

УДК 602.1:519.673

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АНТИДЕПРЕССАНТОВ В ТЕСТЕ ПРИНУДИТЕЛЬНОГО ПЛАВАНИЯ*

В. А. Куликов¹, А. В. Куликов², М. А. Тихонова², В. С. Киричук¹

¹Институт автоматизации и электрометрии СО РАН,
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Коптюга, 1

²Институт цитологии и генетики СО РАН,
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10
E-mail: kirichuk@iae.nsk.su

Приводится обоснование и экспериментальная верификация применения алгоритма машинного зрения и метода максимального правдоподобия для автоматической оценки времени неподвижности животного в тесте принудительного плавания. Алгоритм машинного зрения основан на исследовании межкадровой разности изображений животного. Проводится сравнение оценки неподвижности существующими методами и оценки, полученной предложенным критерием.

Ключевые слова: автоматизация эксперимента, классификация, метод максимального правдоподобия, межкадровая разность, принудительное плавание.

Введение. Компьютерное зрение широко используется в системах автоматизации лабораторных экспериментов по тестированию действия новых медицинских препаратов на животных. В работе [1] рассматривается автоматическая трассировка (определение координат объекта по последовательности измерений (видеокадров)) изображения животного, позволяющая получать надежные и повторяемые результаты на протяжении большого количества опытов. Для исследователей важна объективная оценка изменения форм поведения под воздействием различных фармакологических препаратов, в частности антидепрессантов.

Тест принудительного плавания (тест Порсолта [2]) является самым распространенным лабораторным тестом на действие антидепрессантов, оцениваемое по способности препаратов уменьшать время неподвижности животного, помещенного в сосуд с водой. Опираясь на полученные данные о подвижности животного в тесте принудительного плавания, можно судить об эффекте антидепрессантов.

Любой этологический эксперимент выглядит следующим образом. Поведение животного регистрируется автоматически или полуавтоматически. Затем с помощью классификаторов оценивается форма поведения и интересующие параметры, такие как подвижность, средняя скорость, ускорение, размер и т. д. Автоматическая трассировка по последовательности изображений позволяет получить набор измерений, затем, основываясь на статистике, оценить параметры поведения.

В тесте принудительного плавания время неподвижности определялось визуально с помощью секундомера, что имеет недостатки, например субъективное мнение, опыт и физическое состояние экспериментатора. Первая попытка автоматизации теста Порсолта предпринята в работе [3]. Критерием неподвижности была принята скорость центра масс бинарного изображения животного, ограниченная порогом 2 см/с. Очевидно, что данный

*Работа выполнена при поддержке Междисциплинарного интеграционного проекта СО РАН «Комплексное исследование генетических механизмов нарушений поведения животных и человека на геномном, клеточном, организменном и популяционном уровнях. Роль серотонина мозга» (грант № 5).

метод имеет большую погрешность. Рассмотрим пример: животное находится в углу арены и активно двигается, при этом центр массы животного находится приблизительно на одном месте, в то время как его активность может быть высокой. Или, наоборот, животное находится в состоянии замирания в центре арены и дрейф тела будет фиксироваться как перемещение с некоторой скоростью.

Для оценки формы поведения по данным трассировки разработан ряд моделей классификаторов, в том числе байесовский подход [4], который основан на теореме, утверждающей, что если плотности распределения каждого из классов известны, то искомым алгоритм можно записать в явном аналитическом виде. Этот алгоритм оптимален, т. е. обладает минимальной вероятностью ошибок. На практике плотности распределения классов, как правило, неизвестны и их приходится оценивать (восстанавливать) по обучающей выборке. В результате байесовский алгоритм перестает быть оптимальным, так как восстановить плотность по выборке можно только с некоторой погрешностью.

Во многих практических приложениях для оценки параметров байесовских моделей используют метод максимального правдоподобия [5].

Цель данной работы — создание методики, основанной на алгоритме компьютерного зрения и методе максимального правдоподобия, для оценки эффективности действия антидепрессантов в тесте принудительного плавания.

Условия эксперимента. Экспериментальная установка для теста принудительного плавания состоит из следующих элементов: цифровой или аналоговой камеры, подсоединенной к компьютеру (Intel Dual-Core 2500GHz, 1024Mb RAM), сосуда с водой и системы освещения. Для эксперимента выбрана DV-камера Panasonic, подсоединенная к компьютеру через интерфейс FireWire, размер раstra 640×480 . Сосуд представляет собой прямоугольный параллелепипед размером $15 \times 15 \times 25$ см, установленный на платформе из белого матового стекла, под которой располагаются две лампы дневного освещения по 12 Вт. Размещение источников света ниже сосуда устраняет блики от поверхности и повышает контрастность изображения [6]. Камера находится над сосудом с водой, и ее ось визирования перпендикулярна поверхности воды. Полагаем, что рассматривается активность животного в плоскости воды и пренебрегается этой активностью вдоль оси визирования.

Математическая модель измерения подвижности животного по последовательности изображений. Пусть имеется последовательность двуградационных (бинаризованных) изображений арены с находящимся на ней животным, построенная по порогу бинаризации Θ , который максимальным образом дискриминирует яркости пикселей, ассоциированных с телом животного, относительно пикселей, ассоциированных с фоном (рис. 1):

$$B(\Theta, x, y, t) = \begin{cases} 1 \in \text{obj}, \\ 0 \text{ иначе}, \end{cases} \quad (1)$$

где obj — пиксели, ассоциированные с изображением животного; x и y — абсцисса и ордината пикселя в момент времени $t \in [0 \dots n]$.

Для заданной области D степень изменения силуэта объекта по последовательности бинарных изображений в моменты времени t_1 и t_2 может быть оценена как

$$I(\Theta, t_1, t_2) = \iint_D B(\Theta, x, y, t_1) \otimes B(\Theta, x, y, t_2) dx dy, \quad (2)$$

где \otimes — исключаящее «или».

Предложен подход к оценке подвижности животного, основанный на точном статистическом анализе распределения данных трассировки. Подвижность животного автоматически оценивалась по изменению его силуэта. Для сравнения была проведена ручная

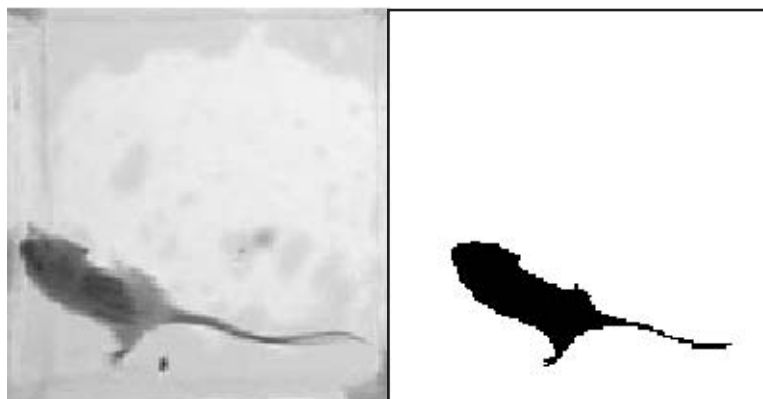


Рис. 1. Изображение и результат его обработки

регистрация подвижности: эксперт удерживал клавишу клавиатуры в момент неподвижности животного.

Распределение площади изменения силуэта каждого бинарного изображения анализировалось исходя из предположения, что данное распределение может состоять из двух гауссовых распределений (рис. 2, *a*, *b*), характеризующихся средними арифметическими $\mu_1 < \mu_2$, дисперсиями σ_1 и σ_2 и долями p и $1 - p$ для неподвижности и подвижности соответственно. Так как яркость пикселей бинарного изображения изменения силуэта распределена биномиально, сумма яркостей будет описываться распределением Пуассона, которое при большом количестве (более 4500) отсчетов может быть аппроксимировано нормальным. В случае бимодального распределения (см. рис. 2, *a*) важно получить доли распределения p . Их оценки получены методом максимального правдоподобия:

$$F(p, \mu_1, \sigma_1, \mu_2, \sigma_2) = \prod_{i=0}^n \left(p \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma_1^2}} \exp\left(-\frac{(x_i - \mu_1)^2}{2\sigma_1^2}\right) + (1 - p) \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma_2^2}} \exp\left(-\frac{(x_i - \mu_2)^2}{2\sigma_2^2}\right) \right), \quad (3)$$

$$F(p, \mu_1, \sigma_1, \mu_2, \sigma_2) \rightarrow \max. \quad (4)$$

В большинстве случаев первая мода распределения активности животного соответствует состоянию относительной неподвижности, а величина $p \times t$ является объективной оценкой времени неподвижности. Сравнивая доли распределения до и после введения антидепрессанта, можно судить о его эффективности.

Затем полученные параметры распределений используем при построении байесовского классификатора.

Для каждого класса строим дискриминантную функцию

$$d_i(x) = \frac{p_i}{\sqrt{2\pi\sigma_i^2}} \exp\left(-\frac{(x_i - \mu_i)^2}{2\sigma_i^2}\right). \quad (5)$$

Разделяющая поверхность между подвижностью и неподвижностью может быть записана как

$$d_{ap}(x) = d_a(x) - d_p(x) = 0, \quad (6)$$

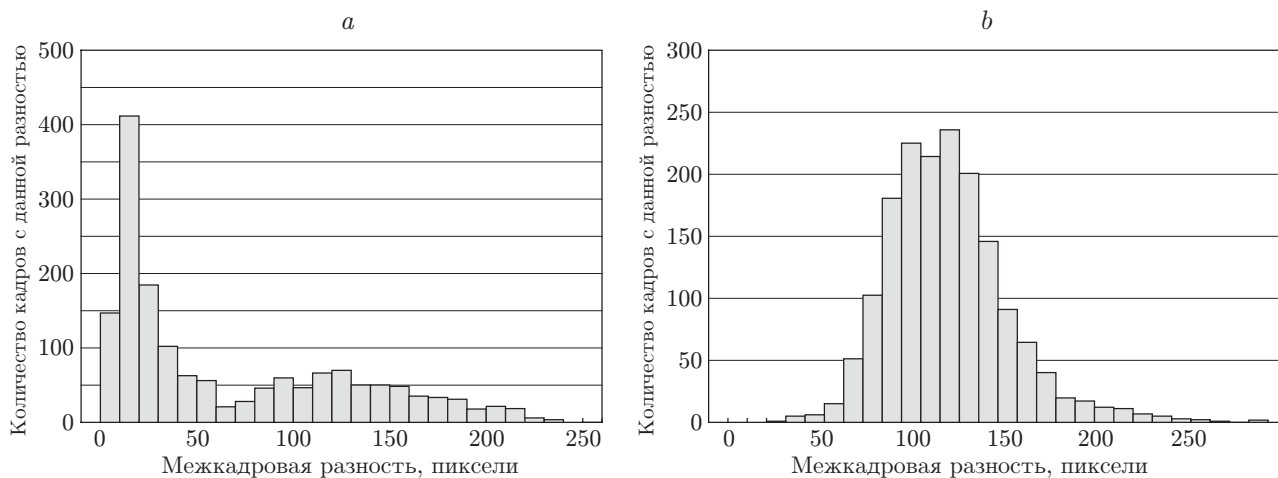


Рис. 2. Возможные распределения значений межкадровой разности: бимодальное (а) и унимодальное (b)

где d_a и d_p — дискриминантные функции подвижности и неподвижности соответственно. Тогда по знаку функции $d_{ap}(x)$ можно принять решение о принадлежности к классу подвижности для значений $d_{ap}(x) > 0$ и к классу неподвижности для значений $d_{ap}(x) < 0$.

Результаты экспериментов. Проведено экспериментальное тестирование алгоритма классификации с помощью метода максимального правдоподобия по видеозаписи поведения 40 животных. По измерениям межкадровой разности оценивались параметры распределения, на основе которых строится байесовский классификатор. Далее последовательность данных была разделена на два класса: подвижность и неподвижность (рис. 3).

Проведено сравнение данных, полученных предложенным методом и методом с заданной скоростью, относительно эталонных данных, зарегистрированных вручную (см. таблицу).

В итоге получена средняя оценка вероятности ошибки: 0,248 — предложенным методом и 0,501 — методом с заданным порогом скорости центра масс. Следует отметить, что

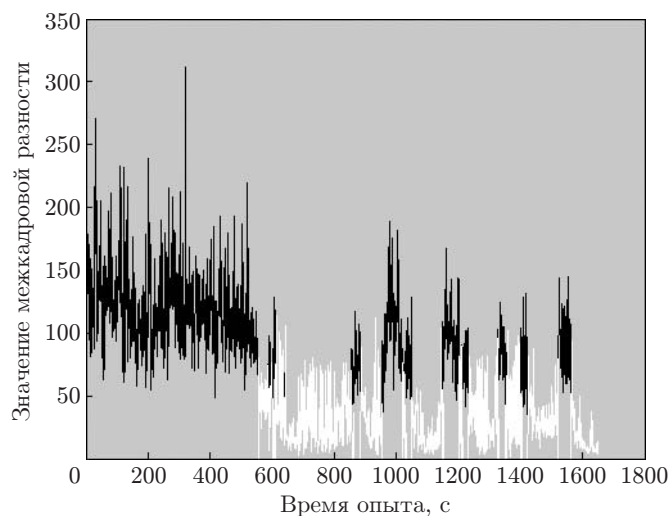


Рис. 3. Результат классификации изменения силуэта (белая часть графика классифицируется как покой или низкая активность, черная — высокая активность)

Номер животного	Вероятность ошибки классификации данных трассировки предложенным методом	Вероятность ошибки классификации данных трассировки по порогу скорости (выше 2 см/с)
1	0,146	0,678
2	0,155	0,456
3	0,483	0,504
4	0,237	0,671
5	0,208	0,180

на основе данных, описывающих поведение животного № 5, предложенный классификатор имел бóльшую вероятность ошибки, чем классификатор по скорости. Это связано с тем, что параметры распределения были оценены точно по статистическим показателям, которые могут не совпадать с биологическими параметрами. Отсюда следует, что необходимы ограничения на параметры распределения. Несмотря на этот недостаток, предлагаемый алгоритм дает среднюю ошибку в 2 раза меньше, чем определение неподвижности по скорости центра масс относительно данных, полученных вручную.

Заключение. В данной работе предложена новая автоматическая методика оценки подвижности животного в тесте принудительного плавания для тестирования фармакологических препаратов антидепрессантного действия. Метод состоит из трех этапов: получение изображений, вычисление бинарной межкадровой разности и анализ площади межкадровой разности с использованием методов математической статистики. С помощью алгоритма компьютерного зрения выделяется силуэт животного, межкадровая разность изображений силуэта животного интерпретируется как значение активности в текущий момент времени. После получения межкадровых разностей за весь эксперимент по методу максимального правдоподобия распределение активности разделялось на два класса: подвижность и неподвижность, а затем с помощью байесовского классификатора определялось состояние животного (подвижность — неподвижность) в любой момент времени.

Достоинством данного метода является то, что он опирается исключительно на статистические данные и поэтому не требует никаких параметров, задаваемых вручную, что позволяет повысить точность измерения.

Показано, что эффективность предложенного метода выше по сравнению с существующими.

В настоящее время предложенный подход реализован в последней версии программы автоматизации этологических экспериментов "EthoStudio" [7]. Разработанный подход с минимальными изменениями может быть использован для изучения активности животных в других тестах [8].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Noldus L., Spink A. J., Tegelenbosch R. A.** A versalite video tracking system for automation of behavioral experiments // Behavior Research Methods, Instruments, and Computers. 2001. **33**. P. 398–414.
2. **Porsolt R. D., Le Pichon M., Jalfre M.** Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments // Nature. 1977. **266**. P. 730–732.
3. **Crowley J. J., Jones M. D., O'Leary O. F., Lucki I.** Automated tests for measuring the effects of antidepressants in mice // Pharmacol. Biochem. Behav. 2004. **78**. P. 269–274.
4. **Шапиро Л., Стокман Дж.** Компьютерное зрение. М.: БИНОМ, 2006. 752 с.
5. **Hogg R., McKean J., Craig A.** Introduction to mathematical statistics. NJ: Pearson Prentice Hall, 2005. P. 359–364.

6. Пат. 70105 РФ. Устройство для трассировки перемещения лабораторных животных /В. А. Куликов, А. В. Куликов. Оpubл. 20.01.2008 г., Бюл. № 2. С. 965.
7. Куликов А. В., Куликов В. А., Базовкина Д. В. Цифровая обработка визуальной информации в поведенческом эксперименте // Журнал высшей нервной деятельности. 2005. 55. С. 126–132.
8. Cryan J. F., Mombereau C., Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice // Neurosci. Biobehav. Rev. 2005. 29. P. 571–625.

Поступила в редакцию 22 декабря 2008 г.
