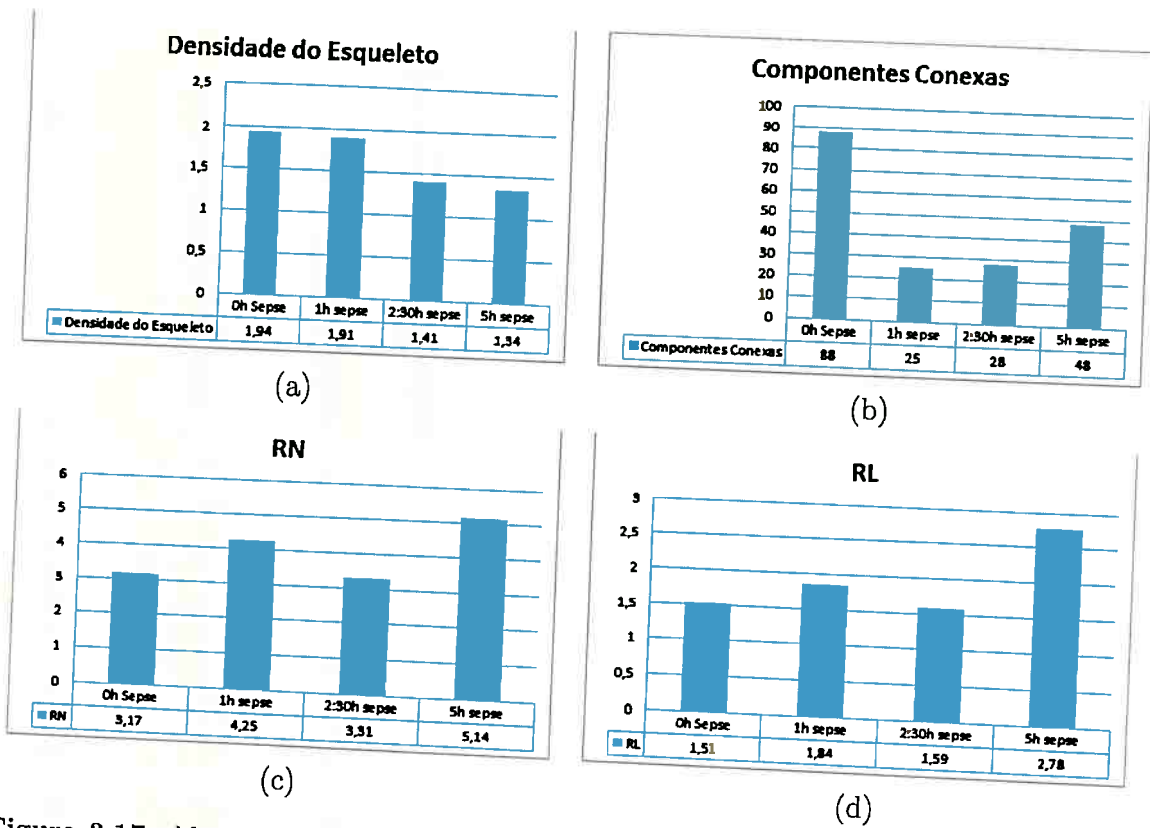


Figura 3.17: Métricas relacionadas aos informações obtidas da rede vascular (cima para baixo, esquerda para direita): (a) densidade do esqueleto, (b) componentes conexas, (c) a razão da bifurcação R_N e (d) a razão do ordem do comprimento R_L .

precisamos de d coordenadas; então, R^d tem uma dimensão d como um vetor no espaço [Bumby, 1985; Schleicher, 2007]. O conceito de dimensão de Hausdorff é usado recentemente em computação gráfica para simular e visualizar formas bonitas que têm suas similares na natureza [Halsey *et al.*, 1986; Lauterborn & Parlitz, 1988; Mandelbrot & Blumen, 1989]. Neste projeto usamos a dimensão Hausdorff como um parâmetro de rugosidade para fazer uma análise quantitativa das imagens. Quando usamos uma escala de dimensão Hausdorff 1, o resultado é uma linha suave e a dimensão 2 implica uma complexidade fractal. Definimos a dimensão Hausdorff HD como,

$$HD = \frac{\log N}{\log N(s)}, \quad (3.10)$$

em que N é o número de janelas de multi-escala que ocupam uma imagem, e $N(s)$ o número de janelas que contêm bordas na imagem, como mostra a Figura 3.18².

Utilizamos as redes vasculares no calculo da dimensão de Hausdorff para imagens

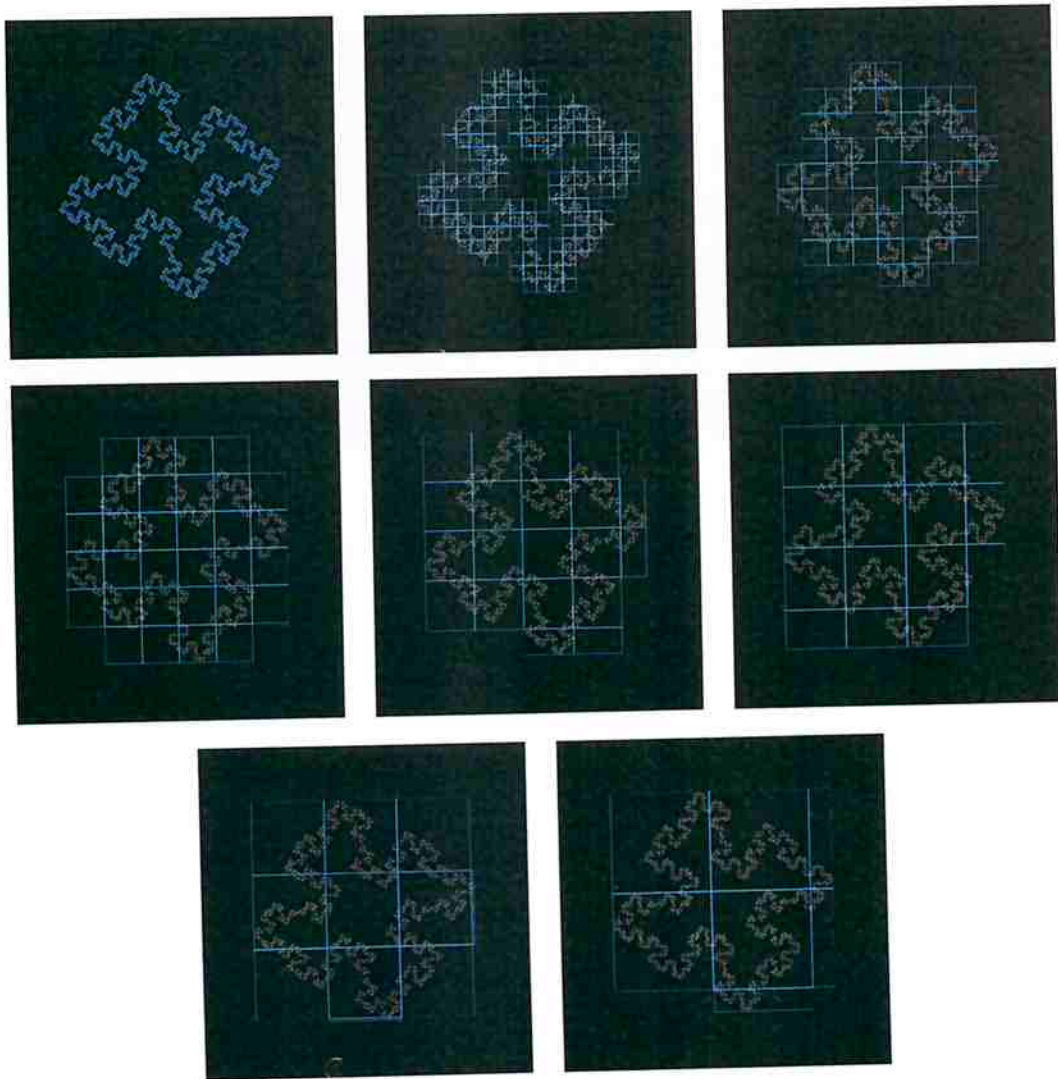


Figura 3.18: Cálculo da dimensão de Hausdorff utilizando janelas de multi-escala.

com sepse, e imagens sem sepse para determinar alteração no valor da dimensão Hausdorff. Calculamos HD para a linha de centro do vaso sanguíneo (Figura 3.19

²<http://rsb.info.nih.gov/ij/plugins/fractal/FLHelp/BoxCounting.htm>

(a)) em imagem sem sepse, e em imagem com sepse (Figura 3.19 (b)). A imagem na Figura 3.19 (b) com sepse foi simulada manualmente com a ajuda de um médico, pelo fato de que, ainda não foram adquiridas imagens SDF de cérebro com sepse³.

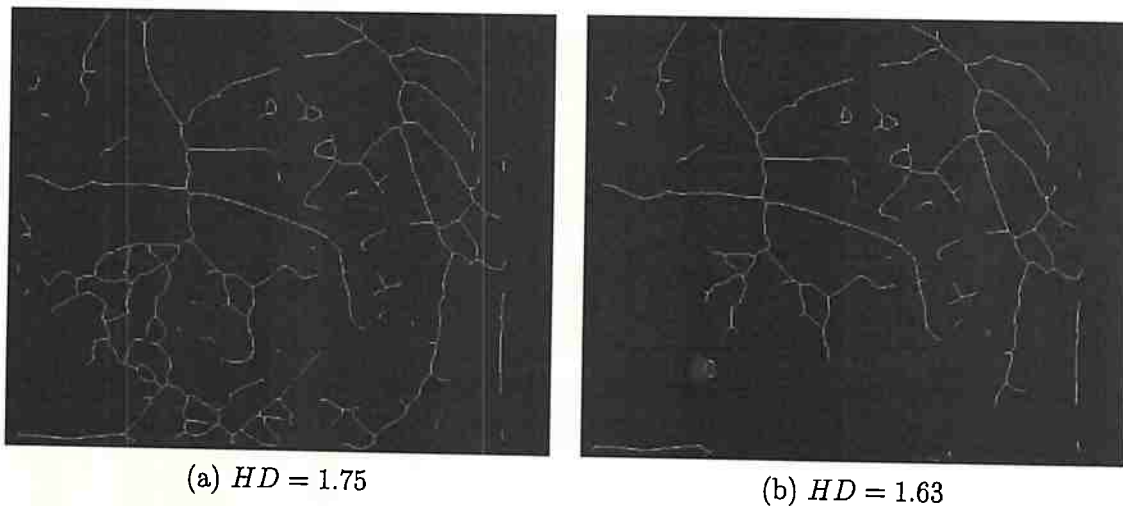


Figura 3.19: Dimensão de Hausdorff em imagem sem sepse (a) e em imagem simulada manualmente com sepse (b).

Notamos na Figura 3.19 que os valores de dimensão Hausdorff para imagem com sepse e sem sepse são diferentes. A dimensão para a imagem com sepse é menor; tal fato comprova que, na presença de sepse, houve alteração na rede vascular. As Figuras 3.20 e 3.21 mostram os gráficos de $N(s)$ versus N para imagem com sepse e sem sepse nas escalas normais e logarítmica. A Figura 3.22(a) ilustra as duas curvas distintas que representam $N(s)$ versus N de imagem sem sepse (cor vermelha) e imagem com sepse (cor verde).

³www.ee.ucl.ac.uk/pfrench

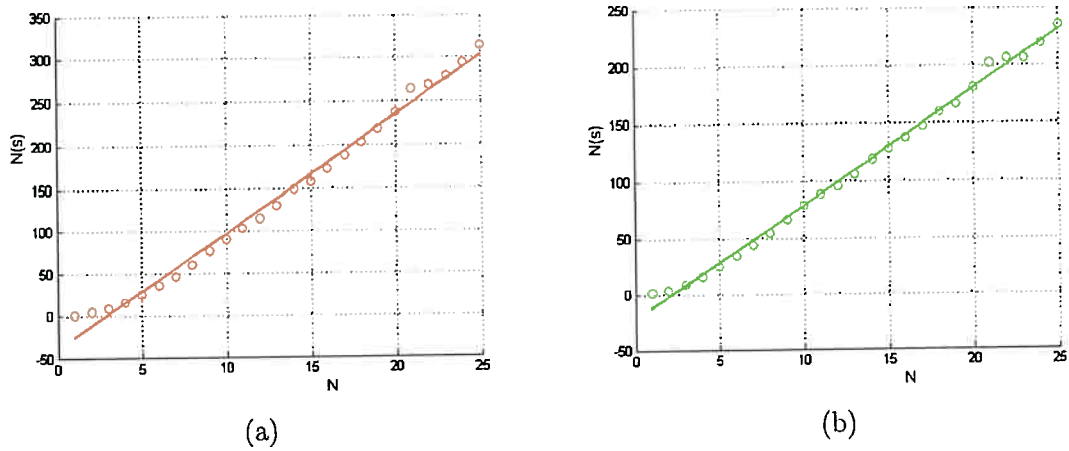


Figura 3.20: Gráfico que representa $N(s)$ versus N : (a) imagem de rede vascular sem sepse e (b) imagem da mesma rede vascular com sepse.

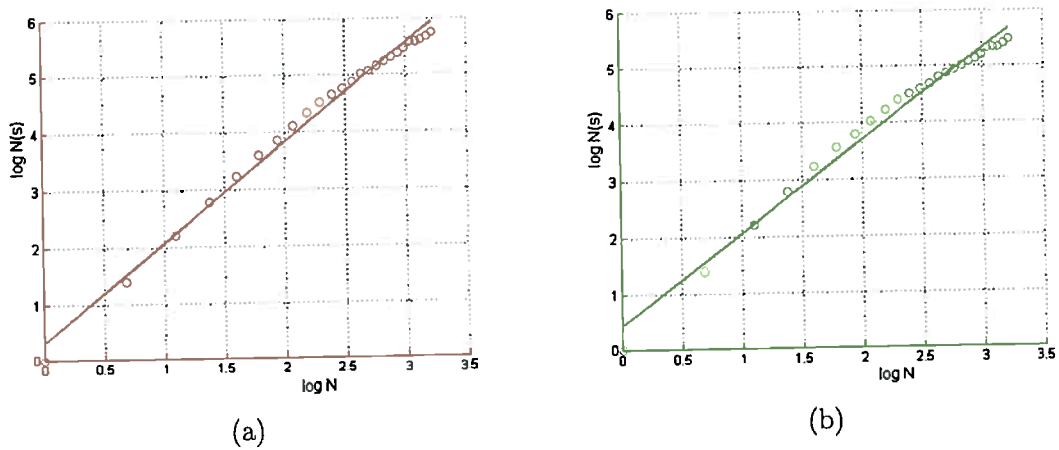


Figura 3.21: Gráfico que representa $N(s)$ versus N na escala logarítmica: (a) imagem de rede vascular sem sepse e (b) imagem da mesma rede vascular com sepse.

3.4.3 Extração de característica baseada em geometria plana

Nesta seção utilizamos fundamentos matemáticos de geometria plana para extrair o diâmetro médio do vaso, a área da linha de centro, o volume do vaso e a área do vaso. Considere-se o comprimento de uma aresta $E(G)$ do grafo representado na

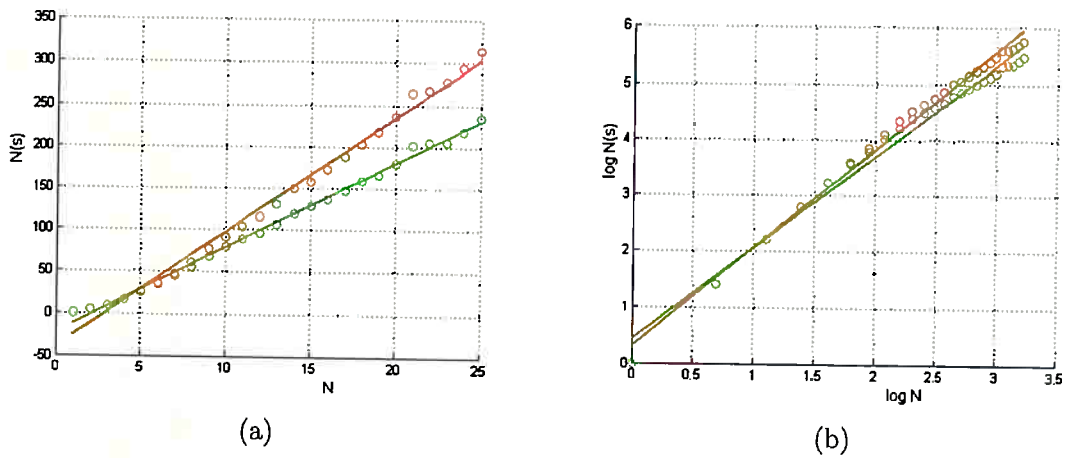


Figura 3.22: Gráfico que representa $N(s)$ versus N . A cor verde representa imagem com sepse e a cor vermelha representa imagem sem sepse : (a) gráfico com escala normal e (b) gráfico com escala logarítmica.

Figura 3.9 (b) como,

$$L(E(G)) = \sum_1^n F(x, y), \quad (3.11)$$

em que $F(x, y)$ é o valor do pixel na imagem binária que é igual a 1. Nesse caso unidimensional, a área do vaso é igual à do seu comprimento.

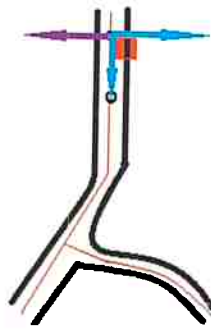


Figura 3.23: Determinar o diâmetro de uma parte de um vaso sintético: a borda do vaso em preto, linha de centro em vermelho, vetor $\vec{V_1V_2}$ paralelo às bordas de vaso em azul, $\vec{V_1V_{2\perp}}$ perpendicular aos bordas do vaso e o vetor $\vec{V_1V_{2\perp-1}}$ que é seu vetor oposto.

Calculamos 40% do comprimento da aresta $E(G)$ e subtraímos 20% de cada lado da aresta para obter uma nova aresta $E'(G)$, com 60% do seu comprimento original.

Considerem-se $V_1(x_1, y_1)$ e $V_2(x_2, y_2)$ as coordenadas dos vértices da aresta $E'(G)$. Definimos o vetor $\overrightarrow{V_1V_2}$ como:

$$\overrightarrow{V_1V_2} = (x_2 - x_1, y_2 - y_1). \quad (3.12)$$

a partir de $\overrightarrow{V_1V_2}$, traçamos o vetor normal $\overrightarrow{V_1V_{2\perp}}$, que é perpendicular a $\overrightarrow{V_1V_2}$ até que haja intersecção com um ponto na borda do vaso. A Figura 3.23 mostra um vaso sintético: a borda do vaso em preto, linha de centro em vermelho, vetor $\overrightarrow{V_1V_2}$ paralelo às bordas de vaso em azul, $\overrightarrow{V_1V_{2\perp}}$ perpendicular às bordas do vaso, e o vetor $\overrightarrow{V_1V_{2\perp-1}}$, que é o seu vetor oposto, na cor roxa. O diâmetro do vaso em pixels é definido como:

$$Diam = \sum_{i=1}^n \overrightarrow{V_1V_{2\perp}}[F(x, y)] + \sum_{i=1}^m \overrightarrow{V_1V_{2\perp-1}}[F(x, y)]. \quad (3.13)$$

repetimos o mesmo processo para calcular o diâmetro do vaso ao longo da linha de centro representada pela aresta $E'(G)$. A área do vaso cuja linha de centro representada pela aresta $E'(G)$ é:

$$Area_{vaso} = \sum_{i=1}^N Diam_i, \quad (3.14)$$

em que N é o comprimento da aresta $E'(G)$.

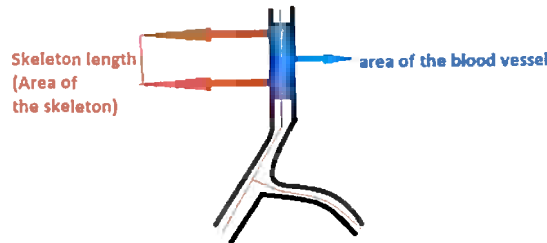


Figura 3.24: Calcular o diâmetro médio dos vasos (DMV).

Lembramos que $E'(G) = 60\%E(G)$, para estimar a área $Area_{total}$ do vaso cuja linha de centro é representada pela aresta $E(G)$, e definimos:

$$Area_{total} = \frac{Area_{vaso}}{60\%}. \quad (3.15)$$

calculamos o diâmetro médio do vaso (DMV) cuja linha de centro é representada pela aresta $E(G)$, como na Figura 3.24:

$$DMV = \frac{Area_{total}}{L(E(G))}. \quad (3.16)$$

A Figura 3.25 mostra a área de uma seção dos vasos em cinza. Lembramos que o volume do cilindro é:

$$V_{cilindro} = \pi\left(\frac{d}{2}\right)^2 \times h, \quad (3.17)$$

em que h é a altura do cilindro e $d = 2r$ é o diâmetro da base do cilindro. A área da sua base é $\pi\left(\frac{d}{2}\right)^2$. Aproximamos a forma do vaso em 3D para um cilindro e determinamos seu volume como:

$$Volume_{vaso} = Area_{total} \times L(E(G)). \quad (3.18)$$

A Figura 3.26 mostra o diâmetro, a área e o volume de uma parte dos vasos representados na Figura 3.9. Nessa seção, a unidade de medida utilizada é o pixel.

No caso de 1-dimensão, a área do centro da rede vascular é igual ao seu comprimento, e representamos como;

$$Area_{esqueleto} = \sum_1^m L(E(G)), \quad (3.19)$$

Onde m é número total de arestas do grafo. Depois disso, calculamos a densidade

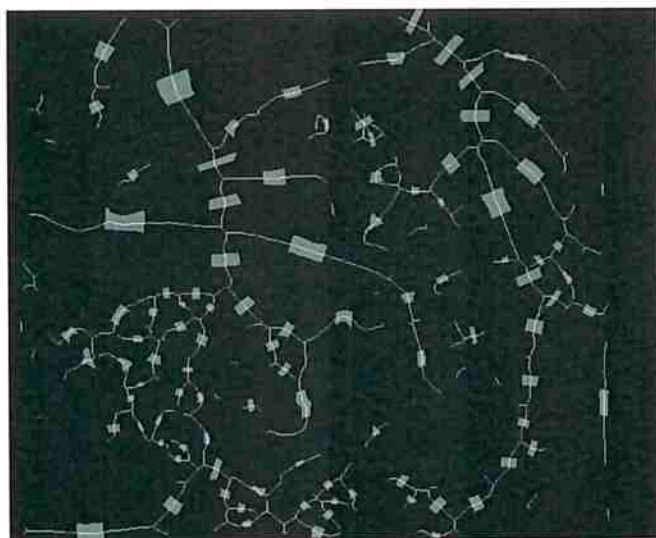


Figura 3.25: Área de uma partição dos vasos representada na cor cinza.

do esqueleto,

$$Esqueleto_{densidade} = \frac{Area_{esqueleto}}{Area_{imagem}} \times 100, \quad (3.20)$$

Calculamos a área da imagem como,

$$Area_{imagem} = \sum_1^n F(x, y), \quad (3.21)$$

n é o total de pixels na imagem binária que representa o esqueleto.

3.4.4 Extração de características utilizando propriedades de textura

A matriz de co-ocorrência de níveis de cinza (MCNZ) é uma matriz que ilustra as frequências dos níveis de cinza dos pixels que ocorrem na imagem em uma determinada vizinhança (Figura 3.27). A matriz de co-ocorrência é usada para extrair

Diâmetro	Área do vaso	Volume do vaso
5,35	215	5900
6,38	250	6020
7,68	255	7000
8,93	295	8140
8,94	295	9625
9,76	370	9735
12,31	385	10200
13,05	525	15730
13,46	560	16800
14,75	605	18840
15,4	610	20475
16,82	665	32900
17,48	785	35910
18,46	810	36000
18,51	870	40890
18,67	940	47040
19,5	960	48750
20	975	49920
21,19	1070	62320
22,54	1125	63195
23,27	1330	67230
25,38	1340	69540
26,86	1470	78470
32,71	1520	87740
35,16	1765	89780
36,96	1885	96135
37,07	1915	178265
45,94	2225	233625
58,03	3045	365400

Figura 3.26: *Diâmetro, área e volume de uma partição dos vasos em unidade de pixel.*

informações estatísticas das ocorrências dos níveis de cinza em imagens para analisar certos padrões de texturas. A dimensão da matriz é determinada pela quantidade de níveis de cinza; quanto maior o número, maior o custo computacional. Inicialmente, neste trabalho, vamos usar 256 níveis de cinza para estudar as seguintes características da textura da imagem:

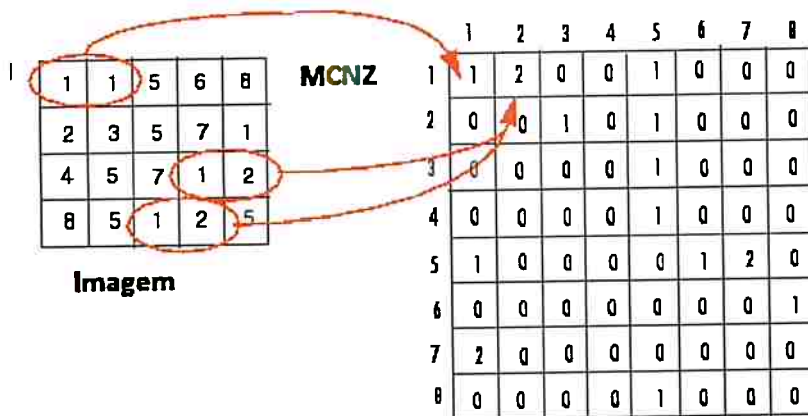


Figura 3.27: Matriz de co-ocorrência de uma imagem de 8 níveis de cinza.

- Contraste (Contr): calcula a variação do nível de cinza entre os pixels e suas vizinhanças ao longo da imagem.

$$Contr = \sum_i \left(\sum_j ((i - j)^2 \times p(i, j)) \right) \quad (3.22)$$

- Correlação (Corr): determina a correlação de textura entre o pixel e seus vizinhos.

$$Corr = \sum_i \left(\sum_j ((i - u_i)(j - u_j)p(i, j) / (\sigma_i \times \sigma_j)) \right) \quad (3.23)$$

- Energia (Ener): calcula a soma dos quadrados dos elementos da matriz de co-ocorrência.

$$Ener = \sum_i \left(\sum_j (p(i, j)^2) \right) \quad (3.24)$$

- Homogeneidade (Homo): determina a distribuição dos elementos da matriz

em relação à sua diagonal.

$$Homo = \sum_i \left(\sum_j \frac{p(i, j)}{1 + |i - j|} \right) \quad (3.25)$$

Para analisar as diferenças das características das texturas entre imagens de rim sem sepse e com sepse, utilizamos as propriedades estatísticas da matriz de co-ocorrência: Contraste, Correlação, Energia e Homogeneidade, todos através de uma análise multi-escala. Considerando-se a área W da imagem, calculamos as propriedades acima para W , $\frac{W}{2}$, $\frac{W}{4}$, $\frac{W}{8}$ e $\frac{W}{16}$. Extraímos essas propriedades da seguinte maneira: para cada $\frac{W}{N}$ regiões analisadas temos N áreas para extrair as características, ou seja, quando consideramos a imagem de área W temos apenas uma região ($N = 1$) para extrair as características, duas regiões ($N = 2$) quando consideramos a área de tamanho $\frac{W}{2}$, e assim sucessivamente. A Figura 3.28 apresenta as propriedades estatísticas para as áreas W , $\frac{W}{2}$, $\frac{W}{4}$ e $\frac{W}{8}$ consideradas respectivamente. A Figura 3.29 mostra o mapa de contraste da matriz para cada propriedade estatística: Contraste, Correlação, Energia e Homogeneidade.

3.5 Classificação

A classificação é feita usando-se o vetor de características obtido no estágio de extração de características para atribuir a cada objeto uma categoria. Neste trabalho, a função do classificador é identificar as características extraídas nas seções 3.4.1, 3.4.2 e 3.4.3 e decidir as medidas necessárias para imagens com sepse e sem sepse. Nessa etapa, utilizaremos os resultados do classificador para decidir que tipo de ação realizaremos [Duda *et al.*, 2000]. Nesse estágio serão criadas novas medidas de qualidade para avaliar as alterações nas estruturas dos vasos e dos tecidos ao

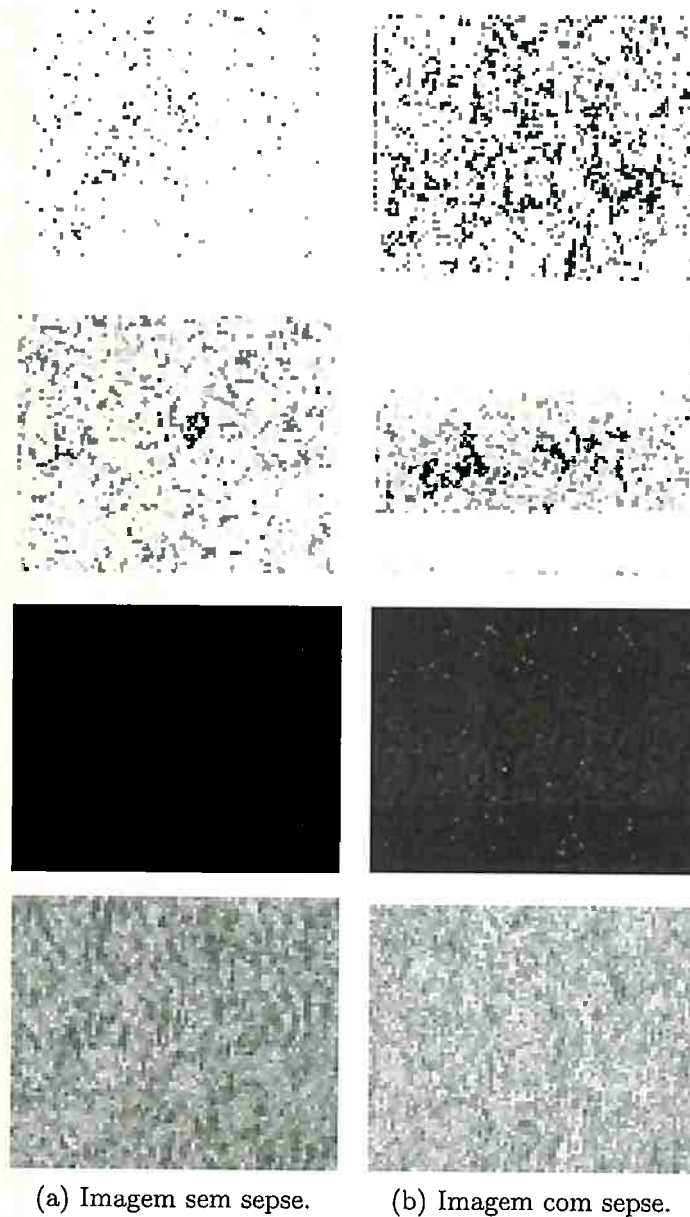
	Sem Sepse				Com Sepse			
	Contr.	Corr.	Ener.	Homog.	Contr.	Corr.	Ener.	Homog.
W	10.9225	0.9834	0.0062	0.5731	6.2808	0.9883	0.0098	0.6801
$W/2$	10.6526	0.0075	0.5731	0.5731	5.9755	0.9891	0.0097	0.6808
$W/2$	11.1918	0.9831	0.0053	0.5730	6.5831	0.9856	0.0106	0.6793
$W/4$	6.5831	0.9856	0.0106	0.6793	6.4628	0.9885	0.0119	0.6829
$W/4$	10.1838	0.9840	0.0069	0.5645	5.4895	0.9901	0.0090	0.6788
$W/4$	11.1918	0.9831	0.0053	0.5730	6.5831	0.9856	0.0106	0.6793
$W/4$	11.3863	0.9821	0.0062	0.5536	6.8370	0.9855	0.0100	0.6745
$W/8$	18.7445	0.9850	0.0099	0.5870	11.4396	0.9864	0.0111	0.6678
$W/8$	3.5431	0.9848	0.0085	0.5763	1.5136	0.9949	0.0151	0.6979
$W/8$	3.5304	0.9875	0.0062	0.5733	1.4905	0.9951	0.0102	0.6887
$W/8$	16.8371	0.9832	0.0082	0.5557	9.4886	0.9884	0.0084	0.6689
$W/8$	3.0352	0.9834	0.0075	0.5913	1.6228	0.9887	0.0163	0.6884
$W/8$	3.6326	0.9855	0.0060	0.5668	1.4832	0.9904	0.0121	0.6887
$W/8$	3.6326	0.9855	0.0060	0.5668	1.4832	0.9904	0.0121	0.6887
$W/8$	19.1399	0.9816	0.0065	0.5403	12.1908	0.9848	0.0101	0.6604

Figura 3.28: As propriedades estatísticas de matriz de co-ocorrência para imagem com sepse e sem sepse.

longo da evolução da sepse.

3.6 Conjuntos aleatórios fechados

A teoria dos conjuntos aleatórios fechados (Random Closed Sets - *RACS*) é uma derivação natural da teoria de campos aleatórios quando o objetivo é modelagem morfológica e análise de formas aleatórias. De acordo com essa teoria, uma forma S é considerada uma forma cujas propriedades são unicamente caracterizadas por uma lei de probabilidade. Uma das razões para investigar *RACS* é que as alterações nas estruturas de tecidos e vasos ao longo da evolução da sepse é aleatório, fazendo com que exista a possibilidade de gerar um modelo aleatório para tentar simular alterações estruturais a nível de microcirculação. Existem alguns trabalhos relevantes que estudam os fundamentos teóricos do *RACS* e sua aplicação para gerar formas



(a) Imagem sem sepse.

(b) Imagem com sepse.

Figura 3.29: Mapa de Contraste, Correlação, Energia e Homogeneidade (cima para baixo) para: (a) a imagem sem sepse e para (b) imagem com sepse.

geométricas estocásticas [Barrera & Brun, 1998; Gallegos & Simo, 2003; Gonzalez & Woods, 2008; Goutsias, 1992; Matheron, 1975; Nguyen, 2006; Sivakumar & Goutsias, 1994, 1995; Stoyan, 1998; Stoyan & Mecke, 2005; Zhao *et al.*, 2010].

Os conjuntos aleatórios fechados são modelos matemáticos para padrões irregulares, cuja definição formal, foi fornecida por Matheron. Um conjunto aleatório fechado Ξ é uma variável aleatória que tem os seus valores em (\mathcal{F}, σ_f) , a classe de subconjuntos fechados no espaço Euclidiano, R^2 , com σ -álgebra gerada por topologia *HIT* ou *Miss*. Gallegos & Simo mostra o uso do modelo Booleano como uma classe de modelos *RACS* que é uma generalização do mesmo para obter simulações de imagens binárias aleatórias capazes de imitar texturas naturais tais como mármore ou madeira.

O trabalho de Gallegos & Simo parte de um processo pontual que tem apenas pontos, ele tem dois geradores de distribuição, um gera pontos e outro gera objetos associados a pontos. Existe uma coleção de pontos associada a cada ponto, mas apenas uma classificada como apropriada para um ponto por meio de sorteio. Esse modelo que tem a ideia básica se chama modelo Booleano, que vem da família de conjuntos aleatórios. A probabilidade de distribuição de conjuntos aleatórios pode ser obtida pela sua capacidade funcional *Choquet* [Matheron, 1975],

$$T_{\Xi}(K) = P(\Xi \cap K \neq \emptyset), \quad (3.26)$$

em que K é um subconjunto compacto no R^2 . Se Ξ é observada em uma janela W , um estimador não viesado de T é dado por:

$$\hat{T}_{Xi}(K) = \frac{A((\Xi \oplus \check{K}) \cap (W \ominus K))}{A(W \ominus K)}, \quad (3.27)$$

onde $\Xi \oplus \check{K}$ é a dilatação de Ξ com K , $W \ominus K$ é a erosão e $B \subset R_2$ é a área de B . Em que a dilatação e a erosão são dois operadores morfológicos.

Simulação do Modelo Booleano Com o intuito de modelar as mudanças que a sepse induz em tecidos e vasos, experimentos utilizando o modelo Booleano [Gallegos & Simo, 2003] foram realizados. Foram geradas 10000 imagens com 3 formas distintas, cada imagem é representada por uma janela de tamanho 320×320 pixels. O processo de distribuição das formas segue uma distribuição de *Poisson* onde ocorre numa taxa média $\lambda = 0.05$. As formas usadas para gerar essas imagens são: cruzes (*cross*), linhas (*lines*) e losango (*diamond*), como mostra a Figura 3.30.

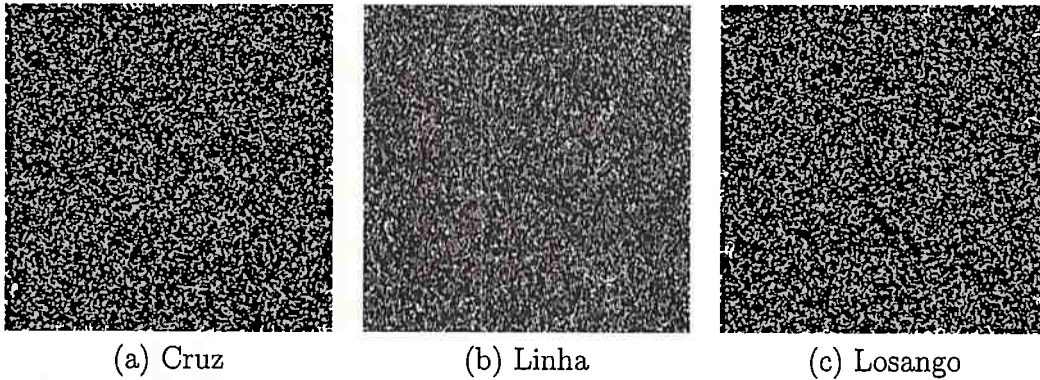


Figura 3.30:

Geração do Modelo Booleano com três formas: (a) *Cross*, (b) *Line* e (c) *Diamond*.

Após gerar as imagens (Figura 3.30) conforme o modelo booleano, para verificar se o nosso modelo booleano é estacionário escolhemos duas posições x e y conforme uma distribuição uniforme dentro da janela 320×320 e calculamos a frequência de cada partição do conjunto das partições de cada forma nas 10000 formas geradas. As formas são consideradas os elementos estruturantes de tamanho fixo. Por exemplo, para a forma linha atribuímos tamanho 3, que é representada como uma janela W pelos valores [111]. Nesse caso, o número de partições $\mathcal{P}(W)$ do elemento estruturante linhas que ocupa três posições possui $\mathcal{P}(W) = 2^3$ partições. A forma cruz possui $\mathcal{P}(W) = 2^5$ partições e a forma losango possui $\mathcal{P}(W) = 2^{13}$. Observamos na Figura 3.31 que após certo número de imagens o número de formas é estacionário

ou aproximadamente estacionário.

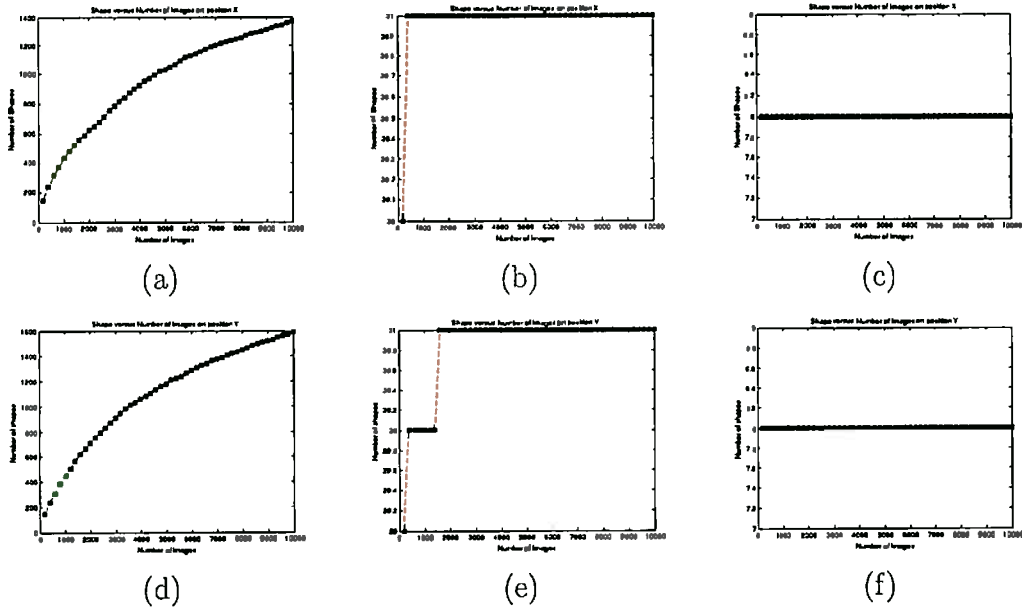


Figura 3.31: Número de partições em duas posições distintas X e Y versus o número de imagens das três formas: (a) losango na posição X , (b) cruz na posição X , (c) linha na posição X , (d) losango na posição Y , (e) cruz na posição Y e (f) linha na posição Y .

Para cada janela W podemos atribuir uma probabilidade $P(W)$ que é a distribuição de W em N números de imagens. No nosso experimento $N = 200, 400, 600, \dots, 1000$. Primeiramente, calculamos o $P(W)$ para cada N e depois calculamos a diferença das probabilidades,

$$P(W)_{N_i} - P(W)_{N_{i-1}}, i = 2, \dots, 50, \quad (3.28)$$

para ambas as posições X e Y como mostra a Figura 3.32. Observamos também na Figura 3.32 que a diferença das probabilidades converge para zero para um número grande de imagens, mostrando que o modelo é estacionário. A curva das diferenças das probabilidades da forma losango na Figura 3.32 (a) e (d) possui menos oscilações do que as formas linha e cruz nas Figuras 3.32 (b), (c), (e) e (f). Por esse motivo vamos escolher as partições $\mathcal{P}(W)$ da forma losango para elaborar um modelo

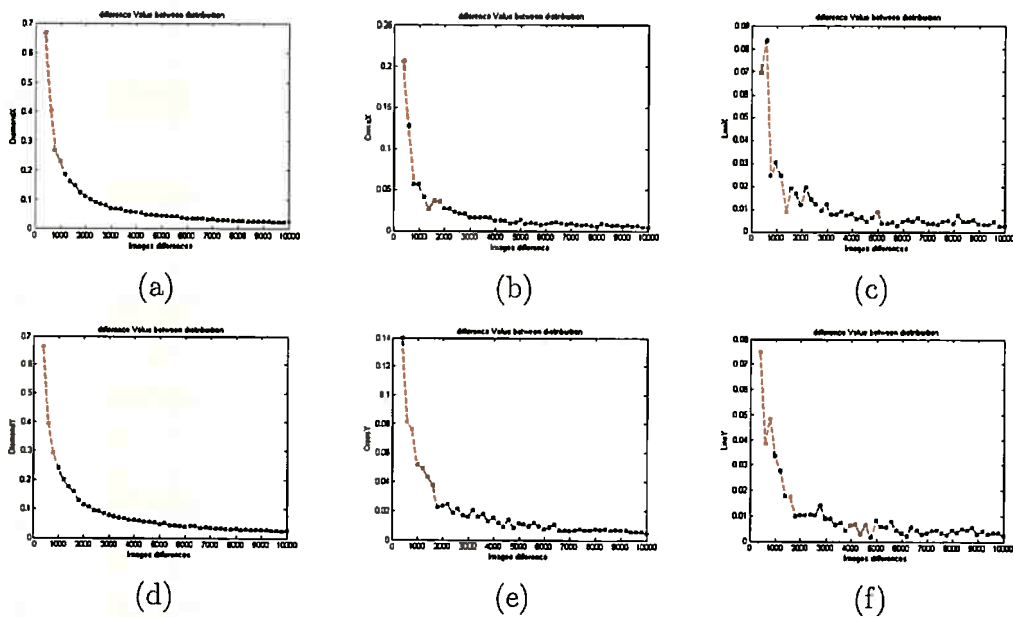


Figura 3.32: As diferenças entre as distribuições de dois grupos de imagens consecutivos das seguintes formas: (a) losango na posição X , (b) cruz na posição X , (c) linha na posição X , (d) losango na posição Y , (e) cruz na posição Y e (f) linha na posição Y .

matemático baseado nas distribuições $P(W)_{N_i}$ obtidas para reconstruir uma nova imagem. Baseados nesses experimentos, estamos elaborando um algoritmo para calcular a distribuição da variação da sepsse em imagens para modelar as alterações estruturais introduzidas pela sepsse em imagens SDF.

Parte III

Aplicações

Parte IV

Considerações finais

Neste trabalho, a análise de imagens SDF sem e com sepse está dividida em duas fases: o processamento de baixo nível em que utilizamos os filtros morfológicos, *Sterable* e *Canny* para extrair estruturas finas e bordas; e o processamento de alto nível em que utilizamos; os grafos, a dimensão de *Hausdorff*, a geometria plana e as propriedades estatísticas obtidas da matriz de co-ocorrência. Além disso, foram investigados os conjuntos aleatórios fechados (*RACS*) para analisar padrões irregulares nas texturas das imagens, com o intuito de modelar imagens contendo sepse. Nas imagens cerebrais, a linha de centro da rede vascular é representada como um grafo, onde a taxonomia Takunaga foi extraída para quantificação da estrutura vascular em imagens sem e com sepse. Extraímos a taxonomia Takunaga em imagens de cérebros sem sepse, e pretendemos utilizar essa taxonomia em imagens com sepse assim que for efetuada a aquisição da imagem no Laboratório de Pesquisa Experimental, do Departamento de Medicina da Escola Paulista de Medicina - UNIFESP. Estamos atualmente testando essa taxonomia em imagens de íleo e sublingual por possuírem estruturas semelhantes às redes vasculares cerebrais. Nota-se, por serem estruturas mais complexas, que essa taxonomia pode não ser a mais adequada, e, por isso, outros métodos estão sob investigação. A dimensão de Hausdorff, por outro

lado, representa uma medida de natureza diferente para caracterizar imagem com sepse e sem sepse, como pode ser visto nas Figuras 3.19, 3.20, 3.21 e 3.22. Essa dimensão é utilizada para medir a rugosidade da textura das imagens, e é baseada em regiões que sobressaltam, especialmente os vasos sanguíneos. Em imagens com sepse, a dimensão de Hausdorff é menor que em imagens sem sepse. De acordo com experimentos, tal fato é devido à menor quantidade de vasos sanguíneos nas imagens com sepse.

Além dessas medidas, utilizamos conceitos de geometria planar para extrair alguns parâmetros dos vasos: diâmetro médio, área, comprimento e volume conforme Figura 3.26. Na presença de sepse, esses parâmetros são alterados, e consegue-se identificar quantitativamente as estruturas que foram danificadas ao longo da sepse. No momento, utilizamos a unidade pixel como medida, porém converteremos as medidas para a unidade milímetro nos resultados finais. Como as imagens de sepse de rins e fígado não possuem uma rede vascular análoga à do cérebro, seguimos outra direção, que é utilizar as propriedades estatísticas de matriz de co-ocorrência para analisar as texturas das imagens. As propriedades estatísticas de Contraste, Correlação, Energia e Homogeneidade, calculadas a partir da matriz de co-ocorrência, mostram-se distintas em imagens com sepse e sem sepse, conforme mostram as Figuras 3.28 e 3.29. Todos esses resultados farão parte de duas publicações: uma artigo foi aceito e o outro esta em fase de elaboração. Na próxima etapa de nossas pesquisas, investigaremos a variação dessas medidas para confeccionar um *score* que indicará o nível de comprometimento da sepse em tecidos utilizando-se imagens SDF.

5.1 LBP

5.2 GLCM

Energia(E), Correlação(Cr), Contraste(Ct), Homogeneidade (H)



Imagem

$\Delta_x = 1,$

$\Delta_x = 0,$

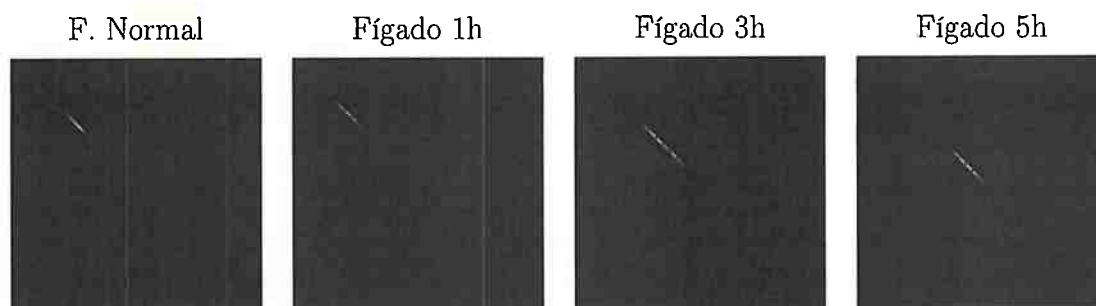
$\Delta_x = 1,$

Intestino

$\Delta_y = 0$

$\Delta_y = 1$

$\Delta_y = 1$



$E = 0.013$

$Cr = 0.981$

$Ct = 1.288$

$H = 0.679$

$E = 0.013$

$Cr = 0.982$

$Ct = 2.031$

$H = 0.686$

$E = 0.007$

$Cr = 0.989$

$Ct = 2.733$

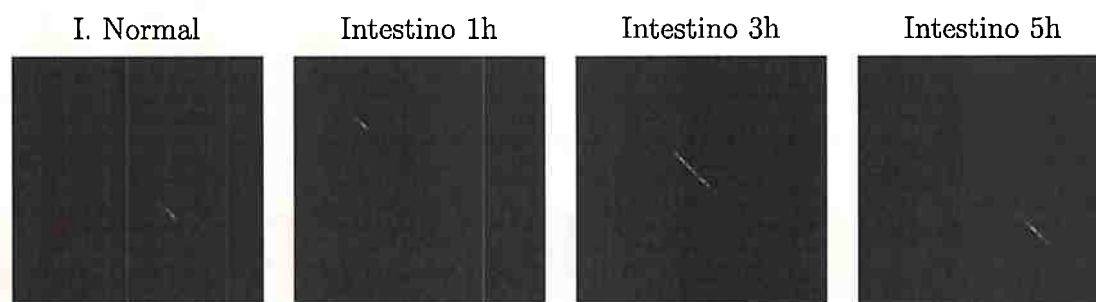
$H = 0.651$

$E = 0.009$

$Cr = 0.981$

$Ct = 2.994$

$H = 0.635$



$E = 0.022$

$Cr = 0.990$

$Ct = 1.421$

$H = 0.716$

$E = 0.020$

$Cr = 0.985$

$Ct = 1.411$

$H = 0.704$

$E = 0.006$

$Cr = 0.991$

$Ct = 2.823$

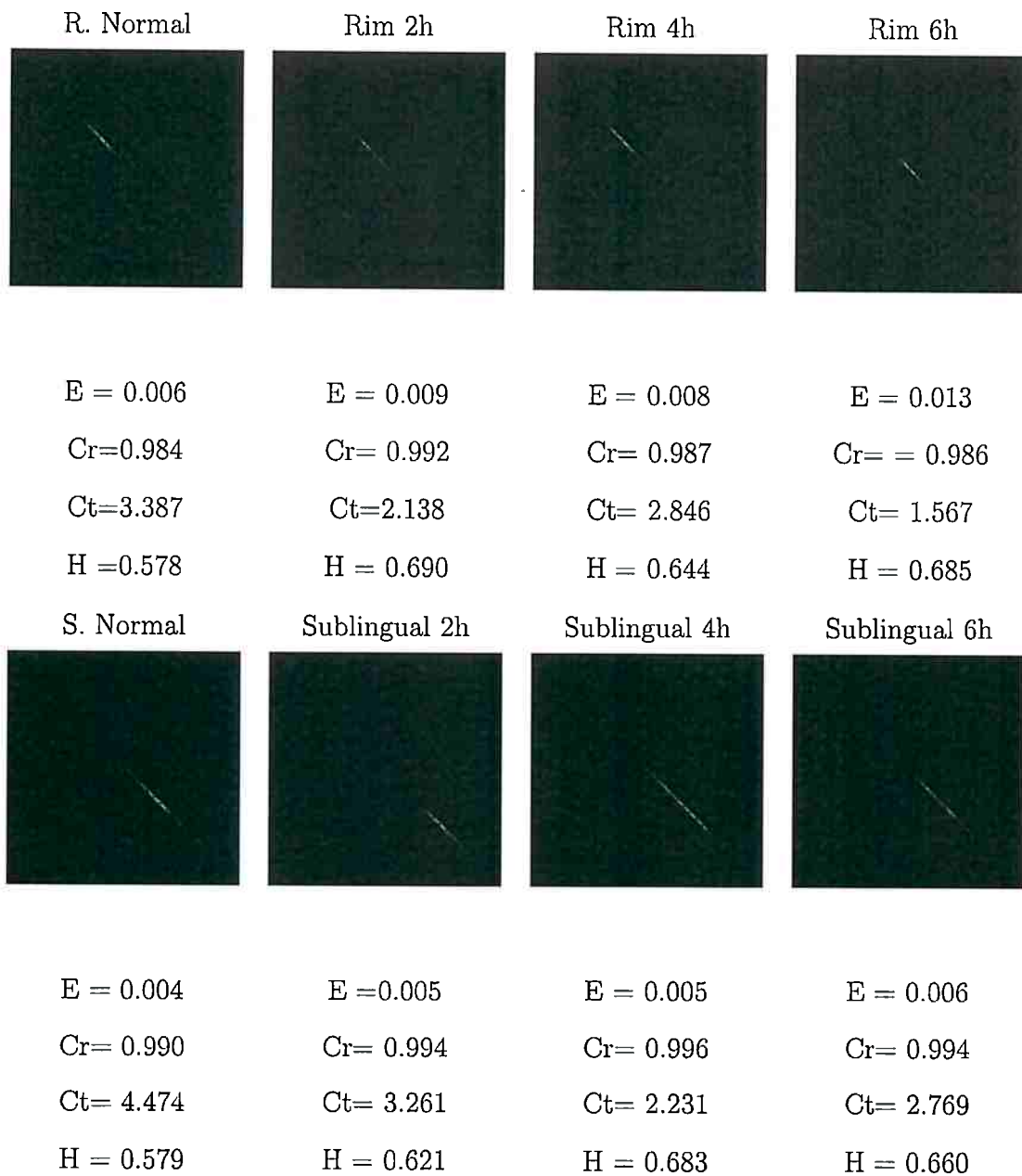
$H = 0.647$

$E = 0.005$

$Cr = 0.991$

$Ct = 5.529$

$H = 0.556$



5.3 Transformada de fourier

5.4 wavelet

[?]

5.5 Características

5.5.1 Gray-Level Co-occurrence Matrix (GLCM)

Definição (I)

- Seja $f_{m \times n}$ uma imagem com L níveis de cinza.
- A **Matriz de co-ocorrência** $T_{L \times L}$, descreve a frequência com que ocorrem transições entre dois pares de pixels de f , separados por um deslocamento (Δ_x, Δ_y) .

O valor $t_{i,j} \in T$ indica a quantidade de transições que ocorrem do nível de cinza i para o nível de cinza j entre os pares de pixels (x, y) e $(x + \Delta_x, y + \Delta_y)$:

$$t_{i,j} = \sum_{x=0}^{m-1} \sum_{y=0}^{n-1} \delta(x, y)$$

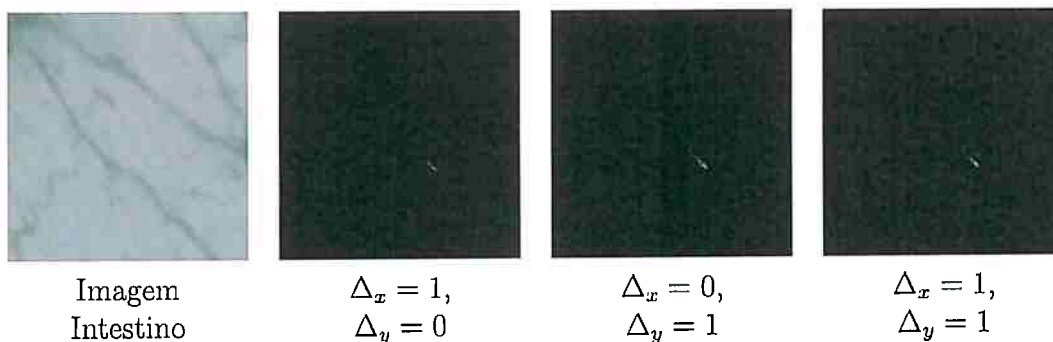
Definição (II)

Na qual $\delta(x, y)$ é definido como:

- 1, se $f(x, y) = i$ e $f(x + \Delta_x, y + \Delta_y) = j$
- 0, caso contrário

É comum encontrar na literatura uma das seguintes combinações para o cálculo da matriz de co-ocorrência.

- $\Delta_x = 1$ e $\Delta_y = 1$
- $\Delta_x = 1$ e $\Delta_y = 0$
- $\Delta_x = 0$ e $\Delta_y = 1$



Exemplo de GLCM

Lista de características. A partir da matriz de co-ocorrência é possível extrair informações estatísticas, as quais podem ser consideradas como características.

Contraste	Correlação
Energia	Homogeneidade
Sombra da distribuição	Dissimilaridade
Proeminência da distribuição	Auto-correlação
Entropia	Probabilidade Máxima
Soma dos quadrados	Soma das médias
Soma das variâncias	Entropia das diferenças
Soma das entropias	Medidas de informação de correlação 1
Diferencia das variâncias	Medidas de informação de correlação 2
Diferença inversa normalizada	Momento da diferença inversa normalizada

Definição das características (I).

Seja $\bar{T}_{L \times L}$ a matriz de co-ocorrência **normalizada** de uma imagem f , com média μ_T , definem-se a média (μ_x), e o desvio padrão (σ_x), referente as colunas como:

$$\mu_x = \sum_{i,j=1}^L \bar{T}(i,j) \times j \quad , \quad \sigma_x = \sqrt{\sum_{i,j=1}^L \bar{T}(i,j) \times (j - \mu_x)^2}$$

Analogamente, definem-se a média (μ_y), e o desvio padrão (σ_y), referente as linhas.

Com isso, as características extraídas de \bar{T} são definidas como:

$$\text{Contraste} = \sum_{i,j=1}^L \bar{T}(i, j) \times (i - j)^2$$

$$\text{Correlação} = \frac{\sum_{i,j=1}^L \bar{T}(i, j) \times (j - \mu_x)(i - \mu_y)}{\sigma_x \times \sigma_y}$$

$$\text{Energia} = \sum_{i,j=1}^L \bar{T}(i, j)^2$$

Definição das características (II).

$$\text{Homogeneidade} = \frac{\sum_{i,j=1}^L \bar{T}(i, j)}{1 + |i - j|}$$

$$\text{Sombra da distribuição} = \sum_{i,j=1}^L \bar{T}(i, j) \times (i + j - \mu_x - \mu_y)^3$$

$$\text{Dissimilaridade} = \sum_{i,j=1}^L \bar{T}(i, j) \times |i - j|$$

$$\text{Proeminência da distribuição} = \sum_{i,j=1}^L \bar{T}(i, j) \times (i + j - \mu_x - \mu_y)^4$$

$$\text{Auto-correlação} = \sum_{i,j=1}^L \bar{T}(i, j) \times (i \times j)$$

$$\text{Entropia (ent)} = \sum_{i,j=1}^L \bar{T}(i, j) \times \log(\bar{T}(i, j) + 1)$$

Definição das características (III).

Probabilidade = $\max(\bar{T})$

Máxima

Soma dos quadrados = $\sum_{i,j=1}^L \bar{T}(i,j) \times (i - \mu_T)^2$

Soma das médias = $\sum_{i,j=1}^L E_{i,j} \times (i + j + 1)$, onde $E_{i,j} = \bar{T}(i,j)$ se o resultado de $(i+j)$ é par; e $E_{i,j} = 0$, no cc.

Soma das Entropias (S_{ent}) = $\sum_{i,j=1}^L -E_{i,j} \times \log(E_{i,j} + 1)$

Soma das variâncias = $\sum_{i,j=1}^L E_{i,j} \times ((i + j + 1) - S_{ent})^2$

Definição das características (IV).

Diferença das variâncias = $\sum_{i,j=1}^L O_{i,j} \times (i + j)^2$, onde $O_{i,j} = \bar{T}(i,j)$ se o resultado de $(i+j)$ é ímpar; e $O_{i,j} = 0$, no cc.

Entropia das diferencias = $\sum_{i,j=1}^L -O_{i,j} \times \log(O_{i,j} + 1)$

- Seja $P_x^j = \sum_{i=1}^L \bar{T}(i,j)$ e $P_y^i = \sum_{j=1}^L \bar{T}(i,j)$, definem-se:

Medidas de informação de correlação

$$= \frac{ent - \sum_{i,j=1}^L \bar{T}(i,j) \times \log(P_x^j \times P_y^i + 1)}{\max(\sum_j^L -P_x^j \log(P_x^j + 1), \sum_i^L -P_y^i \log(P_y^i + 1))}$$

1

Medidas de informação de correlação

$$= \sqrt{(1 - exp(-2 \sum_{i,j=1}^L -P_x^j P_y^i \log(P_x^j P_y^i + 1) - ent))}$$

2

Definição das características (V).

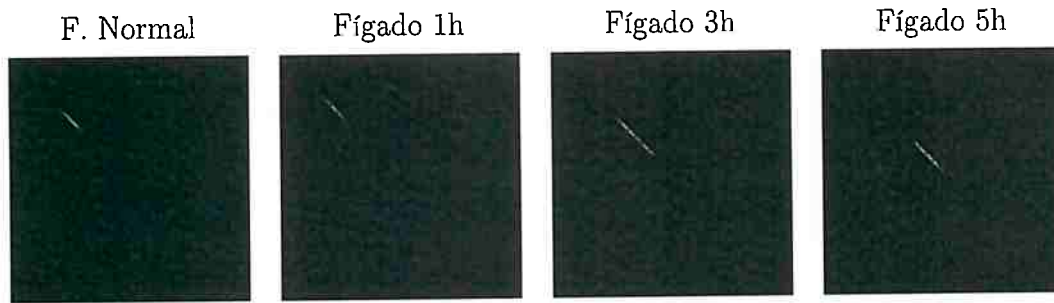
Diferença inversa normalizada:

$$\frac{\sum_{i,j=1}^L \bar{T}(i,j)}{1 + \frac{|i-j|}{L}}$$

Momento da diferença inversa normalizada:

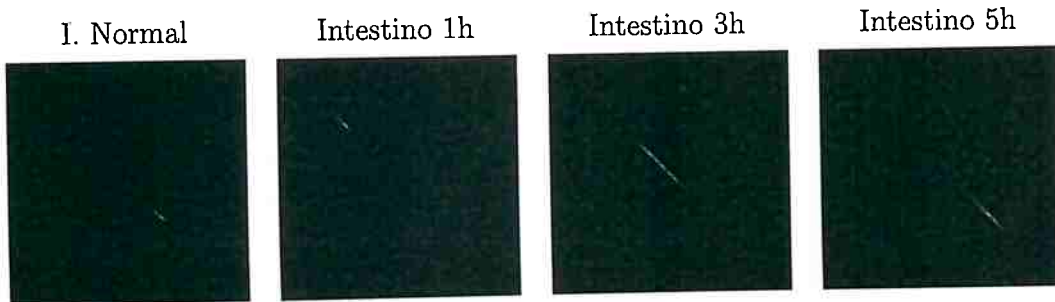
$$\frac{\sum_{i,j=1}^L \bar{T}(i,j)}{1 + (\frac{i-j}{L})^2}$$

Energia(E), Correlação(Cr), Contraste(Ct), Homogeneidade (H)




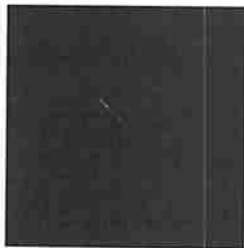
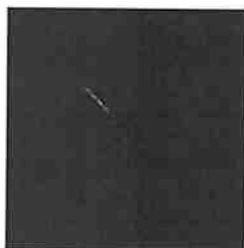
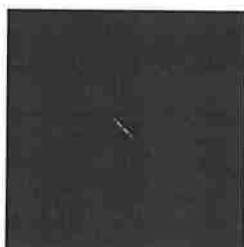


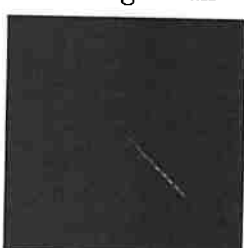
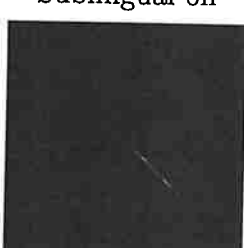
$E = 0.013$	$E = 0.013$	$E = 0.007$	$E = 0.009$
$Cr = 0.981$	$Cr = 0.982$	$Cr = 0.989$	$Cr = 0.981$
$Ct = 1.288$	$Ct = 2.031$	$Ct = 2.733$	$Ct = 2.994$
$H = 0.679$	$H = 0.686$	$H = 0.651$	$H = 0.635$

Energia(E), Correlação(Cr), Contraste(Ct), Homogeneidade (H)



$E = 0.022$	$E = 0.020$	$E = 0.006$	$E = 0.005$
$Cr = 0.990$	$Cr = 0.985$	$Cr = 0.991$	$Cr = 0.991$
$Ct = 1.421$	$Ct = 1.411$	$Ct = 2.823$	$Ct = 5.529$
$H = 0.716$	$H = 0.704$	$H = 0.647$	$H = 0.556$

Energia(E), Correlação(Cr), Contraste(Ct), Homogeneidade (H)

R. Normal	Rim 2h	Rim 4h	Rim 6h
			
$E = 0.006$	$E = 0.009$	$E = 0.008$	$E = 0.013$
$Cr=0.984$	$Cr= 0.992$	$Cr= 0.987$	$Cr= = 0.986$
$Ct=3.387$	$Ct=2.138$	$Ct= 2.846$	$Ct= 1.567$
$H =0.578$	$H = 0.690$	$H = 0.644$	$H = 0.685$
Energia(E), Correlação(Cr), Contraste(Ct), Homogeneidade (H)			
S. Normal	Sublingual 2h	Sublingual 4h	Sublingual 6h
			
$E = 0.004$	$E =0.005$	$E = 0.005$	$E = 0.006$
$Cr= 0.990$	$Cr= 0.994$	$Cr= 0.996$	$Cr= 0.994$
$Ct= 4.474$	$Ct= 3.261$	$Ct= 2.231$	$Ct= 2.769$
$H = 0.579$	$H = 0.621$	$H = 0.683$	$H = 0.660$

5.5.2 Local Binary Patterns (LBP)

Definição (I)

- Utiliza-se em problemas que envolvem análises de textura.

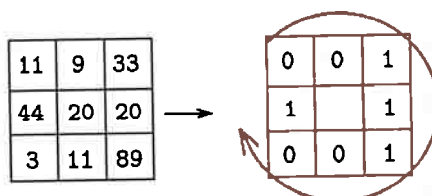
- Extrai características estruturais da imagem mediante padrões binários locais.
- O método consiste em substituir cada intensidade na imagem, por um vetor binário ou pelo seu equivalente decimal.
- Seja $p = (x, y)$ um pixel p na imagem f :

$$LBP(p) = [b_1, b_2, \dots, b_N] , \quad b_i \in [0, 1]$$

- $b_i \leftarrow 1$ se $f(q_i) \geq f(p)$, e $b_i \leftarrow 0$, no c.c. ($\forall q_i \in \nu_p$)
- $\nu_p \leftarrow$ Conjunto dos N vizinhos de p num raio R .

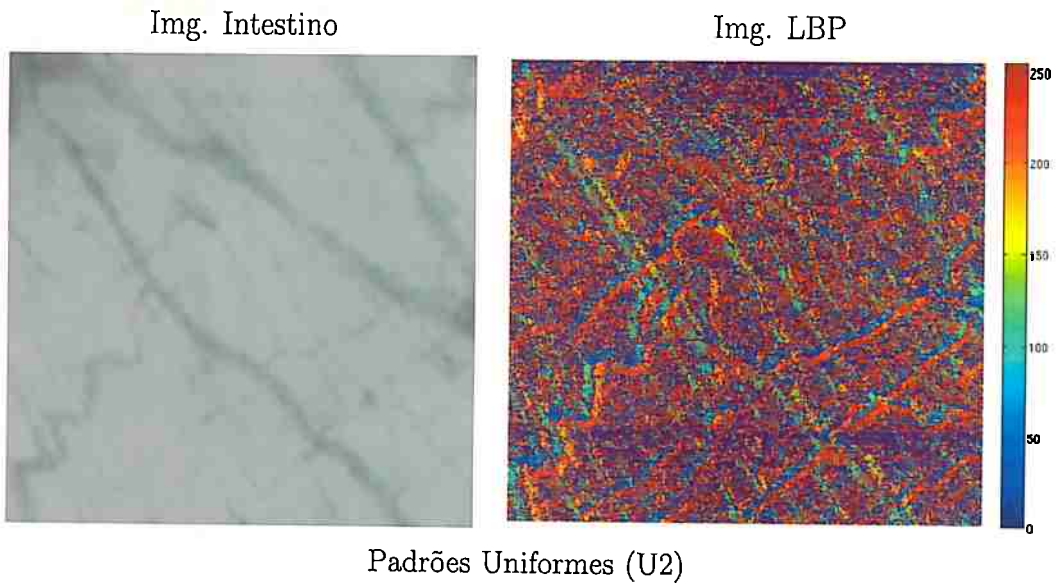
Definição (II)

- Exemplo de LBP com $N = 8$ e com $R = 1$.



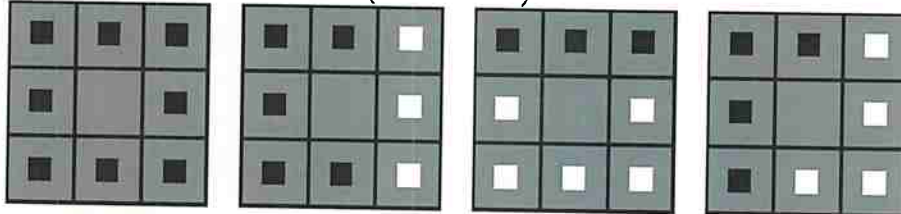
- O pixel central é substituído por $57 = [00111001]_2$
- Com esses parâmetros, é possível gerar 2^8 padrões diferentes.

Exemplo do LBP com $N = 8$ e $R = 1$

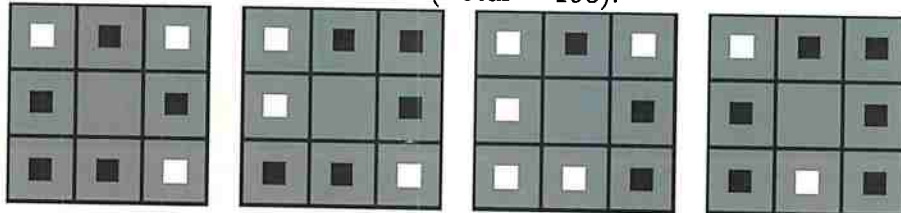


- Um LBP é denominado uniforme se o número de transições de $1 \rightarrow 0$ e de $0 \rightarrow 1$ é ao máximo 2.

- Exemplo de LBP uniformes (Total = 58).



- Exemplo de LBP não uniformes (Total = 198).



Padrões Invariantes a rotação (RI)

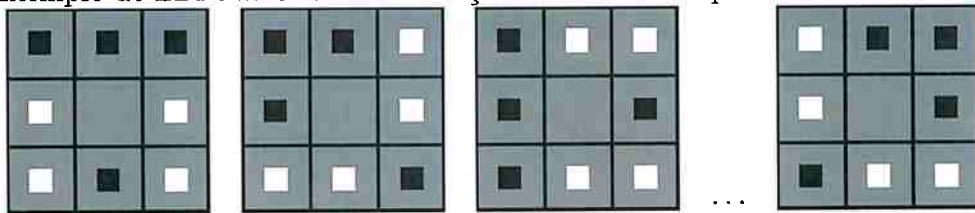
- Dizemos que dois LBPs são equivalentes, se um deles é o resultado do deslo-

camento do outro, exemplo:

$$[00111001] \approx [01110010]$$

- Com $N=8$, é possível gerar 36 tipos de LBPs diferente.

- Exemplo de LBPs invariantes a rotação com o mesmo padrão.



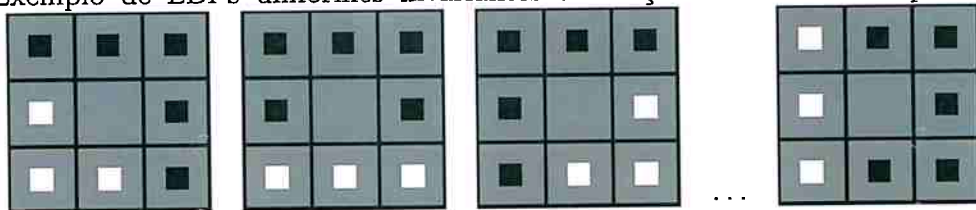
Padrões Uniformes invariantes a rotação (RIU2)

- Nesta abordagem, dois LBPs **uniformes** são considerados equivalentes se um é o resultado do deslocamento do outro. Por exemplo:

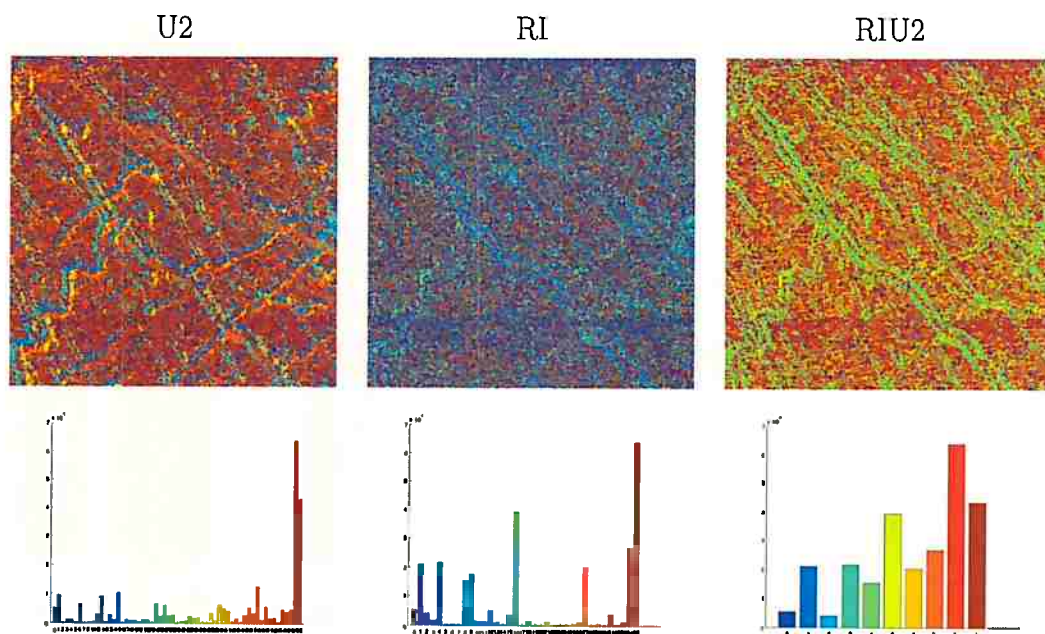
$$[00001111] \approx [11000011]$$

- Com $N = 8$, é possível gerar 9 tipos LBPs diferentes.

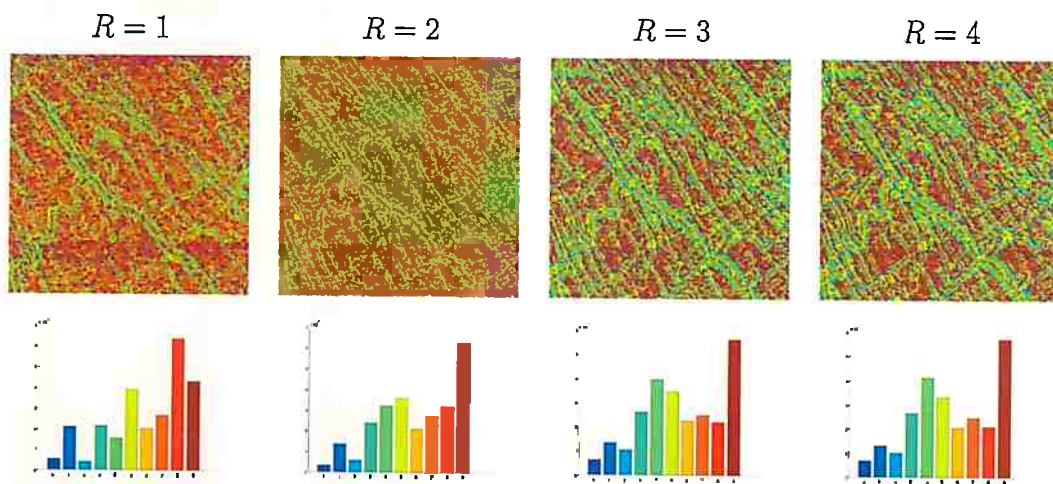
- Exemplo de LBPs uniformes invariantes a rotação com o mesmo padrão.



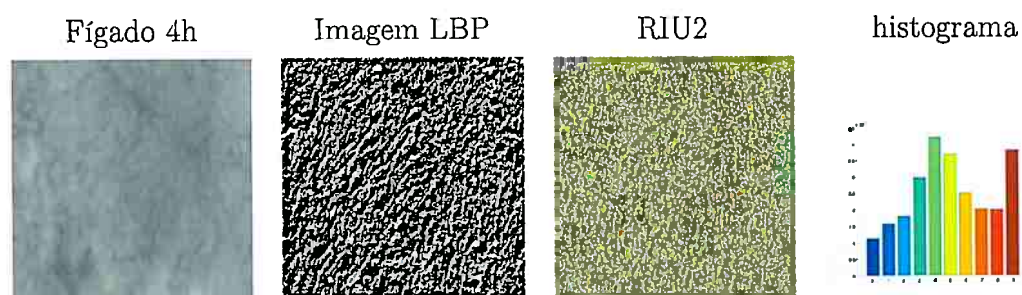
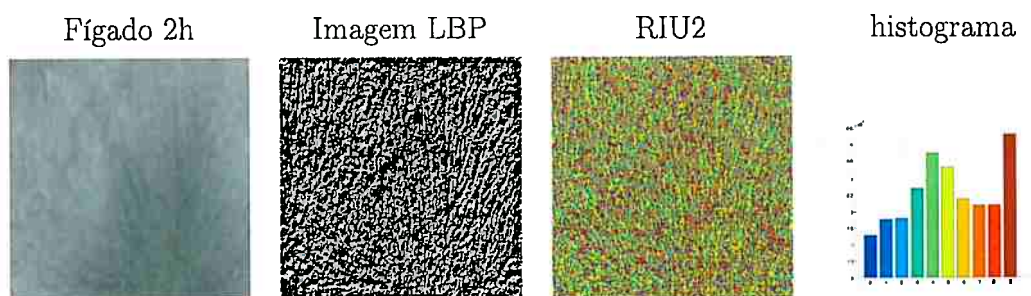
Comparação de padrões LBP



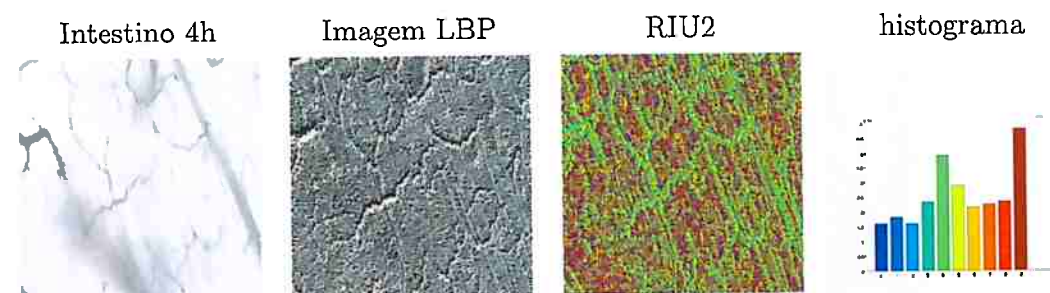
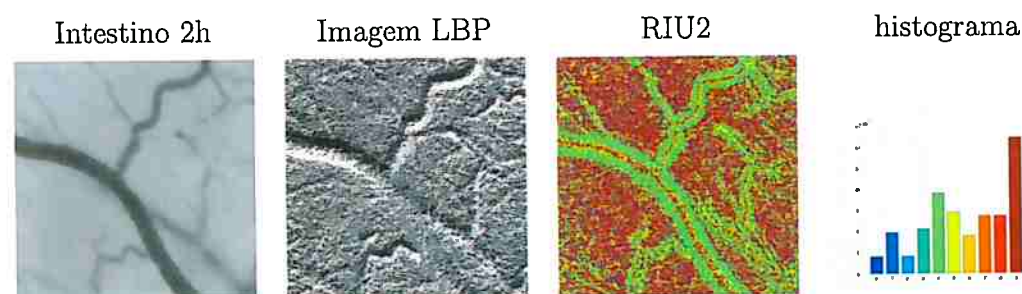
Padrão RIU2: Alterando o valor de R



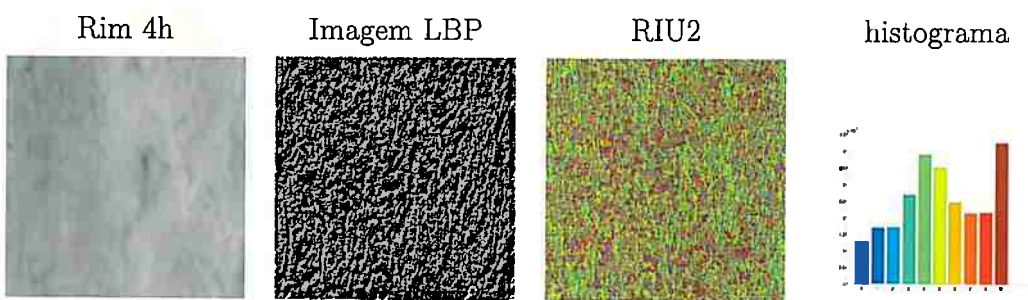
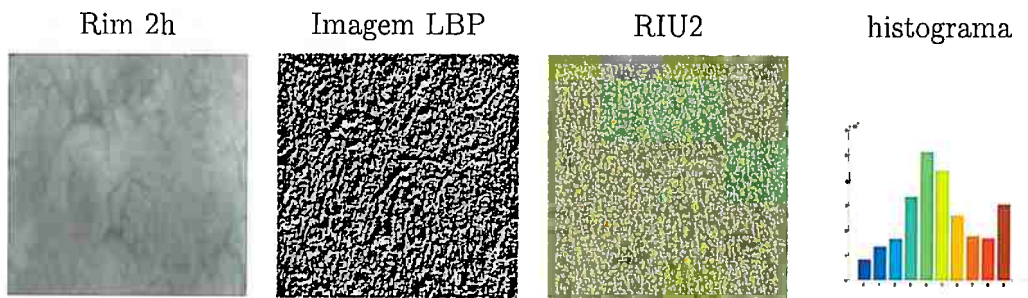
Exemplo do LBP em imagens de Fígado



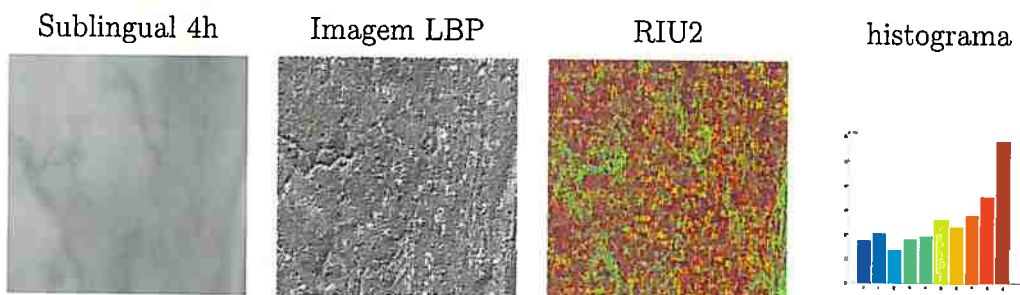
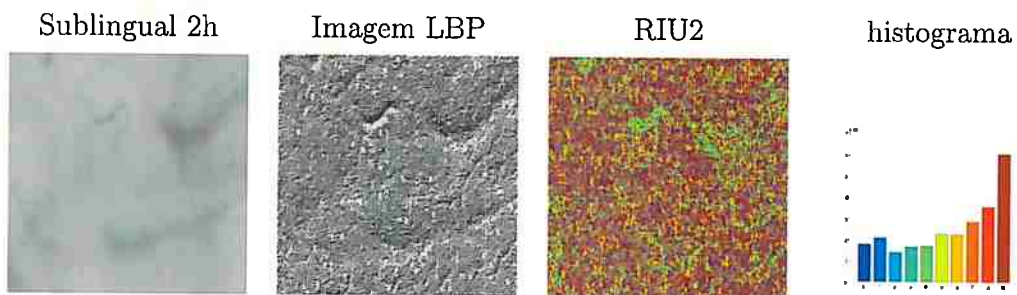
Exemplo do LBP em imagens de Intestino



Exemplo do LBP em imagens de Rim



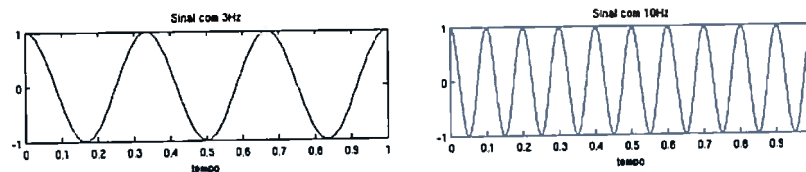
Exemplo do LBP em imagens de Sublingual



5.5.3 Transformada Scattering

Fundamentos: Sinais (Definição)

- Um sinal é uma sequência de estados que informam ou adverte algo. Podem ser analógicos ou digitais.
- Algumas características são: **Amplitude**, se refere ao valor de intensidade mais alto no sinal. **Frequência**, se refere a ao número de ciclos realizados em uma unidade de tempo. É medido em ciclos/segundo, *Hertz (Hz)*.
- Se um sinal muda rapidamente, ele tem frequência alta. Se ele muda suavemente, ele tem frequência baixa e se ele não muda, então a frequência é zero.



Fundamentos: Sinais e Frequências

- Geralmente, sinais com frequências altas são processadas no domínio do tempo, enquanto que sinais com baixa frequência são processados no domínio da frequência.
- No domínio do tempo, a convolução de duas funções é definido a partir da superposição delas em funções do deslocamento existente entre elas. No entanto, no domínio da frequência, a convolução entre duas funções é realizada mediante uma multiplicação simples.

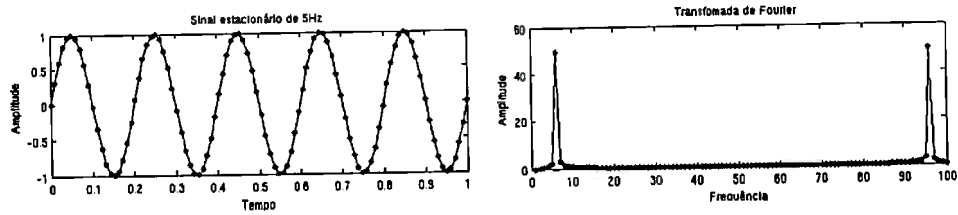
- Se um sinal mantém a suas propriedades estatísticas em diferentes intervalos de tempo, então ele é um **sinal estacionário**. Analogamente, se as propriedades estatísticas variam para uma translação do tempo, então ele é **não estacionário**.
- Como extrair informações relacionadas às frequências contidas num sinal?

Fundamentos: Transformada de *Fourier* (I)

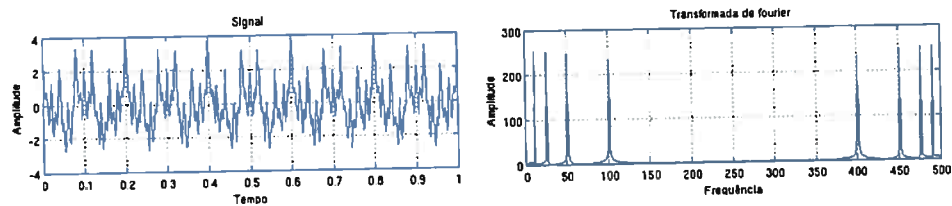
- A Transformada de *Fourier* (FT) pega um sinal representado no domínio do tempo e o representa no domínio da frequência através de funções senoidais de diferentes frequências.
- (Tempo \times Amplitude) $\rightarrow FT \rightarrow$ (Frequência \times Amplitude)
- O Eixo das frequências começam em 0 e vão até o infinito.
- A FT dá resposta a seguinte pergunta: **Quanto de cada frequência existe no sinal?**
- Porém, a FT não nos diz quando é que existem esses componentes de frequência. Essa informação não seria um problema no caso de **sinais estacionários**.
- No entanto, muitos sinais interessantes contém características estacionárias ou transitórias (consideradas parte importante).

Exemplo da Transformada de *Fourier*

- Sinal estacionário com $5Hz$, conformado por 100 pontos.



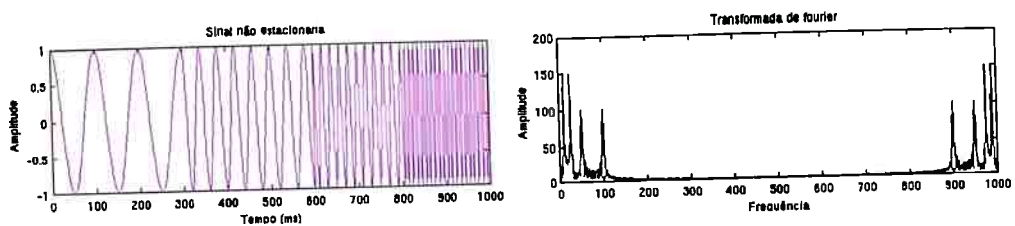
- Sinal estacionário com frequências de 10, 25, 50 e 100 Hz :



- Observe que o espectro da frequência de um sinal com valores reais é sempre simétrico e que cada pico corresponde às frequências presentes no sinal.

Exemplo da Transformada de *Fourier*

- Exemplo da transformada de *Fourier* de um sinal não estacionário formado por trechos da função cosseno com 10 Hz (1-300 ms), 25 Hz (301-600 ms), 50 Hz (601-800 ms) e 100 Hz (801-1000 ms).



- Note que as amplitudes das componentes de frequência de 10 Hz , 25 Hz , 50 Hz e 100 Hz tem picos diferentes. Ou seja, eles não ocorrem em todo o tempo.
- Observe no sinal que a ocorrência de trechos da função cosseno com 10 Hz e 25 Hz é maior que a ocorrência de trechos da função com 50 Hz e 100 Hz . Esse detalhe pode ser facilmente identificado no domínio da frequências.

Transformada de *Fourier*

- Um sinal pode ser expresso como uma soma (infinita) de series de senos e cossenos.
- Fornece informação acerca dos componentes de frequência que existem no sinal.
- Não permite visualizar as informações do tempo e da frequência simultaneamente. Por exemplo, no gráfico anterior sabemos que o sinal é composto por ondas sinusoidais com 4 frequências diferentes, os quais foram corretamente identificados pela transformada de *Fourier*, porém não é possível identificar o instante de tempo em que esses componentes espectrais ocorrem.
- Dado que a maioria dos sinais são **não estacionários**, é fundamental saber “onde” e “quando” esses incidentes ocorrem!

Fundamentos: Transformada de Wavelet (Definição)

- A transformada de *wavelets* (WT), supera as deficiências apresentadas pela transformada de *Fourier*.
- No análises de *wavelets*, o uso da janela modulada totalmente escalável resolve o problema de *signal-cutting*. A janela é transladada ao longo do sinal e para cada posição, calcula-se o espectro.
- O processo é repetido várias vezes com janelas cada vez mais curtas (ou longas), para cada ciclo novo.
- Ao final o resultado será um coleção de representações tempo-frequência do sinal, todos com diferentes resoluções.

- *Wavelet* é uma técnica por janelas com regiões de dimensão variável, onde os *wavelets*, diferentemente de *Fourier*, tem como base uma função de duração limitada (suporte compacto) que é uma propriedade na qual seu domínio é diferente de zero em uma extensão finita e igual a zero em todo o resto.

Fundamentos: Transformada de Wavelet (Definição)

- A transformada de *wavelet* pode ser vista como um mecanismo para decompor ou quebrar sinais nas partes constituintes, permitindo analisar os dados em diferentes domínios de frequências com a resolução de cada componentes amarrada à sua escala.
- Assim como no caso da transformada de *Fourier* quem usa funções senos e cossenos. Os *wavelets* são usados como funções base representar outras funções.
- Fornece informação de tempo e frequência simultaneamente e portanto ter uma representação do sinal de tempo-frequência.
- Criada como uma alternativa para dar solução as limitações apresentadas pelo STFT (*Short Time Fourier Transform*).

Fundamentos: Transformada de Wavelet

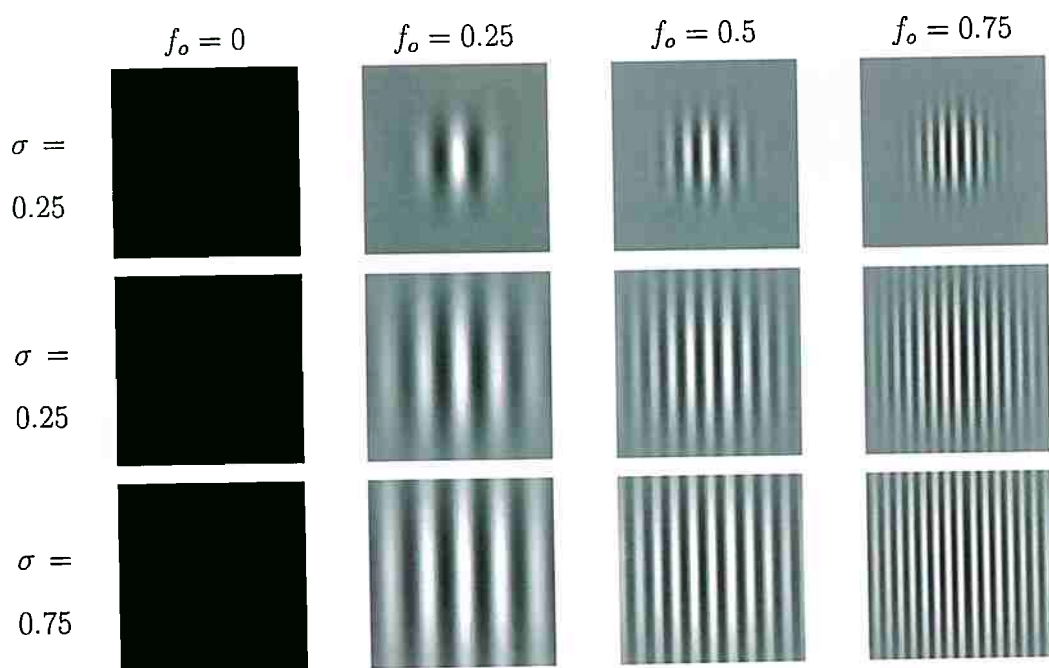
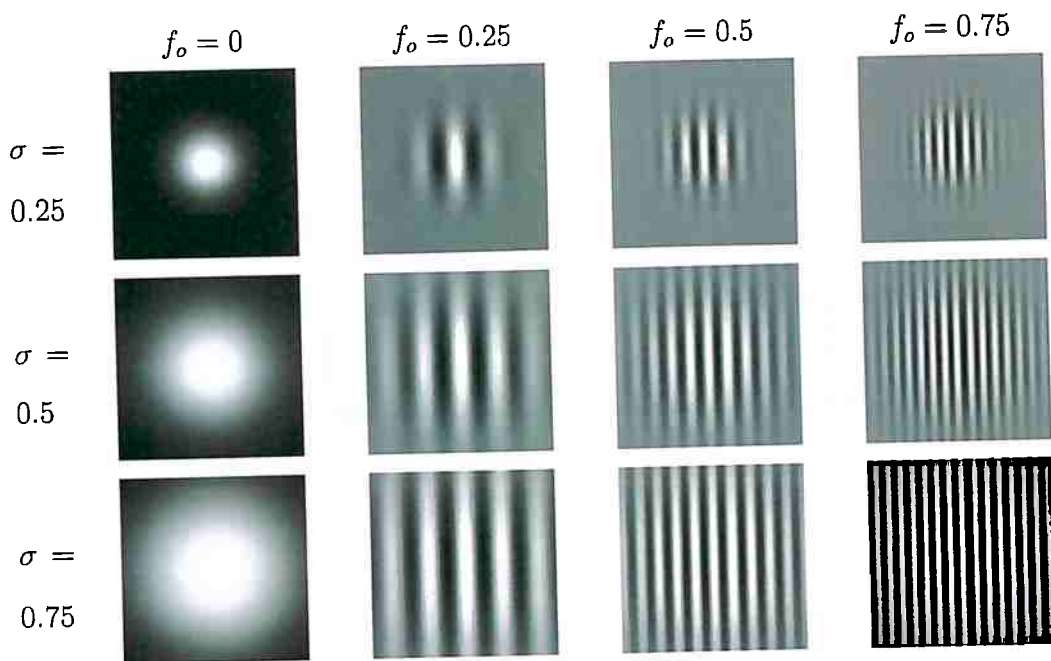
- Os algoritmos de wavelets processam dados em diferentes escalas ou resoluções e independentemente da função de interesse (sinal, imagem, superfície), os wavelets oferecem uma técnica elegante na representação dos níveis de detalhe presente.
- *Wavelets* são localizados tanto em frequência/escala (mediante dilatações) e em tempo (via traslações). Essa localização é uma vantagem em muitos casos.

- No entorno de *wavelets* é mais comum usar o termo “escala” ao invés da palavra “frequência”, pois o termo frequência está relacionado com a transformada de *Fourier*. A escala é definida como o inverso da frequência, assim temos que escalas altas correspondem a frequências baixas e escalas baixas correspondem a altas frequências.
- Comumente usado em processamento de sinais, compressão de dados e em análises de imagens, onde mudanças de regiões ou bordas podem ser detectadas mais facilmente.

Fundamentos: Wavelets (Propriedades)

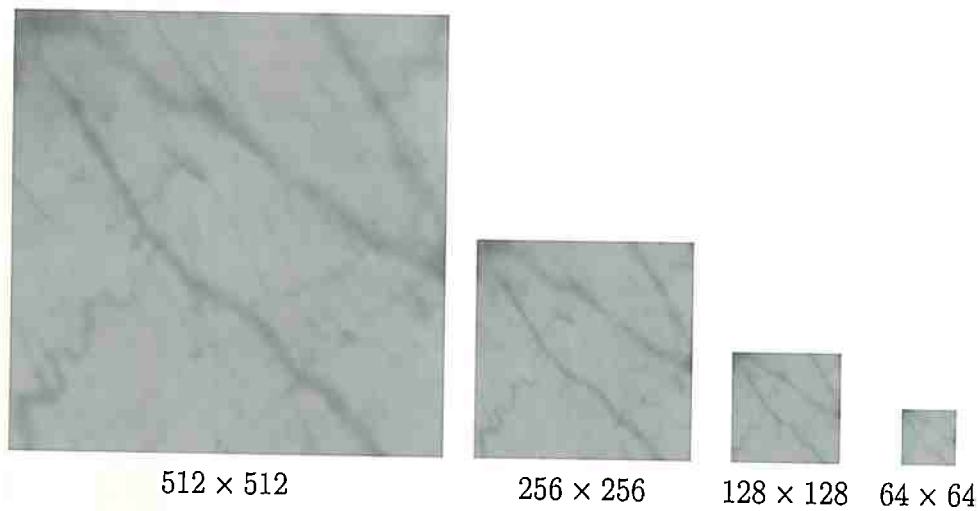
- Várias operações de dados podem ser feitas processando os correspondentes coeficientes de *wavelets*.
- A integral de um *wavelet* é zero. Ou seja a área total sob a curva da função (acima e abaixo) deveria ser zero.
- Cumprir a condição de admissibilidade, a qual permite a existência da transformada inversa de wavelet.

Exemplo de filtros de Wavelet de *Morlet*

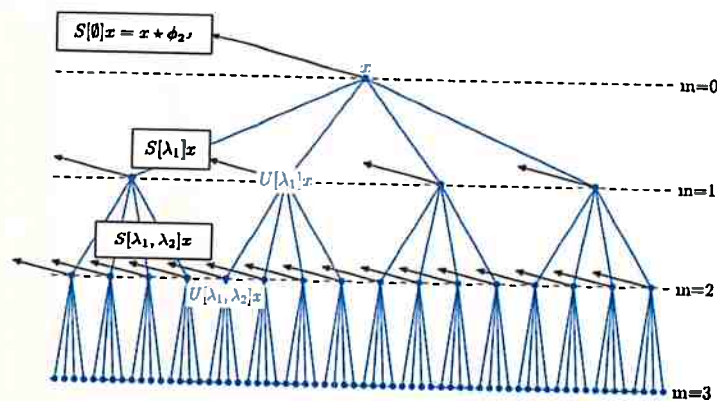
Exemplo de filtros de *Wavelet de Gabor 2D*

Transformada de Scattering :: Definição (I)

Transformada de Scattering :: Definição (II)



Parâmetros *Scattering*: Número de escalas (J) São realizadas convoluções em diferentes resoluções ($J = 4$): Parâmetros *Scattering*: Número de níveis (m) As convoluções são realizadas em diferentes níveis. Em cada nível são realizadas convoluções com filtros de diferentes resolução e escala.



Parâmetros *Scattering*: Número de orientações ($L = 4$)
 São utilizados filtros de *wavelets* com diferente resolução e escala.

Conjunto de filtros Ψ , quando $L = 4$ e $J = 4$

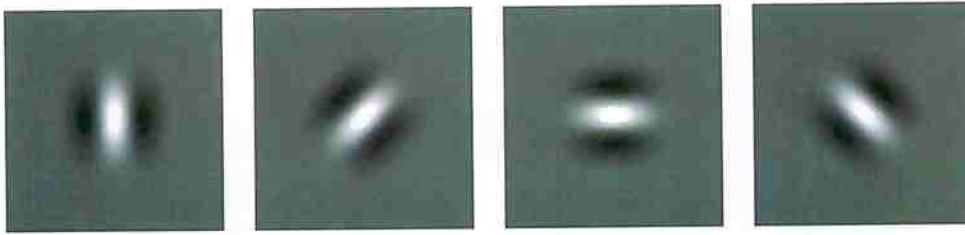


Figura 5.1: Exemplo de filtros de wavelets ($\Psi_{512 \times 512}$) de resolução 512×512 com 4 orientações diferentes. (A visualização corresponde à parte real dos valores)

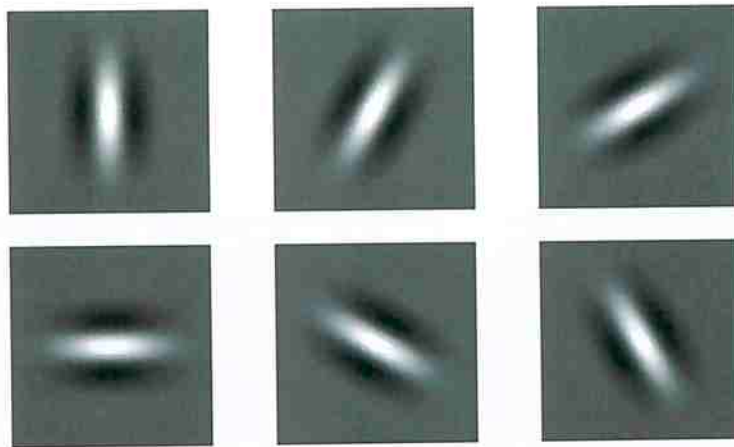
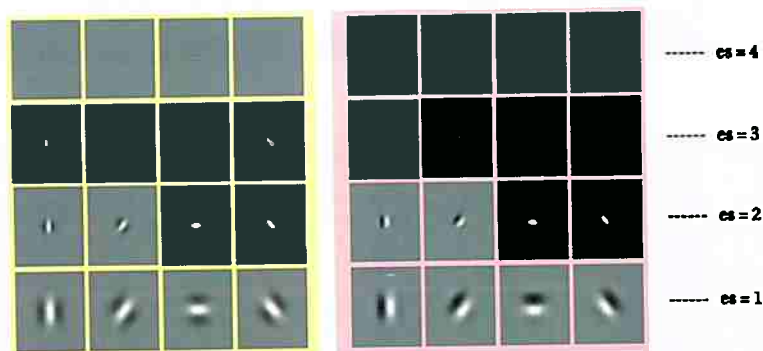


Figura 5.2: Exemplo de filtros de wavelets ($\Psi_{512 \times 512}$) de resolução 512×512 , da sétima escala, com 6 orientações diferentes. (A visualização corresponde à parte real dos valores)



Conjunto de 16 filtros de *wavelets*: A região amarela corresponde à parte real dos valores, enquanto que a região vermelha corresponde a parte imaginária (Todos os filtros têm resolução 512×512).

Conjunto de filtros com 6 orientações ($L = 6$)

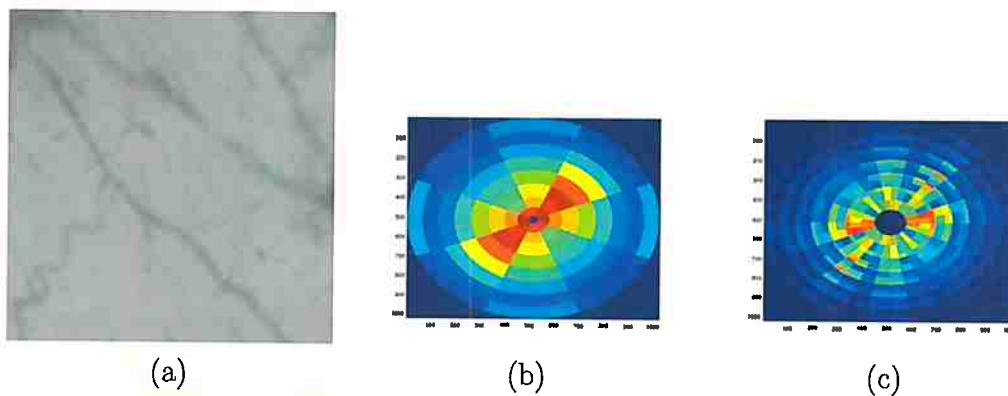
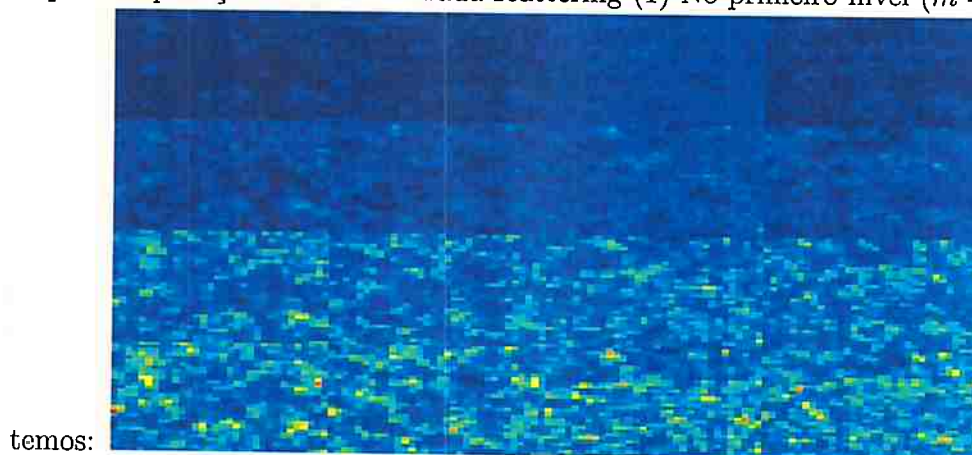


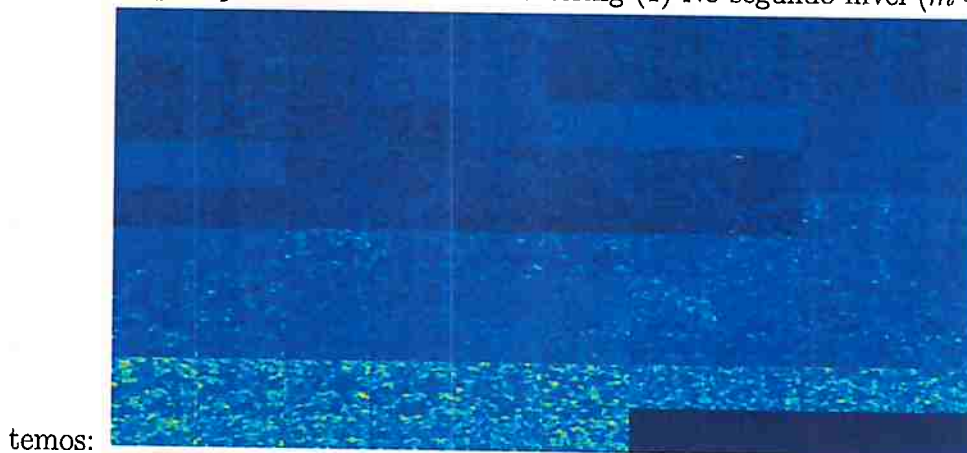
Figura 5.3: Coeficientes de scattering: (a) Imagem intestino (512×512), (b) Coeficientes da 1ª ordem e (c) Coeficientes de 2ª ordem.

Exemplo de aplicação da transformada scattering (1) No primeiro nível ($m = 1$)



temos:

Exemplo de aplicação da transformada scattering (1) No segundo nível ($m = 2$)



temos:

5.6 Método

5.6.1 Dados experimentais

Descrição do experimento

- Foram utilizados vídeos de microcirculação dos seguintes órgãos: Fígado, Intestino, Rim e Sublingual.
- Os vídeos foram adquiridas em seis tempos diferentes de indução da sepse nos ratos:
 - Normal: antes da indução da sepse
 - 1h: após 1 hora da indução
 - 2h: após 2 horas da indução
 - ...
 - 6h: após 6 horas da indução
- A diferença temporal entre dois quadros contínuos é de 15ms

Distribuição dos vídeos coletados Distribuição de número de vídeos coletados
(tempo de exposição × órgão).

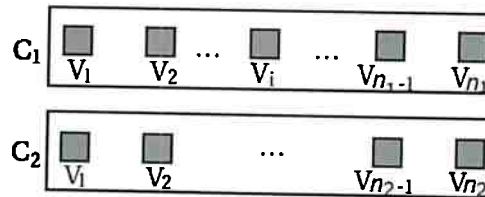
	Normal	1h	2h	3h	4h	5h	6h
Fígado	10	11	9	8	10	11	10
Intestino	12	12	9	8	13	9	10
Rim	10	9	11	8	10	13	12
Sublingual	10	11	10	9	15	12	11

Os vídeos correspondentes a cada órgão foram agrupadas em 3 categorias distintas: **Normal** (vídeos sem sepse), **Horas** (vídeos com exposição de sepse de 1, 2, 3, 4 e 5 horas) e **Sepse6h** (vídeos com exposição de sepse de 6 horas).

5.6.2 Método de Classificação

Abordagem utilizada para classificação

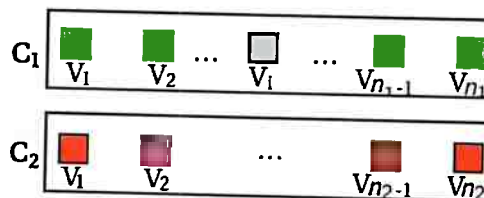
- Sejam C_1 e C_2 , duas classes compostas por n_1 e n_2 vídeos, respectivamente.



- Seja $v_i \in C_1$ um vídeo composto por N_i^1 quadros.
- Para medir o grau de similaridade de v_i entre as classes C_1 e C_2 , fazemos:

Cálculo do grau de similaridade de v_i (I)

1. Escolher 32 quadros aleatórios de todos os vídeos, menos de v_i
2. Criar um vetor de características para cada um desses $32 * (n_1 - 1) * n_2$ quadros escolhidos.
3. Etiquetar os vetores de características correspondentes aos $32 * (n_1 - 1)$ quadros escolhidos da classe C_1 como 1.
4. Analogamente, marcar os vetores de características restantes como 0.



Cálculo do grau de similaridade de v_i (II)

4. Criar um modelo de aprendizado, partir dos vetores de características previamente etiquetadas:

$$f(\mathbf{x}) \rightarrow [0, 1]$$

5. Extrair o vetor de características de cada quadro $I_k \in v_i$, e realizar a predição usando o modelo criado anteriormente.

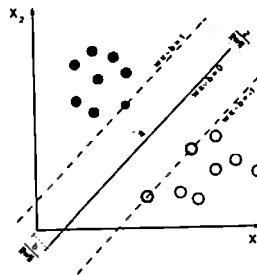
$$y_k \leftarrow f(\mathbf{x}_k), \quad 1 \leq k \leq |v_i|$$

6. Finalmente, Grau de similaridade do vídeo v_i é dado por:

$$\%or = 100 \times \frac{\sum y_k}{|v_i|},$$

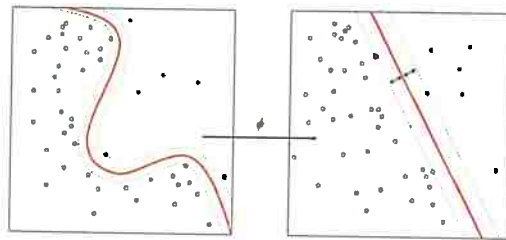
Support Vector Machine (I)

- Máquina de Vetores de Suporte (SVM).
- Serve para resolver problemas de classificação e regressão.
- Utiliza o conceito de hiperplanos linearmente separáveis para separação de classes.



Support Vector Machine (II)

- Para separar vetores que se encontram em espaços não linearmente separáveis são utilizadas funções *kernel*, os quais projetam esses vetores em um espaço de alta dimensão.
- Exemplos de funções *kernel*: Linear, Sigmoidal, RBF e polinomial.



Parâmetros utilizados no SVM

- SVM binário: (Horas × Normal) e (Horas × Sepse6h)
- Validação Cruzada : Método *holdout*
 - 80% para treinamento e
 - 20% para teste
- Paradigma: → monqp
- Kernel → *Gaussian*

Auto-treinamento Foi realizado um auto-treinamento para encontrar os parâmetros do SVM que produzem melhores resultados.

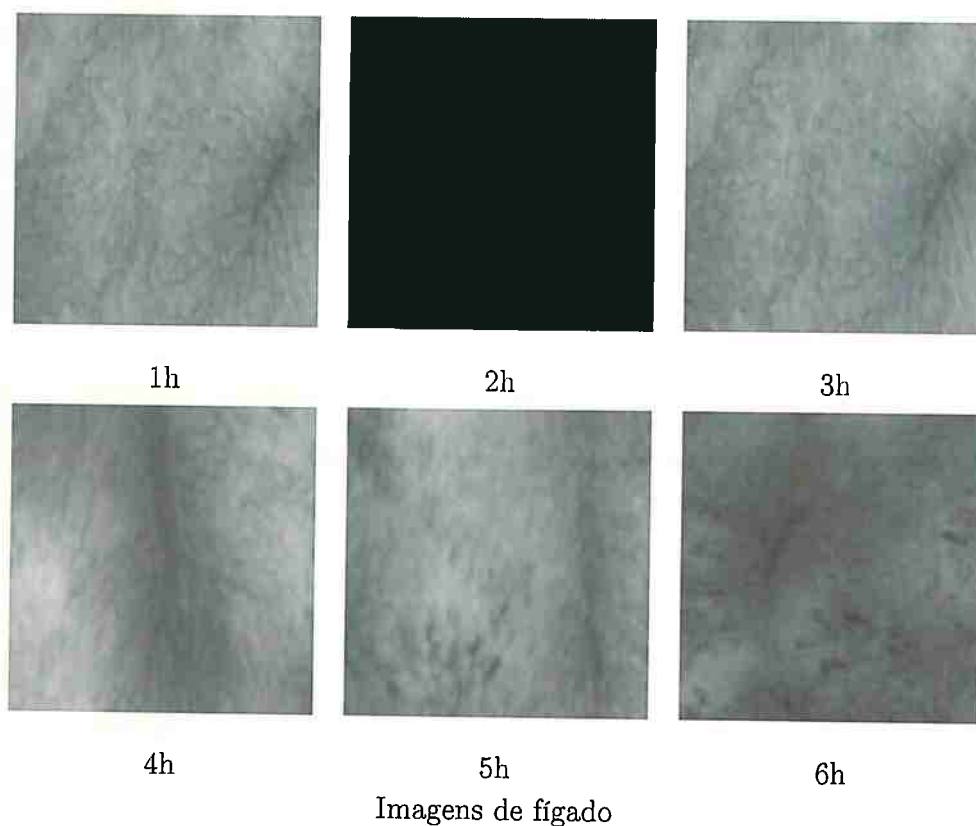
5.7 Nova Abordagem:

5.7.1 Background

Discussão de resultados

- Usando as características da transformada de *scattering*, conseguiu-se os melhores resultados.
- No caso de “Horas × Normal”, os resultados foram de 99.01%. O que significa que usando os coeficientes de *scattering* é possível identificar se um órgão tem ou não doença.
- No entanto, os resultados de “Horas × Sepse6h” não é tão bom como esperado (86%). Disso, deduz-se que a dificuldade em determinar o tempo de exposição de sepse no organismo é maior.
- Analisando a mais detalhe o último resultado, observou-se que o problema radica especificamente em vídeos do fígado, onde conseguiu uma taxa de acerto de 49.51% usando os coeficientes de *scattering* como características e 71.45% de acerto, quando é usado padrões binários locais.
- **Por qué o LBP funciona melhor em imagens de Fígado?**

Imagens de fígado



- A informação de textura é mais rica em imagens de fígado: intensidade dos vasos sanguíneos, machas ao redor dos ramos vasculares, manchas geradas por coágulos, etc.
- A transformada de *scattering* extrai informação relacionada a morfologia dos vasos sanguíneos. Porém, em todas as fases da doença, maior parte da morfologia é mantida.
- Os padrões binários locais são de utilidade para extrair essa informação.
- Porém, 71.45% de taxa acerto ainda é pouco desde nossa percepção.
- Como melhorar os resultados obtidos quando usamos características do tipo LBP?

5.7.2 Formulação

Histograma LBP

- Como sabemos, a imagem LBP f_{lbp} de uma imagem f é uma imagem de igual dimensões, onde cada pixel está associado a um padrão binário.
- A partir de f_{lbp} é gerado um histograma h_{lbp} o qual representa o conjunto de características da imagem em análises.
- O histograma h_{lbp} armazena informação relacionada à quantidade de padrões presentes na imagem. Porém, existe uma carência de informação relacionada à vizinhança local dos padrões. Por exemplo, seria fundamental saber se existe relação entre padrões de diferente tipo.
- Como extrair essa informação?

Matriz de co-ocorrência de padrões binários locais (LBP-CM)

- Uma forma válida de extrair informação relacionada à vizinhança local dos padrões é mediante o uso da matriz de ocorrência.
- Dado que a imagem f_{lbp} terá $N + 2$ valores possíveis, então a dimensão da matriz de co-ocorrência relativa a f_{lbp} será de $(N + 2) \times (N + 2)$

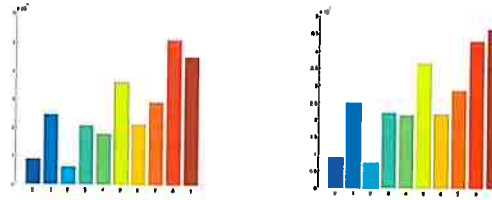


Fígado 3h

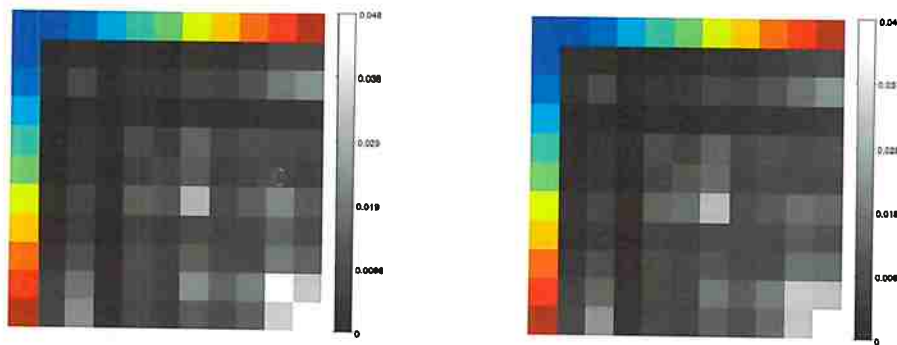


Fígado 5h

Histograma de padrões binários locais



Matriz de co-ocorrência dos padrões binários locais (valores normalizados).



LBP-CM

- Na fase de classificação, foi necessário converter a matriz de co-ocorrência para um vetor.
- Além disso, para comparar os resultados obtidos pela abordagem de matriz de co-ocorrência e do histograma foi necessário usar as mesmas configurações feita no caso do histograma.
- Desta maneira, o vetor de características geral está composto pela união de 3 matriz de co-ocorrências LBP, geradas pelo seguintes parâmetros: $(N = 8, R = 1)$, $(N = 16, R = 2)$ e $(N = 24, R = 4)$.

5.7.3 Comparações

Comparação entre abordagens: Horas \times Normal

Abordagem	Órgão			
	Fígado	Intestino	Rim	Sublingual
GLCM	52.23	97.76	82.18	64.79
LBP	72.04	89.10	93.23	83.84
SCATT	99.89	96.08	100.0	100.0
LBP+GLCM	63.82	86.81	95.61	66.75
GLCM+SCATT	99.93	94.74	100.0	100.0
LBP+SCATT	99.94	96.45	100.0	100.0
LBP+GLCM+SCATT	99.96	96.53	100.0	100.0
LBP-CM	97.82	96.41	98.91	87.79

Comparação entre abordagens: Horas × Sepse6h

Abordagem	Órgão			
	Fígado	Intestino	Rim	Sublingual
GLCM	59.72	89.94	58.52	57.31
LBP	71.45	53.54	55.60	52.18
SCATT	49.51	100.0	95.41	98.42
LBP+GLCM	72.50	68.89	49.35	47.75
GLCM+SCATT	49.44	100.0	95.41	93.23
LBP+SCATT	49.28	100.0	95.65	94.14
LBP+GLCM+SCATT	49.20	100.0	95.76	99.46
LBP-CM	93.86	96.66	92.18	79.55

5.8 Resultados Individuais

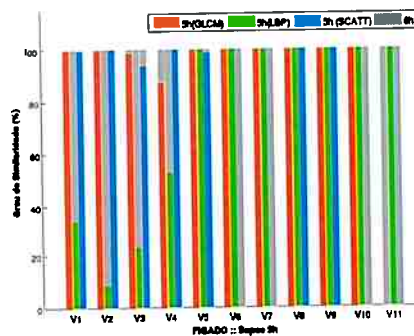
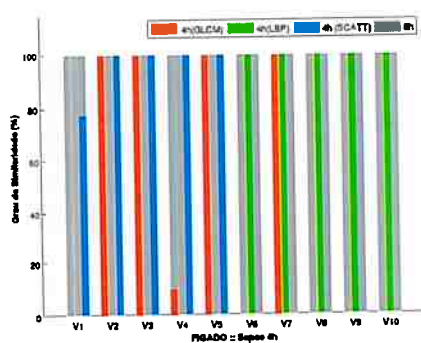
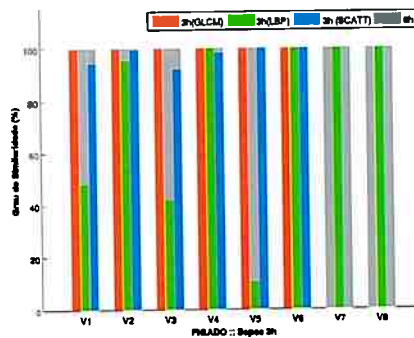
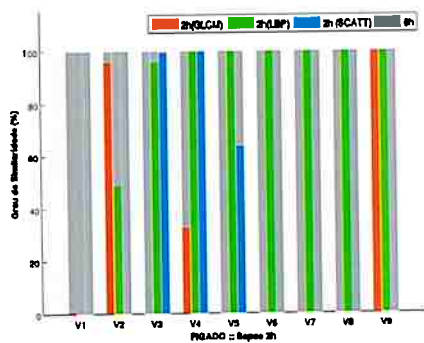
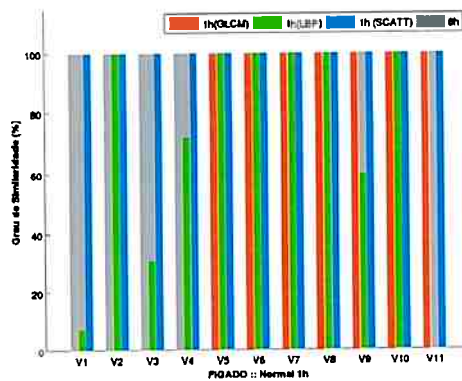
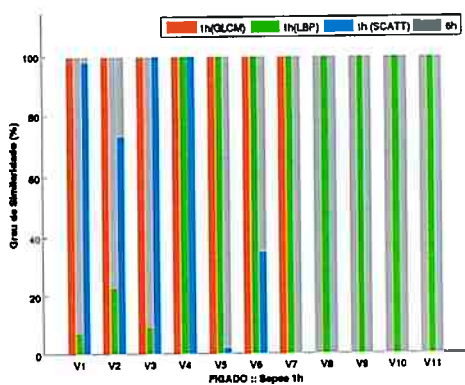
5.8.1 Background

Comparando GLCM \times LBP \times Scattering Todas as características foram extraídas a partir de imagens tamanho 512×512 ($2^9 \times 2^9$).

- *Scattering*
 - Vetor de características composta pelos coeficientes de *wavelets*.
 - $J = 8 \rightarrow 8$ resoluções diferentes: $2^9 \times 2^9, 2^8 \times 2^8, \dots, 2^2 \times 2^2$
 - $m = 2 \rightarrow 2$ níveis de convoluções
 - $L = 4 \rightarrow 4$ filtros de diferentes orientações:
- LBP
 - Padrões uniformes invariantes a rotação (*RIU2*)
 - Vetor de características composto pela união de 3 histogramas LBP :
($N = 8, R = 1$), ($N = 16, R = 2$) e ($N = 24, R = 4$)
- GLCM
 - Vetor de características extraídas da matriz de co-ocorrência.

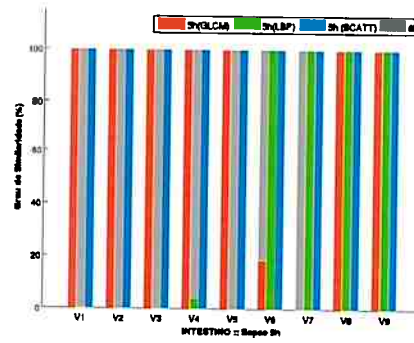
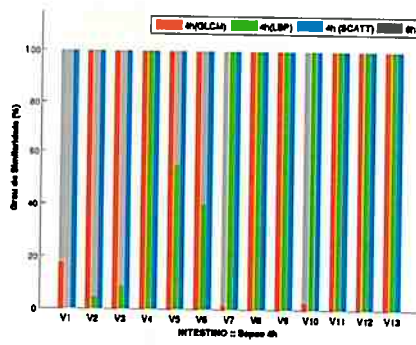
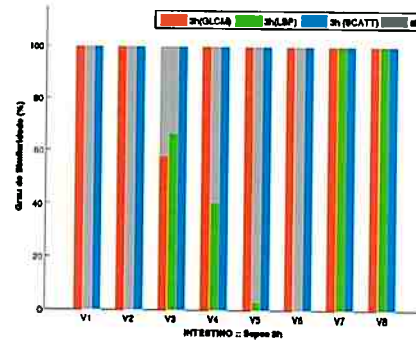
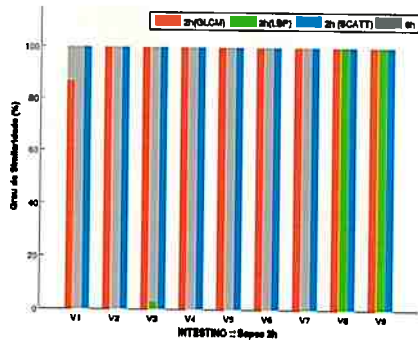
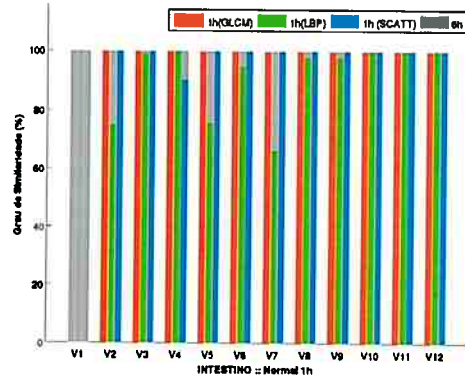
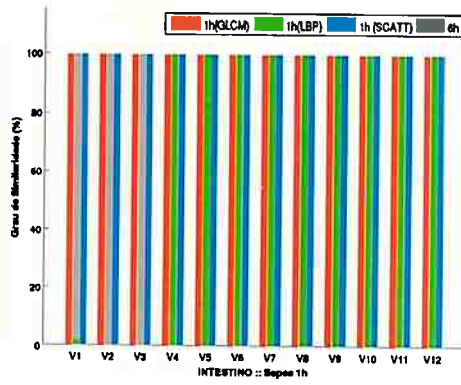
5.8.2 Órgão: Fígado

Resultados SVM: 1h



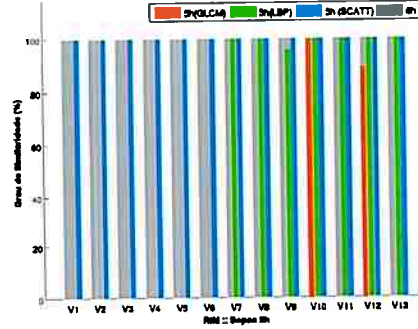
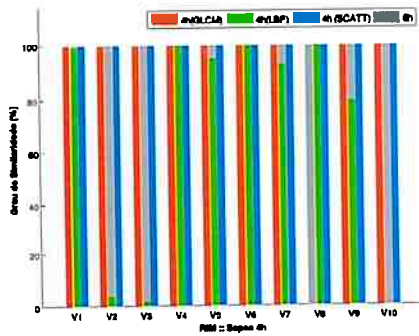
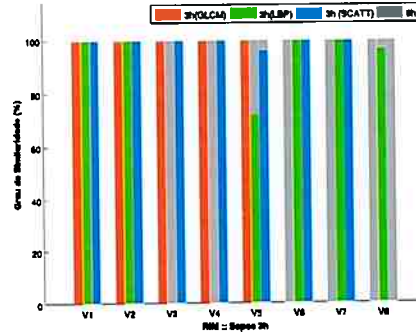
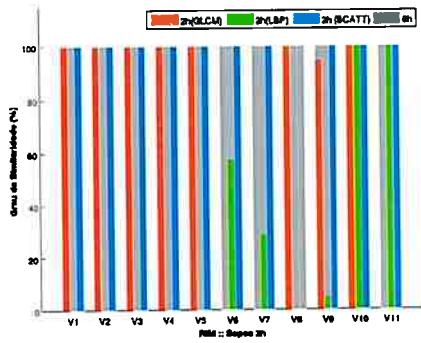
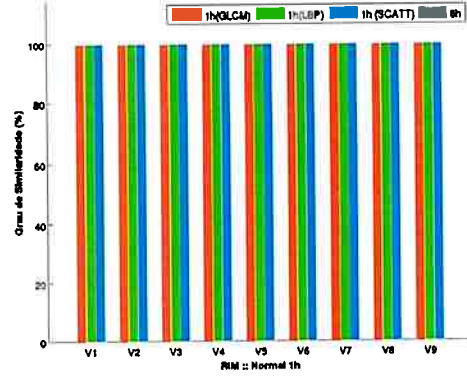
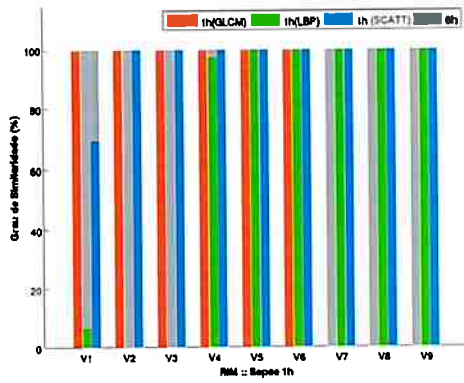
5.8.3 Órgão: Intestino

[Intestino] Resultados SVM: 1h



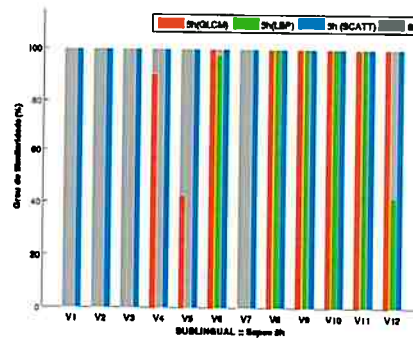
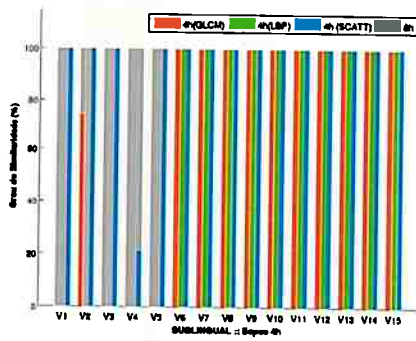
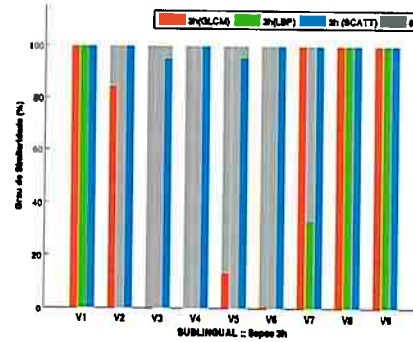
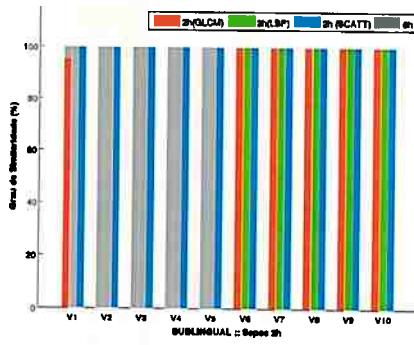
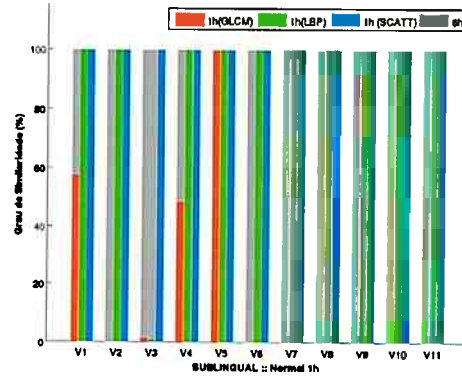
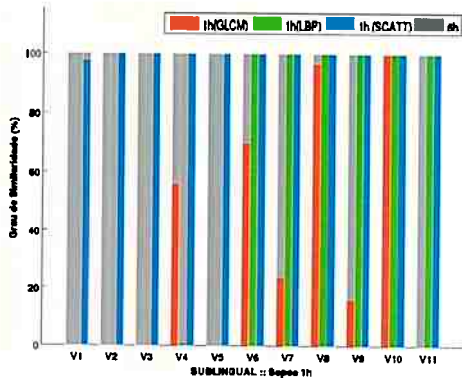
5.8.4 Órgão: Rim

[Rim] Resultados SVM: 1h



5.8.5 Órgão: Sublingual

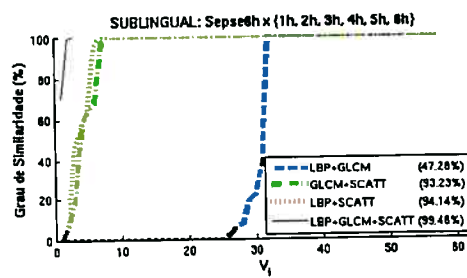
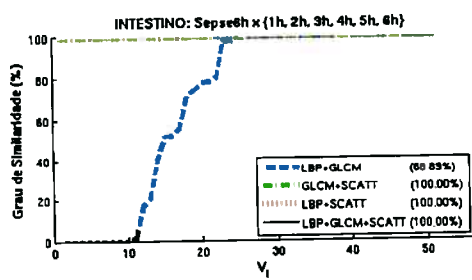
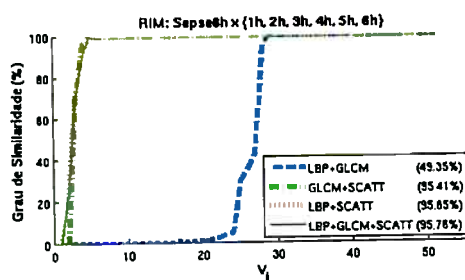
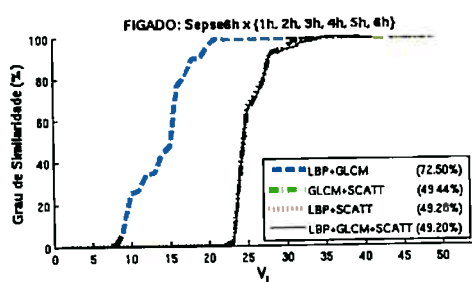
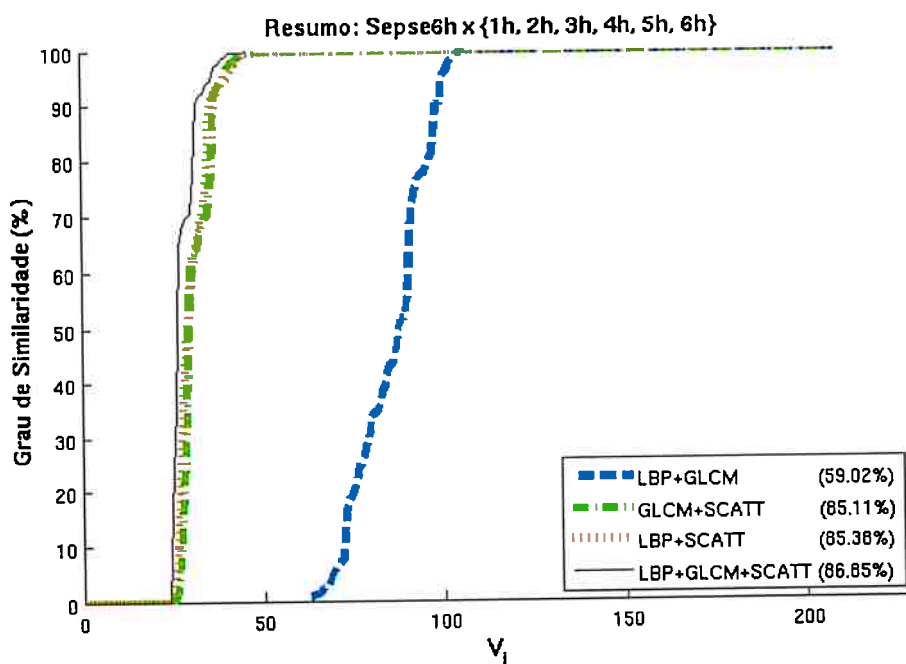
[Sublingual] Resultados SVM: 1h



5.9 Resultados Grupais:

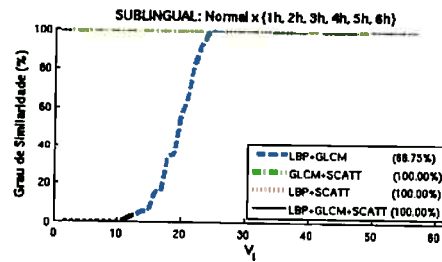
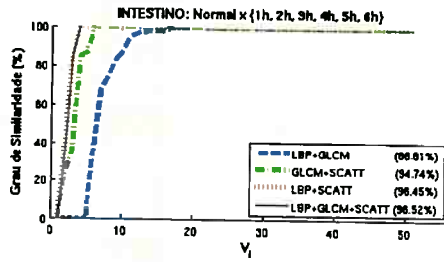
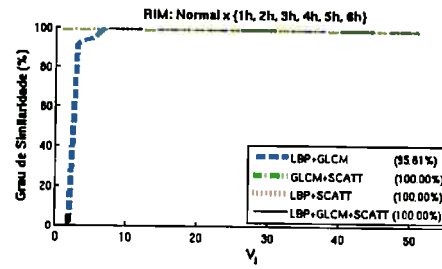
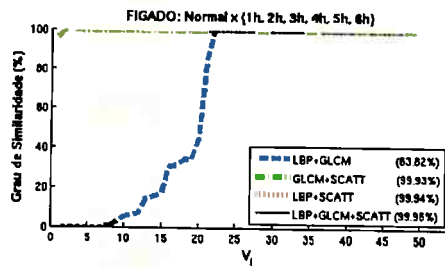
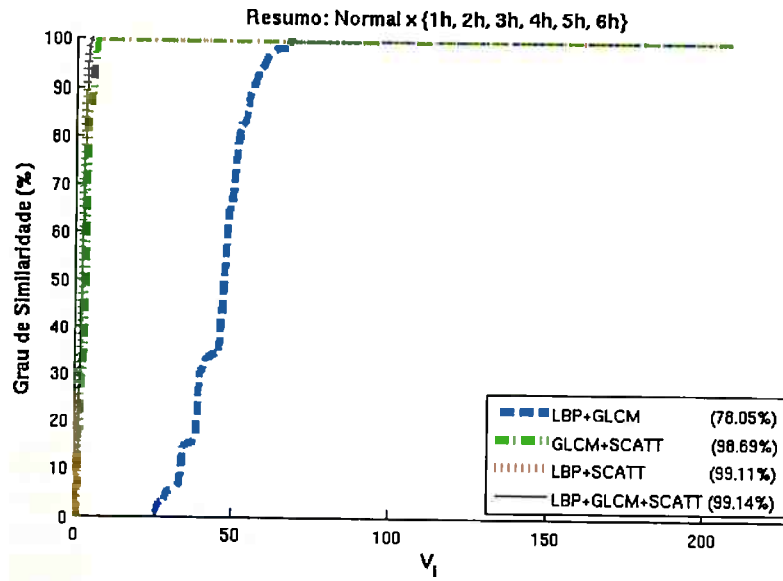
5.9.1 Horas × Sepse6h

Resumo Geral: Horas × Sepse6h



5.9.2 Horas x Normal

Resumo Geral: Horas x Normal



Bibliografia

- A., M. & SONG X., S. (2010). Intensity-based image registration by minimizing residual complexity. *IEEE Trans. on Medical Imaging* **29**, 1882–1891.
- A., M. & X., S. (2009). Adaptive regularization of ill-posed problems: Application to non-rigid image registration. *Technical Report OHSU 0906.3323v1*.
- ABRAMOFF, M. D., MAGELHAES, P. J. & RAM, S. J. (2004). Image processing with imagej. *Biophotonics Int* **11**(7), 36–42.
- BALAFAR, M., RAMLI, A., SARIPAN, M. & MASHOHOR, S. (2008). Medical image segmentation using fuzzy c-mean (fcm), bayesian method and user interaction. In: *Wavelet Analysis and Pattern Recognition, 2008. ICWAPR '08. International Conference on*, vol. 1.
- BARRERA, J. & BRUN, M. (1998). Translation invariant transformations of discrete random sets. In: *Computer Graphics, Image Processing, and Vision, 1998. Proceedings. SIBGRAPI '98. International Symposium on*.
- BEZEMER, R., DOBBE, J. G. G., BARTELS, S. A., BOERMA, E. C., ELBERS, P. W. G., HEGER, M. & INCE, C. (2011). Rapid automatic assessment of

- microvascular density in sidestream dark field images. *Medical Biology Engineering and Computing* 49(11), 1269–1278.
- BONDY, J. & MURTY, U. (2008). *Graph Theory*. Graduate texts in mathematics. Springer. URL <http://books.google.com.br/books?id=V0gUTxkOSboC>.
- BORNET, O. (2008). Opencv Library Wiki. URL [\url{http://opencvlibrary.sourceforge.net/}](http://opencvlibrary.sourceforge.net/). Última consulta em juho de 2008.
- BUMBY, R. T. (1985). Hausdorff dimension of sets arising in number theory. In: *Number theory*. Springer, pp. 1–8.
- CANNY, J. (1986). A computational approach to edge detection. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 8(6), 679–698.
- COSTA, L. F. & JR., R. M. C. (2001). *Shape analysis and classification: theory and practice*. CRC Press.
- DE BACKER, D., DONADELLO, K. & CORTES, D. O. (2012). Monitoring the microcirculation. *Journal of clinical monitoring and computing* 26(5), 361–366.
- DE BACKER, D., DONADELLO, K., TACCONE, F. S., OSPINA-TASCON, G., SALGADO, D., VINCENT, J.-L. *et al.* (2011). Microcirculatory alterations: potential mechanisms and implications for therapy. *Ann Intensive Care* 1(1), 27.
- DEMIR, S. U., HAKIMZADEH, R., HARGRAVES, R. H., WARD, K. R., MYER, E. V. & NAJARIAN, K. (2012). An automated method for analysis of microcirculation videos for accurate assessment of tissue perfusion. *BMC medical imaging* 12(1), 1.

- DUDA, R. O., HART, P. E. & STORK, D. G. (2000). *Pattern Classification*. Wiley-Interscience, 2 ed.
- FALCÃO, A. X., STOLFI, J. & DE ALENCAR LOTUFO, R. (2004). The image foresting transform: Theory, algorithms, and applications. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.* **26**(1), 19–29.
- FUKUNAGA, K. (1990). *Introduction to Statistical Pattern Recognition*. Academic Press, 2 ed.
- GALLEGOS, A. M. & SIMO, A. (2003). Random closed set models: Estimating and simulating binary images. *Image Anal Stereol* **22**, 133–145.
- GOEDHART, P. T., KHALILZADA, M., BEZEMER, R., MERZA, J. & INCE, C. (2007). Sidestream dark field (sdf) imaging: a novel stroboscopic led ring-based imaging modality for clinical assessment of the microcirculation. *Optics Express* **15**.
- GOLDBERGER, A. L., AMARAL, L. A., HAUSDORFF, J. M., IVANOV, P. C., PENG, C.-K. & STANLEY, H. E. (2002). Fractal dynamics in physiology: alterations with disease and aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**(Suppl 1), 2466–2472.
- GONZALEZ, R. C. & WOODS, R. E. (2008). *Digital Image Processing*. Prentice Hall, 3 ed.
- GOUTSIAS, J. (1992). Morphological analysis of discrete random shapes. *Journal of Mathematical Imaging and Vision* **2**, 193–215.
- GREIG, D. M., PORTEOUS, B. T. & SEHEULT, A. H. (1989). Exact maximum a

- posteriori estimation for binary images. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* , 271–279.
- HALSEY, T. C., JENSEN, M. H., KADANOFF, L. P., PROCACCIA, I. & SHRAIMAN, B. I. (1986). Fractal measures and their singularities: the characterization of strange sets. *Physical Review A* **33**(2), 1141.
- HORSFIELD, K. (1980). Are diameter, length and branching ratios meaningful in the lung? *Journal of Theoretical Biology* **87**(4), 773–784.
- HORTON, R. E. (1945). Erosional development of streams and their drainage basins; hydrophysical approach to quantitative morphology. *Geological Society of America Bulletin* **56**(3), 275–370.
- INCE, C. (2005). The microcirculation is the motor of sepsis. *Critical Care* **9**(Suppl 4), S13–S19.
- JACOB, M. & UNSER, M. (2004). Design of steerable filters for feature detection using canny-like criteria. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* **26**, 1007–1019.
- KOH, I. H. J. I., MENCHACA-DIAZ, J. L. J., KOH, T. H. T., SOUZA, R. R., SHU, C. M. C., ROGERIO, V. E. V. & LIBERATORE, A. M. A. (2010). Microcirculatory evaluation in sepsis: a difficult task. *Shock* **34**(7), 27–33.
- LAM, L., LEE, S.-W. & SUEN, C. Y. (1992). Thinning methodologies—a comprehensive survey. *IEEE Transactions on pattern analysis and machine intelligence* **14**(9), 869–885.
- LAUTERBORN, W. & PARLITZ, U. (1988). Methods of chaos physics and their

- application to acoustics. *The Journal of the Acoustical Society of America* **84**, 1975.
- LOWE, D. G. (1985). *Perceptual Organization and Visual Recognition*. Kluwer Academics.
- LUGOSI, G., GYÖRFI, L. & DEVROYE, L. (1996). *A Probabilistic Theory of Pattern Recognition (Stochastic Modelling and Applied Probability)*. Publisher: Springer; Corrected edition.
- M, S., CS, D., C, S. & ET AL (2016). The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA* **315**(8), 801–810. URL +<http://dx.doi.org/10.1001/jama.2016.0287>.
- MANDELBROT, B. B. (1983). *The fractal geometry of nature*/revised and enlarged edition. *New York, WH Freeman and Co., 1983, 495 p. 1.*
- MANDELBROT, B. B. & BLUMEN, A. (1989). Fractal geometry: What is it, and what does it do?[and discussion]. *Proceedings of the Royal Society of London. A. Mathematical and Physical Sciences* **423**(1864), 3–16.
- MATHERON, G. (1975). *Random sets and integral geometry*. John Wiley & Sons.
- MYRONENKO A., S., SONG X. & J., D. (2007a). Lv motion tracking from 3d echocardiography using textural and structural information. *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention - MICCAI, Springer-Verlag* **4792**, 428–435.
- MYRONENKO A., S., SONG X. & J., D. (2007b). Lv motion tracking from 3d echocardiography using textural and structural information. *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention - MICCAI, Springer-Verlag* **4792**, 428–435.

- MYRONENKO A., S., SONG X. & J., D. (2009). Maximum likelihood motion estimation in 3d echocardiography through non-rigid registration in spherical coordinates. *Functional Imaging and Modeling of the Heart (FIMH 2009), Lecture Notes in Computer Science 5528*, 427–436.
- NGUYEN, H. T. . (2006). *An Introduction to Random Sets*. Taylor, 1 ed.
- NOKIA (2012). Qt Creator: The Cross-Platform Qt IDE. URL `\url{http://qt.nokia.com/}`. Última consulta em Agosto de 2012.
- PALMER, S. E. (1999). *Vision Science*. MIT Press, 1 ed.
- PERCIANO, T., TUPIN, F., JR., R. H. & CESAR, R. M. (2011). A hierarchical Markov random field for road network extraction and its application with optical and SAR data. In: *IGARSS'11*.
- PERONA, P. & MALIK, J. (1990). Scale-space and edge detection using anisotropic diffusion. *Pattern Analysis and Machine Intelligence, IEEE Transactions on* 12(7), 629–639.
- PINHEIRO, P. (2011). O que é sepse choque séptico? URL `http://www.mdsaude.com/2009/01/o-que-e-sepse-sepsis-e-choque-septico.html`. Última consulta em Maio de 2012.
- QIU, H. & HANCOCK, E. R. (2006). Graph matching and clustering using spectral partitions. *Pattern Recognition* 39, 22–34.
- REINALDO, S. (2008). T sepsis: the challenges in developing and translating knowledge. *Shock* 30, 1073–2322.

- SAKR, Y. (2011). Understanding the microcirculation in sepsis: still a long way to go... *Intensive Care Medicine* **37**, 1057–1058.
- SCHLEICHER, D. (2007). Hausdorff dimension, its properties, and its surprises. *American Mathematical Monthly* **114**(6), 509–528.
- SHEN, T., LI, H., QIAN, Z. & HUANG, X. (2009). Active volume models for 3d medical image segmentation. In: *Computer Vision and Pattern Recognition, 2009. CVPR 2009. IEEE Conference on*.
- SIVAKUMAR, K. & GOUTSIAS, J. (1994). Binary random fields, random closed sets, and morphological sampling.
- SIVAKUMAR, K. & GOUTSIAS, J. (1995). On the morphological analysis of binary random fields. In: *Proceedings of the 1995 International Conference on Image Processing (Vol. 1)-Volume 1 - Volume 1, ICIP '95*. Washington, DC, USA: IEEE Computer Society.
- SOFTWARE FOUNDATION, P. (1990–2008). Python Programming Language. URL `\url{http://www.python.org/}`. Última consulta em juho de 2008.
- SONG X.B., P. S., MYRONENKO A. & J., R. (2006). Registration of microscopic iris image sequences using probabilistic mesh. *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention - MICCAI, Springer-Verlag* **4191**, 553–560.
- STOYAN, D. (1998). Random sets: Models and statistics. *International Statistical Review* **66**(1), 1–27.
- STOYAN, D. & MECKE, K. (2005). The boolean model: from matheron till today. In: *Space, Structure and Randomness* (BILODEAU, M., MEYER, F. & SCHMITT, M., eds.), vol. 183 of *Lecture Notes in Statistics*. Springer New York, pp. 151–181.

- STRAHLER, A. N. (1957). Quantitative analysis of watershed geomorphology. *Transactions of the American geophysical Union* **38**(6), 913–920.
- SYSTEMS, S. I. (2008). SDC Morphology Toolbox for MATLAB. URL `\url{http://www.mmorph.com/}`. Última consulta em juho de 2008.
- TARJAN, R. (1972). Depth-first search and linear graph algorithms. *SIAM journal on computing* **1**(2), 146–160.
- TOKUNAGA, E. (1978). *Consideration on the composition of drainage networks and their evolution*. Department of Geography, Tokyo Metropolitan University.
- TOKUNAGA, E. (1984). Ordering of divide segments and law of divide segment number. In: *Research of Pattern Formation (Takaki, R., ed.)*, 71–77.
- TOKUNAGA, E. (1994). *Self-similar natures of drainage basins*. Tokyo:KTK Scientific Publisher.
- TUPIN, F., HOUSHMAND, B. & DACTU, M. (2002). Road detection in dense urban areas using SAR imagery anf the usefulness of multiple views. *IEEE Transaction Geoscience and Remote Sensing* **40**(11), 2405–2414.
- TUPIN, F., MAÎTRE, H., NICOLAS, J.-M. & PECHERSKY, E. (1998). Detection of linear features in SAR images: Application to road network extraction. *IEEE Transaction Geoscience. Remote Sensing* **36**, 434–453.
- TURCOTTE, D., PELLETIER, J. & NEWMAN, W. (1998). Networks with side branching in biology. *Journal of Theoretical Biology* **193**(4), 577–592.
- UMBAUGH, S. E. (2005). *Computer Imaging: Digital Image Analysis and Processing*. CRC Press.

- WEST, G. B., BROWN, J. H. & ENQUIST, B. J. (1997). A general model for the origin of allometric scaling laws in biology. *Science* **276**(5309), 122–126.
- ZHAO, X., STEIN, A. & CHEN, X. (2010). Application of random sets to model uncertainties of natural entities extracted from remote sensing images. *Stochastic Environmental Research and Risk Assessment* **24**, 713–723.
- ZITOVA, B. & FLUSSER, J. (2003). Image registration methods: a survey. *Image and vision computing* **21**(11), 977–1000.

A

Artigo SIBGRAPI 2014

Graph Based Characterization of Microcirculation in Sepsis Using Sidestream Dark Field Imaging

Zoghbi, J. M., De-La-Cruz L. T., Galarreta, M. A. G. V.,
Marcel P. Jackowski
*Institute of Mathematics and Statistics
University of São Paulo
São Paulo, Brazil
www.ime.usp.br/~{jihan,mjack}*

Vieira, J. C. F., LIBERATORE, A. M. A.,
Koh, Ivan H.J.
*Departamento de Cirurgia
Universidade Federal de São Paulo
São Paulo, Brazil
ivankoh@terra.com.br*



Figure 1. Teasing result of our method from left to right: image frame with Sepsis, borders of blood vessels are extracted, graph representation of connected components and graph metrics representation.

Abstract—Real-time detection of sepsis on a video data is a new aboard technique that aids the septic patient and decreases the high mortality rate. The progressive impairment of the micro-circulation associated with increased systemic inflammatory response in sepsis has been considered the origin of the multiple organ dysfunction syndrome that often leads to death. However, despite the recognized importance of the micro-circulatory dysfunction, analysis methods able to correlate the severity of sepsis with the degree of impairment of micro-hemodynamic captured by portable microscope Side-stream Dark Field Imaging (SDF) are rarely used. Hence, the classification of the severity of sepsis by analyzing the micro-circulatory dysfunction would be of great assistance in diagnosing severity and therapeutic management. In this context, the aim of this work is to propose a new computational methodology based on image processing to obtain graph metrics for determining the degree of micro-vascular and tissue commitment due to sepsis.

Keywords—Microcirculation; sepsis; image processing; graph metrics;

I. INTRODUCTION

Sepsis is a severe general infection of the body by pathogens and is associated with a high mortality of patients. Multiple mechanisms can cause dysfunction of organs of sepsis, which are related to change in tissue perfusion and alteration of cellular metabolism, especially in the initial phase of sepsis [1]. The inflammatory process causes dilation of blood vessels, leading to a sudden drop in blood pressure

which characterizes a state of circulatory shock (in this particular case is called septic shock). Even in vessels where symptoms of sepsis are observed, there is an increase in the permeability of the same, facilitating extravasation of a fluid out of the blood vessels to organs, causing formation of edemas and flooded lungs, leading to respiratory failure, where in some cases a mechanical ventilation is needed (by breathing apparatus) 2. Moreover, this leakage can cause deficiency in oxygen supply to the cells, causing tissue degeneration in regions where the dysfunction of the microcirculation exists [2], [3], [4]. When sepsis is diagnosed at an early stage, there is a high possibility of significantly reducing the rate of mortality, especially in public hospitals. The identification of sepsis by SDF imaging is a recent technique that promises improvement on the initial diagnosis of inflammation in the affected tissues and microcirculation [5]. The advent of imaging modality SDF enables by invasive or noninvasive the identification of changes in microcirculation in real-time. This technique use dynamic high contrast and resolution through LED illumination. SDF images allow efficient characterization of the architecture of blood capillaries and venules, both in its normal state and in the presence of inflammation, which are associated with presence of sepsis. In this context, this work aims to develop an automated computational method for detecting disorders in the structures of the tissues in the



(a)



(b)

Figure 2. (a) SDF image of a healthy brain and (b) SDF image of the brain with sepsis.

microcirculation using SDF imaging on patients with sepsis. While observing SDF images we notice that the degeneration of tissues and vessels does not follow a specific pattern. However, we will investigate methods of pattern recognition and image processing using graphs to classify the regions affected by sepsis in order to follow the evolution of this inflammatory process for future diagnoses and treatment. In the past years, several approaches in the literature make analysis of the properties blood microcirculation to detect sepsis in its advanced stage, however, still can not avoid death, because at this phase it is not possible for a patient to recover [6], [1], [7], [8]. Applying image processing techniques are expected to discover the presence of sepsis in patients who are at the initial stage, it is possible to avoid the high percentage of deaths that currently occur in hospitals. There are a few works on the literature that use SDF images for the diagnosis of Sepsis. Demir and collaborators use multiple level thresholding and pixel verification technique to extract quantitative measures changes in microcirculation

[9]. This work used the entropic-based adaptive local threshold segmentation for the diagnosis of sepsis [10]. The last two works uses SDF image that were acquired from sublingual surface which is different from our approach where we use SDF images from the brain.

II. METHODOLOGY

The data images acquired in our work are images of brains of four healthy mice, in which a bacterium has been introduced to induce sepsis. These mice are from the Wistar EPM-1 lineage, male and female mice are used, weighing between 200 and 250g, of age approximately 3 months. Acquisition of SDF images is done using a video capture device called MicroScan 3. This equipment uses the software AVA (Automated Vascular Analysis) developed by MicroVision¹.

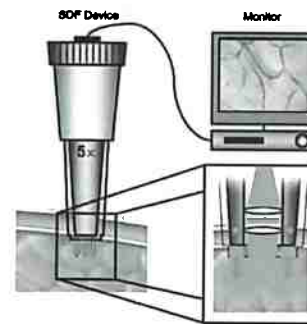


Figure 3. MicroScan equipment.

The MicroScan has a lens surface, which is adjusted to the surface of interest of the subject of approximately $1000 \times 750 \mu\text{m}$ of 1mm depth to acquire a video of AVI or MPEG extension with interval $[0, 255]$ of gray-scale level. An adjustment of the illumination and the depth position of the device must be done so there is no interference in video quality produced during capture. The placement and the lighting of the MicroScan produced during the process of image acquisition could compromise the results of the post-processing images. Moreover, it is necessary to calibrate the equipment, and this is done by adjusting the parameters of coordinates x and y that vary according to the pixel size of the video images acquired. The Methodology used in our work is summarized in Figure 4.

A. Image Stabilization

As mentioned earlier, the collection of images is a hand-held, this means that it needs an enough care to avoid producing involuntary movement artifacts. Moreover, the investigated animals may also suffer physiological movement, since the animal is alive under anesthetic. These movements generate some artifacts in the image collection.

¹Medical Inc., Amsterdam, The Netherlands, www.microvisionmedical.com

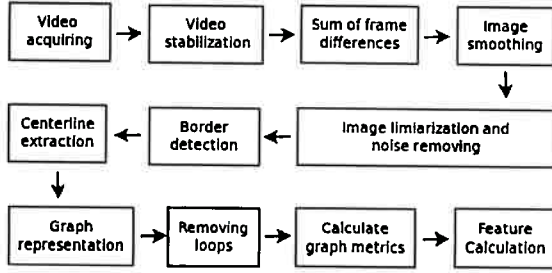


Figure 4. A scheme of the proposed Methodology.

To solve this problem, the video obtained needs to undergo a process of spatial alignment. A literature survey was done to examine the appropriate stabilization method. Initially, the video acquires by the MicroScan was divided into frames represented as 2D images, where the time difference between frames is 15ms. We apply the following technical alignment between pairs of consecutive images (frames): sum of square differences, correlation coefficient, sum of absolute differences, mutual information and minimization of residual complexity [11], [12], [13], [14], [15]. Comparing the results of these alignment techniques, the mutual information technique showed the most satisfactory result.

B. Image Preprocessing

The aligned frames obtained from the previous section II-A are gathered to form the stabilized video $V(T)$. Where $V(T)$ represent a collection of observations (frames), as shown on Figure 5,

$$V(T) = \bigcup_{t=1}^{T/15} X_t, \quad (1)$$

where $X_1, X_2, \dots, X_{T/15}$ are consecutive frames, $T/15$ is the video duration T in seconds divided by 15. In this case, the difference between the consecutive frames is 15ms. We



Figure 5. A collection of images (frames) obtained from a video of brain vessels.

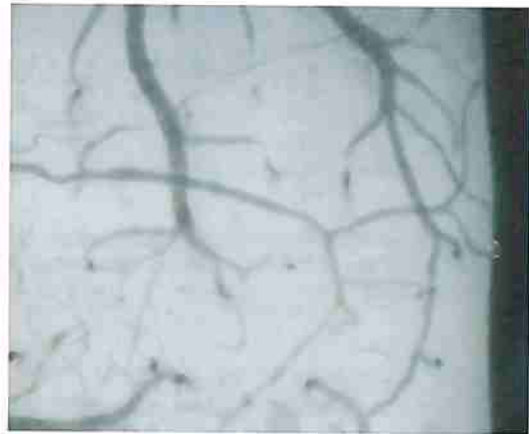
divide the image segmentation process in several steps as follows:

1. Calculate the sum of the differences between consecu-

tive frames Figure 6(b):

$$F(x, y) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{n-1} (X_{i+1} - X_i), \quad (2)$$

where $F(x, y)$ is the gray value of the pixel in a frame T_i , n is the number of frames and N is a normalization factor. As shown in Figure 6(b), the sum of the differences of frames highlights the blood vessels.



(a)



(b)

Figure 6. (a) SDF image of the brain and (b) sum of the differences between consecutive frames.

2. In this step the image is segmented in two parts: foreground that represents the blood vessels and the background that represents the tissue which does not belong to the blood vessels. First, we apply an anisotropic filter to smooth the image [16]. Second, a histogram area of the smoothed image is calculated and an empirically threshold is applied corresponding to 30% of the histogram area to segment the vessels (Figures 7(a) and 7(b)).

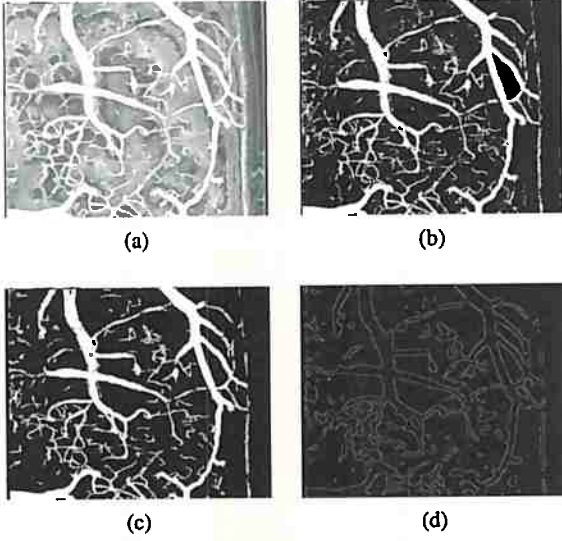


Figure 7. (a) Smoothed image, (b) image limiarization, (c) Removing small noise from the background and (d) external border detection using Canny filter.

3. We remove the noise of the segmented image with morphological operators (Figure 7(c)). After that, a Canny Filter is applied to extract the external border of the blood vessels (Figure 7(d)).
4. We apply the refine algorithm [17] to the border of the vessels on Figure 7(d).

III. FEATURE EXTRACTION BASED ON GRAPHS

We define the graph G as an ordered pair $(V(G), E(G))$, where $V(G)$ is the set of vertices and $E(G)$ is the set of edges. Edges are lines that connect two distinct vertices. In our work we consider the graph G as a directed graph where the edges have a direction associated with them, this is due to an unidirectional blood flow direction. First, we have to construct the graph from the centerline of the vessels (Figure 8(a)), we defined two types of vertices on the centerline: terminal vertices and non-terminal vertices. Terminal vertex has degree equal to 1 and non-terminal vertex has a degree greater than one. The degree of a vertex of a graph is the number of edges incident to the vertex. A terminal vertex p that belongs to an image f is considered a pixel that has only one neighbor that belongs to the vessel centerline, the terminal vertex is defined with the following function:

$$[\rho(f)](p) = \begin{cases} 1, & \text{if } f(p) = 1 \text{ and } \sum_{q \in N_8(p)} f(q) = 1 \\ 0, & \text{otherwise,} \end{cases} \quad (3)$$

where $N_8(p)$ denotes the set of 8-connected neighbors of p . Whereas a non-terminal vertex is a pixel $p \in f$ that has exactly three neighbors (according to 8-connectivity) that belong to the centerline and are not 4-connected. The non-terminal vertex is defined according to the following

function,

$$[\xi(f)](p) = \begin{cases} 1, & \text{if } f(p) = 1 \text{ and } \sum_{q \in N_8(p)} f(q) = 3 \\ & \text{and } \forall p_1, p_2 \in N_8(p), p_1 \neq p_2, \\ & \text{if } f(p_1) = f(p_2) = 1 \rightarrow p_1 \notin N_4(p_2) \\ 0, & \text{otherwise,} \end{cases} \quad (4)$$

where $N_4(p)$ denotes the set of 4-connected neighbors of p . We denote terminal and non-terminal vertices as ending points and bifurcation points respectively. Using the centerline obtained in Figure 8(a), terminals and nonterminal points are extracted as shown in Figure 8(b). These endpoints and non-terminal defines the vertices of the graph $V(G)$, and the lines between these vertices defines the edges of the graph $E(G)$ (Figure 8(c)). Note that the vessel centerline has a similar arrangement as rivers, trees and plant roots. In this work we represent these arrangements with the Tokunaga's taxonomy [18], [19], [20] which is a complement to the taxonomies Stahler's taxonomy and Horton's taxonomy [21]. These taxonomies are used in various applications of natural images [22], [23], [24], [25]. In these taxonomies, the graph in Figure 8(c) is considered as a tree. In Stahler and Horton taxonomies the graph is represented by a binary tree where an edge that has a terminal vertex is defined as the first order $i = 1$, when two edges of the first order, meet they form an edge of the second order $i = 2$, when two edges of a second order meet they form a third-order edge $i = 3$, and so on. The total number of edges of i -th order is N_i and their average length is L_i . The bifurcation ratio R_N is,

$$R_N = \frac{N_i}{N_{i+1}} \quad (5)$$

and the length order ratio is ,

$$R_L = \frac{L_{i+1}}{L_i} \quad (6)$$

Tokunaga taxonomy was extended from Stahler and Horton taxonomies to construct graphs with non binary trees. The edges of order n can have any type of branching of order $n - 1, n - 2, \dots, 1$. An edge of order 1 connected to another edge of order 1 is denoted 11 and the number of edges is N_{11} , an edge of order 1 connected to an edge of order 2 is denoted 12 and the number of edges with this order is N_{12} , an edge of order 2 connected to an edge of order 2 is called 22 and the total number of edges of order 22 is N_{22} , and so on.

We also extract the area of the centerline. Consider the length of an edge $E(G)$ of the graph shown in Figure 8(b) as:

$$L(E(G)) = \sum_1^n F(x, y), \quad (7)$$

where $F(x, y)$ is the image pixel of value 1. In this one-dimensional case, the vessel area is equal to its length and is represented by,

$$Area_{skeleton} = \sum_1^m L(E(G)), \quad (8)$$

Where m is the total number of edges on the graph. Afterthat, we calculate the centerline density,

$$Centerline_{density} = \frac{Area_{skeleton}}{Area_{image}} \times 100, \quad (9)$$

We Calculated 40% of the edge length and subtract 20% from each side of the edge to obtain a new edge $E'(L)$ with 60% of its original length. Consider $V_1(x_1, y_1)$ and $V_2(x_2, y_2)$ as the coordinates of the vertices of the edge $E'(G)$. We define the vector $\overrightarrow{V_1V_2}$ as:

$$\overrightarrow{V_1V_2} = (x_2 - x_1, y_2 - y_1). \quad (10)$$

From $\overrightarrow{V_1V_2}$ we traced the normal vector $\overrightarrow{V_1V_{2\perp}}$ until it intersects with a point on the vessel border, then we calculate its opposite vector $\overrightarrow{V_1V_{2\perp-1}}$. Previously we remove 20% from each side of the edge to avoid $\overrightarrow{V_1V_2}$ goes to infinity at the bifurcation points. The vessel diameter in pixels is defined as:

$$Diam = \sum_{i=1}^n \overrightarrow{V_1V_{2\perp}}[F(x, y)] + \sum_{i=1}^m \overrightarrow{V_1V_{2\perp-1}}[F(x, y)]. \quad (11)$$

Repeat the same process to calculate the diameter of the vessel along the centerline represented by the edge $E'(G)$, afterthat we can obtain the mean diameter of each edge. Moreover, the number of connected component of the graph is calculated. Connected component in graph theory is defined as a set of vertices in a graph that are linked to each other by path. In our case, if we choose any two vertices on the centerline we can find a path between them that is belong to the centerline.

IV. RESULTS AND CONCLUSION

The images of the brain were acquired at four different periods of induction of sepsis in mice: initial time T_0 before inducing sepsis, T_1 after one hour and a half, T_2 after two hours and a half, and T_3 after five hours of induction of sepsis. To compare the behavior of the blood vessels of the brain during the evolution of sepsis we calculate the Tokunaga and Stahler for the 4 different periods as shown in Figures 9 and 10. Our experiments showed that the number of terminal edges N_{11} which are mainly the small vessels decreases during the evolution of the sepsis (Figure 9). We noticed that there are also a modification on the structure of the network vessels where the quantity of N_{ij} suffer a significant alteration. For example, $N_{11} = 110$ for a healthy mouse however $N_{11} = 55$ for the same mouse after five hours of sepsis (Figure 9). This alteration shows the deterioration of the blood vessels due to the severity of the pathology. However, as we go deep on the graph the

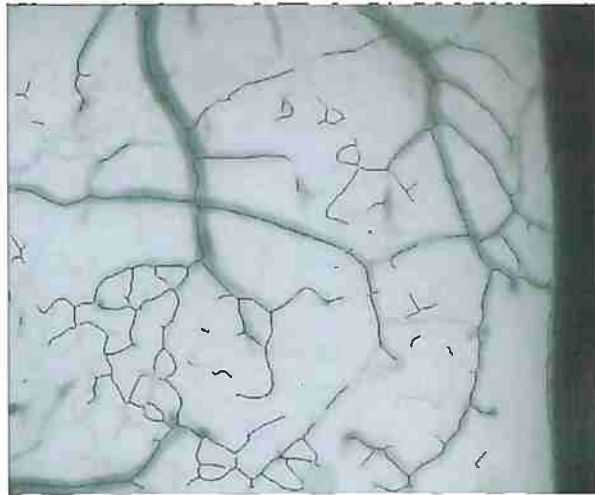
difference between the values of N_{ij} for the four periods of sepsis start to decrease. We noticed also a decreasing on the Stahler order number N_1 during the evolution of the Sepsis. Also there are a significant modification on all the values of N_i Stahler order (Figure 10). Furthermore, we calculate the average diameter of the vessels in micrometer unit and we observe a change according to the Stahler index change during the 4 periods of sepsis (Figure 11). However the change in stahler order is not significant as the change in Tokunaga number. This is due to the presence of side branching in Tokunaga taxonomy that is not allowed in Stahler taxonomy. In Table I we calculate for each period of sepsis: the skeleton density, the number of connected components, The bifurcation ratio R_N and the length order ratio R_L . We observe that the centerline density decreases as the sepsis duration increases, this implies the decreases in blood vessels during the sepsis. The number of connected components of a healthy mouse is greater than the number of connected components of a mouse with one hour and a half and two hours and a half of sepsis. However, the number of components of a connected components of a five hours sepsis is greater of the number of components of a two hours and a half and one hour and a half of sepsis. This is due to the disconnection of the connected components during the evolution of sepsis. The bifurcation ratio increases after five hour of sepsis from 3.17 to 5.14 this is due to the increasing of the number isolated connected component.

Table I
METRICS RELATED TO THE VASCULAR NETWORK INFORMATION

Image	Centerline Density	Connected Components	R_N	R_L
healthy	1.94%	88	3.17	1.51
1.5 h	1.91%	25	4.25	1.84
2.5 h	1.41%	28	3.31	1.59
5.0 h	1.34%	48	5.14	2.78

REFERENCES

- [1] D. De Backer, K. Donadello, F. Taccone, G. Ospina-Tascon, D. Salgado, and J.-L. Vincent, "Microcirculatory alterations: potential mechanisms and implications for therapy," *Annals of Intensive Care*, vol. 1, pp. 1–8, 2011.
- [2] C. Ince, "The microcirculation is the motor of sepsis," *Critical Care*, vol. 9, no. Suppl 4, pp. S13–S19, 2005.
- [3] I. H. Koh, J. L. Menchaca-Diaz, T. H. Koh, R. L. Souza, C. M. Shu, V. E. Rogerio, and A. M. Liberatore, "Microcirculatory evaluation in sepsis: a difficult task," *Shock*, vol. 34, no. 7, pp. 27–33, 2010.
- [4] R. P. Dellinger, M. M. Levy, J. M. Carlet, J. Bion, M. M. Parker, R. Jaeschke, K. Reinhart, D. C. Angus, C. Brun-Buisson, R. Beale *et al.*, "Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008," *Intensive care medicine*, vol. 34, no. 1, pp. 17–60, 2008.
- [5] D. De Backer, D. O. Cortes, K. Donadello, and J.-L. Vincent, "Pathophysiology of microcirculatory dysfunction and the pathogenesis of septic shock," *Virulence*, vol. 5, no. 1, pp. 0–6, 2014.
- [6] R. Bezemer, J. G. G. Dobbe, S. A. Bartels, E. C. Boerma, P. W. G. Elbers, M. Heger, and C. Ince, "Rapid automatic assessment of microvascular density in sidestream dark field images," *Medical Biology Engineering and Computing*, vol. 49, no. 11, pp. 1269–1278, 2011.
- [7] Y. Sakr, "Understanding the microcirculation in sepsis: still a long way to go..." *Intensive Care Medicine*, vol. 37, pp. 1057–1058, 2011.
- [8] P. T. Goedhart, M. Khalilzadeh, R. Bezemer, J. Merza, and C. Ince, "Sidestream dark field (sdf) imaging: a novel stroboscopic led ring-based imaging modality for clinical assessment of the microcirculation," *Optics Express*, vol. 15, 2007.
- [9] S. Demir, R. Hakimzadeh, R. H. Hargraves, K. Ward, E. Myer, and K. Najarian, "An automated method for analysis of microcirculation videos for accurate assessment of tissue perfusion," *BMC Medical Imaging*, vol. 12, no. 1, p. 37, 2012.
- [10] M. Nazanin, D. Sumejra, W. Kevin, H. Rosalyn, H. Roya, and K. Najarian, "An adaptive entropic thresholding technique for image processing and diagnostic analysis of microcirculation videos," *International Journal On Advances in Life Sciences*, vol. 2, no. 3, p. 37, 2010.
- [11] B. Zitova and J. Flusser, "Image registration methods: a survey," *Image and vision computing*, vol. 21, no. 11, pp. 977–1000, 2003.
- [12] S. Myronenko A., Song X. and D. J., "Lv motion tracking from 3d echocardiography using textural and structural information," *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention - MICCAI, Springer-Verlag*, vol. 4792, pp. 428–435, 2007.
- [13] M. A. and S. Song X., "Intensity-based image registration by minimizing residual complexity," *IEEE Trans. on Medical Imaging*, vol. 29, pp. 1882–1891, 2010.
- [14] S. Myronenko A., Song X. and D. J., "Maximum likelihood motion estimation in 3d echocardiography through non-rigid registration in spherical coordinates," *Functional Imaging and Modeling of the Heart (FIMH 2009), Lecture Notes in Computer Science*, vol. 5528, pp. 427–436, 2009.
- [15] P. S. Song X.B., Myronenko A. and R. J., "Registration of microscopic iris image sequences using probabilistic mesh," *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention - MICCAI, Springer-Verlag*, vol. 4191, pp. 553–560, 2006.
- [16] P. Perona and J. Malik, "Scale-space and edge detection using anisotropic diffusion," *Pattern Analysis and Machine Intelligence, IEEE Transactions on*, vol. 12, no. 7, pp. 629–639, 1990.
- [17] L. Lam, S. W. Lee, and C. Y. Suen, "Thinning methodologies—a comprehensive survey," *IEEE Transactions on pattern analysis and machine intelligence*, vol. 14, no. 9, pp. 869–885, 1992.
- [18] E. Tokunaga, *Consideration on the composition of drainage networks and their evolution*. Department of Geography, Tokyo Metropolitan University, 1978.
- [19] —, "Ordering of divide segments and law of divide segment number," *In: Research of Pattern Formation (Takaki, R., ed.)*, pp. 71–77, 1984.
- [20] —, *Self-similar natures of drainage basins*. Tokyo:KTK Scientific Publisher, 1994.
- [21] A. N. Strahler, "Quantitative analysis of watershed geomorphology," *Transactions of the American geophysical Union*, vol. 38, no. 6, pp. 913–920, 1957.
- [22] K. Horsfield, "Are diameter, length and branching ratios meaningful in the lung?" *Journal of Theoretical Biology*, vol. 87, no. 4, pp. 773–784, 1980.
- [23] A. L. Goldberger, L. A. Amaral, J. M. Hausdorff, P. C. Ivanov, C.-K. Peng, and H. E. Stanley, "Fractal dynamics in physiology: alterations with disease and aging," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 99, no. Suppl 1, pp. 2466–2472, 2002.
- [24] G. B. West, J. H. Brown, and B. J. Enquist, "A general model for the origin of allometric scaling laws in biology," *Science*, vol. 276, no. 5309, pp. 122–126, 1997.
- [25] B. B. Mandelbrot, "The fractal geometry of nature/revised and enlarged edition," *New York, WH Freeman and Co., 1983, 495 p.*, vol. 1, 1983.



(a)



(b)



(c)

Figure 8. (a) centerline (dark color), (b) centerline (white color), ending points (red color), branching points (green color) and border of the vessels (blue color) and (c) centerline represented as a graph.

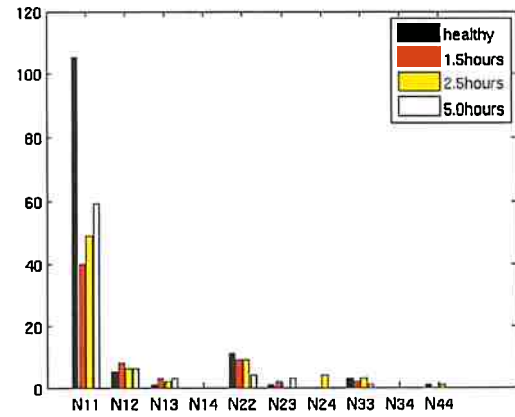


Figure 9. Tokunaga index values.

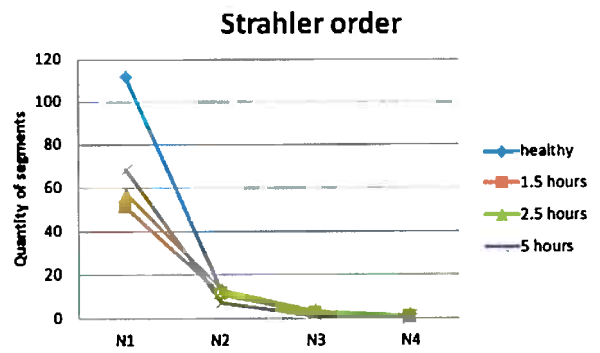


Figure 10. Strahler order

	N1	N2	N3	N4
healthy	7.95 μ m	11.32 μ m	18 μ m	21 μ m
1.5 h	12.03 μ m	13 μ m	22.66 μ m	0 μ m
2.5 h	8.205 μ m	8.2 μ m	21.6 μ m	22 μ m
5.0 h	7.95 μ m	11.4 μ m	19 μ m	0 μ m

Figure 11. The average diameter for the four periods of sepsis.