

УДК 602.1 : 519.673

**МОДЕЛИРОВАНИЕ И АНАЛИЗ ДВИЖЕНИЯ  
БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ  
ПО ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ИЗОБРАЖЕНИЙ,  
ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ  
ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ\***

**В. А. Куликов, В. А. Иванов, В. С. Киричук**

*Учреждение Российской академии наук  
Институт автоматизации и электрометрии Сибирского отделения РАН,  
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Коптюга, 1  
E-mail: kulikov.victor@gmail.com*

Рассматривается новый подход к анализу данных трассировки биологических объектов, полученных при исследовании двигательной активности. Разработанный подход опирается на предложенную математическую модель движения биологического объекта. Поведение объекта, наблюдаемое в ходе эксперимента, может быть описано в виде параметров модели. Проведен численный эксперимент на модельных данных, в ходе которого было установлено, что оценки, полученные предложенным методом, дают меньшее среднеквадратичное отклонение классификации состояния объекта, чем существующие методы.

*Ключевые слова:* тестирование, траектория, трассировка, биологический объект, двигательная активность.

**Введение.** Исследование поведения животных широко используется для изучения механизмов воздействия фармакологических препаратов. Автоматический анализ поведения является неотъемлемой частью любого этологического эксперимента, так как позволяет получать более объективную и точную оценку. Один из наиболее важных параметров измерения — двигательная активность объекта, показателем которой служит путь, пройденный животным за время наблюдения.

Экспериментальной моделью для изучения двигательной активности является тест открытого поля [1], установка для которого состоит из арены белого цвета круглой или прямоугольной формы, ограниченной стенками, не позволяющими животному ее покинуть (рис. 1). Видеокамера, закрепленная над ареной, формирует последовательность изображений, обрабатываемую с помощью специальных алгоритмов.

Для оценки пути, пройденного за время наблюдения, необходимо получить траекторию движения животного. Данная задача решается с помощью алгоритмов трассировки, основанных на компьютерном зрении [2]. Их точность зависит от контрастности объекта относительно фона. В ходе эксперимента удалось улучшить результаты трассировки благодаря запатентованной установке для измерения двигательной активности животного с инвертированным освещением [3], позволившей значительно повысить контрастность изображения.

Существующие методы вычисления пути по траектории основываются на использовании координат центра масс животного. Однако при таком подходе возникают проблемы,

---

\*Работа выполнена при поддержке Междисциплинарного интеграционного проекта СО РАН «Комплексное исследование генетических, молекулярных и физиологических механизмов депрессии и разработка новых методов ее фармакологической коррекции. Роль наследственных изменений в цитокиновой и серотониновой системах мозга» (грант № 18).

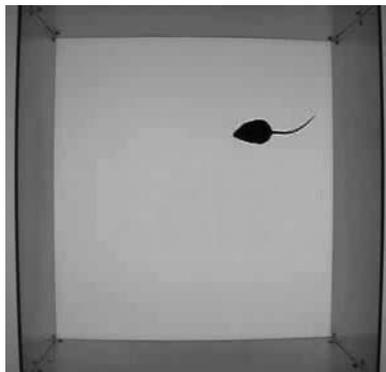


Рис. 1. Изображение, получаемое системой автоматизации теста открытого поля

связанные с завышением двигательной активности за счет движений отдельных частей тела животного, изменяющих координаты центра масс.

Для объективной интерпретации данных необходима модель для тестирования и сравнения алгоритмов оценки пути, которая должна устраивать исследователей как в биологическом, так и в алгоритмическом плане.

Целью предлагаемой работы является создание математической модели движения и оптимального метода анализа траектории движения животного по последовательности изображений, а также сравнение его с существующими методами анализа двигательной активности на модельных данных.

**Методы обработки данных трассировки.** В работах, посвященных оценке пути биологических объектов, можно выделить два подхода: только по данным трассировки и с использованием модели движения.

*Оценка пути только по данным трассировки* превращается в статистическую задачу компенсации шума. В [4] путь, пройденный животным за отрезок времени  $[t_1, t_2]$ , определялся как сумма модулей векторов изменения координат центра масс для последовательности кадров без сглаживания:

$$L = \sum_{i=t_1}^{t_2} \sqrt{dx_i^2 + dy_i^2}, \quad (1)$$

где  $dx_i$  и  $dy_i$  — изменения координат центра масс по осям абсцисс и ординат соответственно.

На данный момент существует несколько способов компенсации случайного шума в траектории биологического объекта. Один из них реализован в системе "Ethovision" [5]. С помощью морфологических операций, таких как эрозия и дилатация, удалялись мелкие компоненты изображения животного (в данном случае мыши), вносящие основные шумы в координаты центра масс. Процедура удаления шума зависит от морфологических примитивов [2], с применением которых осуществляются преобразования, и разрешения кадра. Она эквивалентна сглаживанию траектории движения животного.

*Оценка пути на базе модели движения* — дополнение к подходам, использующим только данные трассировки. Примером такого подхода является динамическая фильтрация с помощью частичного фильтра, предложенная в [6], которая заключается в следующем: имеется модель движения биологического объекта (модель предсказания), где последующее состояние определяется из предыдущего рекурсивными соотношениями

$$\mathbf{x}_k = f(\mathbf{x}_k) + \mathbf{r}_{k-1}, \quad (2)$$

$$f(\mathbf{x}_k) = \mathbf{x}_{k-1} + \mathbf{r}(\sigma)V. \quad (3)$$

Здесь  $k$  — номер текущего состояния модели;  $\mathbf{x}_k$  — вектор ожидаемого состояния модели;  $\mathbf{r}_{k-1}$  — вектор ошибки модели;  $\mathbf{r}(\sigma)$  — нормально распределенный вектор изменения состояния с дисперсией  $\sigma$ ;  $V$  — средняя скорость объекта.

После предсказания используется модель наблюдения

$$\mathbf{y}_k = h(\mathbf{x}_k) + \mathbf{v}_k, \quad (4)$$

где  $\mathbf{y}_k$  — откорректированный вектор состояния модели в соответствии с измерениями;  $h(\mathbf{x}_k)$  — функция измерений реальной ситуации;  $\mathbf{v}_k$  — вектор ошибки измерений. Состояние системы в момент времени  $k$  описывается вектором

$$\mathbf{x}_k = (x, y, m_s, m_i, \theta).$$

Здесь  $x$  и  $y$  — координаты центра масс объекта;  $m_s$  и  $m_i$  — большая и малая оси эллипса соответственно;  $\theta$  — угол между большой осью эллипса и осью ординат. Данный подход имеет два недостатка:

- 1) для корректной работы системы требуется знание параметров  $\mathbf{r}_{k-1}$ ,  $\sigma$ ,  $V$  и  $\mathbf{v}_k$ ;
- 2) предложенная в [6] модель движения объекта — частный случай броуновского движения, а оно не всегда адекватно описывает передвижение биологического объекта.

В рассматриваемой работе предлагается методика оценки пути и параметров движения на основе детальной модели, являющейся, по мнению экспертов, более адекватной, чем модель броуновского движения.

**Алгоритм получения данных.** Дана последовательность из  $N$  изображений  $I_k(x, y)$ ,  $k = 1, \dots, N$ , на которых яркость объекта сильно отличается от яркости фона. Первой задачей, решаемой с помощью алгоритма из [7], является выделение объекта на изображении. Получив последовательность бинарных изображений, удаляем мешающие компоненты. Для этого индексируем связанные компоненты с помощью модифицированного алгоритма [8] и находим связанную компоненту с наибольшей площадью, которая берется в качестве измеряемого объекта. Далее вычисляем вектор состояния

$$\mathbf{data}_k = (x, y, s, m_s, m_i, \theta),$$

где  $s$  — площадь бинарного изображения объекта.

На основе полученных векторов  $\mathbf{data}_k$ ,  $k = 1, \dots, N$ , методом кластеризации можно выделить два класса данных, соответствующих различным видам двигательной активности (рис. 2), по которым оцениваются длина пути, пройденная биологическим объектом, и время неподвижности [9].

**Модель движения.** Сравнение различных методов оценки пути необходимо производить по данным трассировки, известным априори. Для этого была разработана модель эмуляции движения животного в эксперименте открытого поля.

*Биологическое обоснование.* Активность животных в тесте открытого поля делится на два класса: исследовательскую активность (когда животное пытается найти выход с арены) и небольшие перемещения на одном месте (будем называть данное состояние покоем). Для описания перехода животного из одного класса активности в другой использовалась марковская цепь из двух состояний. Данная цепь описывается матрицей размера  $2 \times 2$ , элементы которой соответствуют вероятностям перехода из одного состояния в другое. Вектор  $\mathbf{data}_k = (x, y, m_s, m_i, \theta)$  будет изменяться в зависимости от текущего состояния. Предположим, что во время движения средняя скорость выше, чем в покое, а

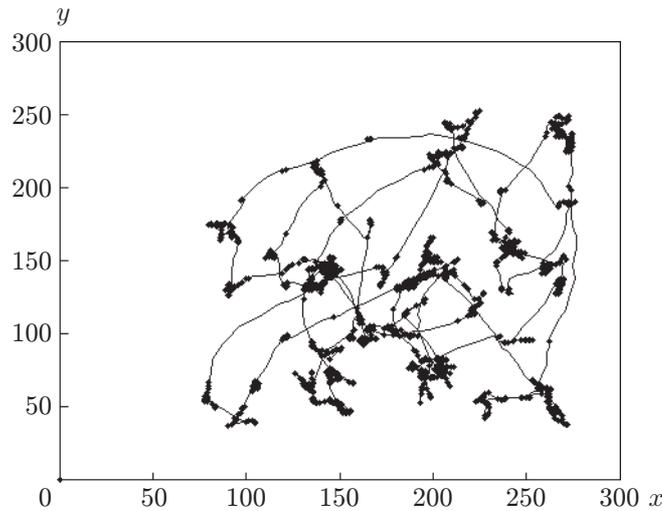


Рис. 2. Траектория движения животного (• — точки низкой активности)

параметр  $\theta$  при интенсивном движении меняется незначительно. Из реальных данных следует, что во время покоя животное осматривается и площадь его бинарного изображения изменяется сильнее, чем в активном состоянии.

Из сделанных выше предположений запишем для этих состояний вектор параметров движения

$$\mathbf{param}_{st} = (v, \sigma_v, \sigma_\theta, \sigma_s, \sigma_m, s_{\max}),$$

где  $v$  — средняя скорость;  $\sigma_v, \sigma_\theta, \sigma_s, \sigma_m$  — дисперсии скорости, угла поворота оси, изменения размера и формы объекта соответственно;  $s_{\max}$  — предельно допустимое изменение площади бинарного изображения животного;  $st$  — текущее состояние.

Исходя из данной модели можно утверждать, что путь  $L$ , пройденный животным за время эксперимента, будет равен суммарному пути, пройденному животным в активном состоянии:

$$L = \sum_{i=1}^N \begin{cases} \sqrt{dx_i^2 + dy_i^2}, & \mathbf{data}_i \in A, \\ 0, & \mathbf{data}_i \in P, \end{cases} \quad (5)$$

где  $A$  — активное состояние,  $P$  — состояние покоя.

*Рекуррентные соотношения.* Предложенные рекуррентные соотношения для математической модели движения животного позволяют получать значения параметров модели в следующий момент времени исходя из предыдущего значения и вектора, описывающего поведение объекта в текущем состоянии:

$$\theta_k = \theta_{k-1} + d\theta(\sigma_\theta), \quad d\theta(\sigma_\theta) \in N(0, \sigma_\theta), \quad (6)$$

$$x_k = x_{k-1} + (v + dv(\sigma_v)) \cos(\theta_k), \quad dv(\sigma_v) \in N(0, \sigma_v), \quad (7)$$

$$y_k = y_{k-1} + (v + dv(\sigma_v)) \sin(\theta_k), \quad dv(\sigma_v) \in N(0, \sigma_v), \quad (8)$$

$$s_k = \begin{cases} s_{k-1}, & |s_{k-1} + ds(\sigma_s) - s_{\text{def}}| < s_{\max}, \\ s_{k-1} + ds(\sigma_s), & \text{иначе } ds(\sigma_s) \in N(0, \sigma_s), \end{cases} \quad (9)$$

$$m_i = \sqrt{s_k / (mm + dm(\sigma_m))}, \quad (10)$$

$$m_s = m_i(mm + dm(\sigma_m)), \quad (11)$$

$$dm(\sigma_m) \in N(0, \sigma_m), \quad (12)$$

где  $s_{\text{def}}$  — средняя площадь животного, а  $mm$  — среднее соотношение между осями. Величины  $s_{\text{def}}$  и  $mm$  постоянные для всех эмуляций. Это утверждение не совсем корректно в биологическом смысле, но в контексте данных исследований оно вполне допустимо в предположении, что эксперимент проводится над одним и тем же животным с разными формами поведения.

Используя вышеприведенные соотношения, можно получить последовательность векторов, соответствующую траектории движения биологического объекта. В ходе создания такой последовательности на каждом шаге алгоритма проверяется переход в другое состояние согласно марковской матрице переходов.

**Классификация данных трассировки.** Для классификации в соответствии с моделью выбран вектор  $\mathbf{p}(\mathbf{V}, \theta', ds)$  с независимыми параметрами:  $\mathbf{V}$  — модуль вектора скорости биологического объекта,  $\theta'$  — производная угла главной оси эллипса,  $ds$  — производная площади бинаризованного изображения животного.

При классификации полученного пространства использовался алгоритм k-means [10], начальные условия работы которого создавались псевдослучайно. В результате имеем два класса векторов: один из них соответствует целенаправленной активности, а другой — небольшим перемещениям на одном месте. Оценку пути находим согласно (5). Для проверки правильности метода полученное значение пути сравнивается с известным, вычисленным в ходе моделирования.

**Сравнение предлагаемого подхода с существующими методами.** Вычислительный эксперимент производился в 100 эмуляциях с различающимися параметрами поведения.

Матрица переходов для модели Маркова, определяющая доли времени, проведенные в состояниях покоя и активности, имеет вид

$$\begin{bmatrix} 1 - p_1 & p_1 \\ p_2 & 1 - p_2 \end{bmatrix}. \quad (13)$$

Здесь  $p_1$  — вероятность перехода из состояния покоя в активное и  $p_2$  — из активного состояния в покой. В ходе эмуляции  $p_1$  и  $p_2$  менялись от 0,99 до 0,50 с шагом 0,01.

Из векторов  $\mathbf{param}_{\text{st}} = (v, \sigma_v, \sigma_\theta, \sigma_s, \sigma_m, s_{\text{max}})$  составлена таблица, определяющая численные параметры движения для каждого состояния. Из таблицы видно, что в активном состоянии средняя скорость  $v$  и ее дисперсия  $\sigma_v$  намного выше, чем в состоянии покоя.

**Параметры моделирования двигательной активности животного**

Состояние объекта	Параметры модели					
	$v$	$\sigma_v$	$\sigma_\theta$	$\sigma_s$	$\sigma_m$	$s_{\text{max}}$
Покой	0	2	0,5	10	0,1	50
Активное	5	5	0,1	5	0,3	30

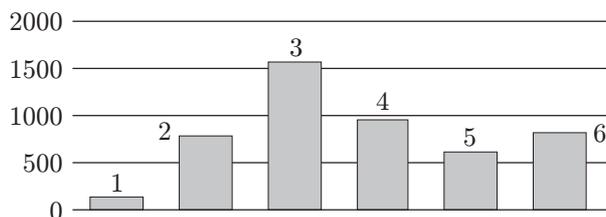


Рис. 3. СКО от модельных данных (14), полученных в 100 разных эмуляциях с различными параметрами поведения

При этом дисперсии угла  $\sigma_\theta$  и размера  $\sigma_s$  в состоянии покоя выше, что моделирует мелкие движения на одном и том же месте. Для сравнения были реализованы существующие алгоритмы оценки пути в соответствии с (5). Среднеквадратичное отклонение (СКО) вычислялось следующим образом:

$$\text{СКО} = \sum_{i=1}^N (\text{model}_i - \text{class}_i)^2, \quad (14)$$

где  $\text{model}_i$  — состояние объекта в момент времени  $i$ , полученное путем моделирования, и  $\text{class}_i$  — состояние, полученное в ходе классификации измерений траектории, принимающие значения: 0 — состояние покоя, 1 — активное состояние. По сути, СКО отражает количество неправильно классифицированных точек траектории.

Оценки СКО классификации точек траектории движения объекта по данным известных методов, полученным путем моделирования, приведены на рис. 3. Первый столбец соответствует СКО предложенного метода, основанного на алгоритме k-means. Вторым столбцом — СКО оценки по общему пройденному пути [11]. Третий — оценка по сглаженному пути, который моделирует морфологические операции над силуэтом животного [5]. Подробнее следует рассмотреть метод сглаживания траектории окном определенного радиуса. Основная идея этого метода заключается в суммировании изменений векторов координат объекта, пока модуль полученного вектора не будет превышать заданный радиус. После чего его значение суммируется с величиной пути. Тестирование данного метода проводили с помощью окон с радиусами 1, 10, 40 элементов изображения (четвертый, пятый и шестой столбцы соответственно). Видно, что предложенная методика оценки пути в контексте данной модели дает наилучшие результаты.

**Применение предлагаемого подхода к реальным данным.** Для получения векторов состояния по последовательности изображений создано программное обеспечение "EthoStudio", работающее на платформе .NET Framework 2.0, являющееся развитием более ранней версии [12]. Для работы с видеопотоком выбран язык C++ и технология DirectShow.

Рассмотренный метод опробован на реальных данных и показал свою эффективность при анализе траекторий движения биологических объектов, полученных в ходе теста открытого поля.

**Заключение.** В данной работе проведено исследование параметров и закономерностей, определяющих двигательную активность животного, по которым была построена новая модель активности в этологических тестах (таких как открытое поле и приподнятый крестообразный лабиринт), разделяющая движения животного на два класса: активность и покой. Пройденный путь в такой модели определяется как сумма модулей векторов скорости в активном состоянии. Разработанный алгоритм для классификации данных трассировки по последовательности изображений в контексте предложенной модели показал

меньшие ошибки, чем существующие алгоритмы.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Tecott L. H.** The genes and brains of mice and men // Amer. Journ. Psychiatry. 2003. **160**, N 4. P. 646–656.
2. **Шапиро Л., Стокман Дж.** Компьютерное зрение: Пер. с англ. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2006. 752 с.
3. **Пат. № 70105 РФ.** Устройство для трассировки перемещения лабораторных животных /В. А. Куликов, А. В. Куликов. Оpubл. 20.01.2008 г., Бюл. № 2. С. 965.
4. **Куликов В. А., Киричук В. С., Тихонова М. А., Куликов А. В.** Использование плотности вероятности для автоматизации измерения пространственного предпочтения в этологическом эксперименте // ДАН. 2007. **417**, № 2. С. 279–282.
5. **Noldus L. P., Spink A. J., Tegelenbosch R. A.** EthoVision: a versatile video tracking system for automation of behavioral experiments // Behav. Res. Meth., Instrum. & Comput. 2001. **33**, N 3. P. 398–414.
6. **Goncalves W. N., Monteiro J. B. O., de Andrade Silva J. et al.** Multiple mice tracking using a combination of particle filter and k-means // Proc. of the XX Brazilian Symposium on Computer Graphics and Image Processing (SIBGRAPI-2007). Brazil, 2007. P. 173–178.
7. **Otsu N.** A threshold selection method from gray-level histograms // IEEE Trans. Syst., Man and Cybern. 1979. **9**, N 1. P. 62–66.
8. **Rosenfeld A., Pfaltz J. L.** Sequential operations in digital picture processing // Journ. Assoc. Comput. Machinery. 1966. **13**, N 4. P. 471–494.
9. **Куликов В. А., Куликов А. В., Тихонова М. А., Киричук В. С.** Оценка влияния антидепрессантов в тесте принудительного плавания // Автометрия. 2009. **45**, № 6. С. 46–51.
10. **Hartigan J. A., Wong M. A.** Algorithm AS 136: a k-means clustering algorithm // Appl. Statist. **28**, N 1. P. 100–108.
11. **Kulikov A. V., Tikhonova M. A., Kulikov V. A.** Automated measurement of spatial preference in the open field test with transmitted lighting // Journ. Neuroscience Methods. 2008. **170**, N 2. P. 345–351.
12. **Куликов А. В., Куликов В. А., Базовкина Д. В.** Цифровая обработка визуальной информации в поведенческом эксперименте // Журн. высш. нервн. деят. 2005. **55**, № 1. С. 126–132.

*Поступила в редакцию 6 апреля 2009 г.*

---