

Rastreamento de Camundongos para Automação de Experimentos com Fármacos

Wesley Nunes Gonçalves

25 de abril de 2005

1 Antecedentes e Justificativa

Estudar o comportamento dos animais é um dos importantes passos no desenvolvimento de novos fármacos. Crescendo assim a necessidade de automatizar os experimentos, permitindo que pesquisadores estudem o comportamento de animais de forma confiável. Esses comportamentos são registrados na maioria das vezes de forma manual ou semi-automática.

Na observação manual o experimentador observa o animal que, caso demonstre algum padrão de comportamento considerado importante, esse é anotado. Essa observação pode ser realizada com um investimento relativamente baixo, mas sofre com a fadiga ou distração do observador e, quando há mais de um observador, obtendo assim classificações diferentes para o mesmo comportamento apresentado pelo animal.

Na observação automatizada é possível registrar os comportamentos de forma confiável e consistente durante longos períodos de tempo. Quando há necessidade de medidas exatas, como distâncias e velocidades, em que o observador humano é incapaz de estimar exatamente (SPINK et al., 2001). Além de fornecer um significativo melhoramento na aceleração dos experimentos, não tendo a necessidade de se repetir o mesmo, utilizando então, um número menor de animais.

Uma das principais etapas na observação automatizada é o rastreamento, pois através dele será possível identificar o camundongo em cada imagem. O rastreamento é a base do Sistema Topolino, pois após a detecção do camundongo será possível, por exemplo, extrair os parâmetros necessários para a análise do seu comportamento.

O objetivo deste projeto é estudar e implementar as técnicas de visão computacional para rastrear o camundongo, lidando com diversos problemas, como o alto custo de processamento, já que o rastreamento se dará em tempo real. Os módulos serão implementados utilizando a linguagem java, por ser portátil entre sistemas operacionais, sendo por fim, integrado ao sistema Topolino.

O sistema Topolino tem o propósito de automatizar o estudo do comportamento de animais. O sistema computadorizado será desenvolvido para segmentar e rastrear animais de laboratório, em ambientes controlados, usando técnicas de visão computacional.

2 Objetivos

2.1 Geral

Desenvolver um módulo para o sistema Topolino, com programas-fontes livres, que seja capaz de segmentar e rastrear um camundongo em um experimento através das imagens digitais recebidas de um dispositivo de captura de imagens.

2.2 Específicos

1. Analisar técnicas de rastreamento e segmentação de imagens aplicáveis ao problema.
2. Analisar ferramentas de apoio ao desenvolvimento do módulo.
3. Desenvolver um módulo para segmentar e rastrear camundongos automaticamente.
4. Integrar o módulo de rastreamento de camundongos ao sistema Topolino.

3 Revisão de Literatura

3.1 Segmentação de Imagens

Woods e Gonzalez (GONZALEZ; WOODS, 1992) descrevem o processo de segmentação como uma subdivisão da imagem nas partes ou objetos que a constituem. O nível cuja subdivisão deve ser realizada depende do problema, parando quando os objetos de interesse na aplicação forem isolados. Algoritmos de segmentação para imagens monocromáticas são geralmente baseados em uma das propriedades básicas de valores de níveis de cinza.

3.2 Utilização de Movimento na segmentação

O movimento é uma poderosa pista usada por seres humanos e animais para a extração de um objeto de interesse de um fundo de detalhes irrelevantes (GONZALEZ; WOODS, 1992). Segundo (KRUGER; CALWAY, 1996) o desenvolvimento de modelos e algoritmos capazes de fazer com que máquinas possuam capacidade semelhante vem recebendo maior atenção a cada dia.

A análise de objetos em movimento em uma seqüência de quadros tem sido abordada de várias maneiras (WREN et al., 1997). O problema básico consiste em determinar quais os objetos da cena serão acompanhados e então localizar cada um deles nos diversos quadros consecutivos.

O acompanhamento de objetos é inerentemente complicado pois existem vários problemas envolvidos nessa tarefa. Se o objeto a ser rastreado não for rígido (um camundongo por exemplo), a sua forma estará mudando continuamente a medida que ele se movimenta, dificultando o trabalho de segui-lo ao longo dos diversos quadros. Complicações também aparecem devido às diferenças de luminosidade que podem ocorrer durante o processo de rastreamento.

3.3 Diferença entre Imagens

De acordo com Malm e Heyden, 2000 (MALM; HEYDEN, 2000), a técnica de diferença entre imagens é baseada no sistema visual humano, o qual detecta o movimento de objetos pela diferença na intensidade entre os mesmos e o fundo, não utilizando a princípio as variações cromáticas. Assim sendo, a técnica trabalha apenas com os valores dos pixels em tons de cinza, descartando as informações de cores.

Nessa técnica realiza-se uma simples subtração de uma imagem pela outra, onde houver diferença entre as mesmas posições nas duas imagens, ou seja, onde a subtração retornar um valor diferente de zero, significa que naquela posição houve movimento.

3.4 Diferença entre Imagens com Limiar

Stafford-Fraser, 1996 (STAFFORD-FRASER, 1997), relata pequenas diferenças de valores entre duas imagens consecutivas, imperceptíveis a olho nu, que estão sempre presentes, sendo resultantes de pequenas variações na iluminação, vibrações induzidas, provocadas pelo vento, limitações eletrônicas do dispositivo de captura de imagem utilizado e interferências elétricas no circuito de vídeo. Isso atrapalha muita a técnica simples de diferença entre imagens, visto que mesmo que a diferença entre os valores seja realmente pequena, ela é diferente de zero, proporcionando a falsa classificação do pixel, como se naquela posição tivesse havido um movimento. Entranto assim o limiar, que deve ser grande o suficiente para remover esses ruídos.

Em experimentos realizados por Hardenberg, 2001 (HARDENBERG, 2001), os melhores resultados obtidos para diversas condições de iluminação utilizaram o limiar de valor vinte por cento.

3.5 Subtração de Imagens

Supondo que o fundo seja sempre mais escuro que o objeto de interesse, como por exemplo, o camundongo em frente a um fundo preto, é possível melhorar um pouco o algoritmo de diferença entre imagens (ALARD; LUPTON, 1998). Dessa forma, não estamos mais considerando os pixels com valor de cinza diferentes da imagem anterior, mas sim os pixels que são mais escuros que na imagem anterior, ou seja, os pixels do objeto de interesse.

Assim, o resultado mostra apenas a nova posição do objeto, não aparecendo mais a posição anterior do mesmo. Ao contrário de outras técnicas já explana-

das, esta funciona muito bem para objetos que se movimentam rapidamente, porém não apresenta bons resultados para objetos que se movimentam lentamente.

Uma possibilidade para continuar trabalhando com diferença entre imagens e evitar esse problema é não calcular a diferença entre imagens consecutivas, mas sim a diferença entre a imagem atual e a imagem de referência do fundo (imagem do fundo sem a presença do objeto de interesse).

3.6 Imagem de Referência do Fundo

Em algumas aplicações o fundo é utilizado como imagem de referência, ou seja, antes de iniciar o processo de rastreamento do objeto é necessário uma imagem limpa do fundo. Isso funciona bem apenas para aplicações que são executadas por períodos bem curtos de tempo, visto que, na vida real, é muito difícil de se conseguir manter um fundo de cena estável por longos períodos de tempo.

Para resolver isso, é necessário adaptar a imagem de referência de fundo no decorrer do tempo. Em Stafford-Fraser, 1996 (STAFFORD-FRASER, 1997), foi demonstrado um algoritmo simples que funciona da seguinte maneira: toda vez que uma nova imagem é capturada, a imagem de referência é atualizada, ao utilizar esse método, faz-se necessário escolher qual a frequência com que a imagem de referência deve ser atualizada.

Em Hardenberg e Berard, 2001 (HARDENBERG; BERARD, 2001), foram tentadas várias maneiras diferentes de atualizar a imagem seletivamente. Em uma das tentativas, atualizaram-se apenas os objetos que não estavam conectados às bordas, o que apresentou bons resultados em muitos casos para o rastreamento.

3.7 Limiarização

O método mais simples e mais utilizado na fase de segmentação de sistemas de visão computacional é o da limiarização. A limiarização, apesar de muito simples de ser implementada, possui dois grandes problemas. Primeiramente, é muito difícil se encontrar automaticamente o limiar para a segmentação correta. O outro problema é que, quando o pico do histograma do objeto de interesse é muito próximo do pico do histograma geral do fundo da imagem, se torna impossível realizar a segmentação.

Em Wellner, 1993 (WELLNER, 1993), é descrito um método de limiarização que calcula várias médias em diferentes direções. Esse método é apenas um dentre tantos outros métodos sofisticados de limiarização adaptativa.

3.8 Crescimento de Regiões

A técnica de crescimento de regiões pode ser vista como um aperfeiçoamento da limiarização, que funciona tentando agrupar as regiões homogêneas conectadas da imagem. Em relação à limiarização pura, o crescimento de regiões apresenta duas vantagens. Primeiramente, os valores dos parâmetros que definem a homogeneidade entre as regiões é calculado para cada região, e é atualizado

cada vez que um novo pixel é adicionado a região, ou seja, o limiar é escolhido localmente. O outro ponto a ser destacado é que o algoritmo segmenta várias regiões na imagem, que podem ser processadas independentemente.

Uma delas é a técnica de semear, descrita por Adams e Bischof, 1994 (ADAMS; BISCHOF, 1994), onde um ou mais pontos na imagem são marcados como sementes, e a partir dos pixels vizinhos desses pontos vão se formando as regiões homogêneas.

A outra variante muito difundida é a separação-e-junção(split-and-merge), descrita por Chen et al, 1991 (CHEN; LIN; CHEN, 1991), que segue o caminho contrário da anterior, começando com a imagem inteira e dividindo a mesma iterativamente, até restarem apenas regiões homogêneas. Em ambas as variantes, os algoritmos dependem muito do critério de homogeneidade, que é utilizado para decidir se duas regiões vizinhas, ou uma região e um pixel vizinho, são homogêneos o suficiente para se fundirem em uma só região.

Essa técnica é extremamente lenta, para que seu processamento seja em tempo real, necessita-se que as imagens tenham no máximo 192x144 pixels. Em relação a estabilidade, o crescimento de regiões não apresenta bons resultados, por exemplo quando a sombra corta o objeto e quando não existe contraste suficiente entre o fundo e os objetos. A vantagem dessa técnica é que não necessita de calibragem pois funciona sob qualquer tipo de iluminação.

3.9 Correlação

Correlação é o nome dado à técnica de reconhecimento de padrões que mede a similaridade entre um padrão amostrado e qualquer outro padrão de teste. Para ser utilizado no rastreamento de um camundongo, o princípio básico da correlação é muito simples: uma imagem do objeto é amostrada no início, e então o algoritmo passa a buscar aquele objeto em todas as imagens seguintes, testando o padrão (a imagem do objeto de interesse) em todas as possíveis posições na imagem, aplicando em cada possível posição o algoritmo de correlação. A posição que obtiver o maior valor de correlação é onde provavelmente está o objeto de interesse.

Existem várias maneiras de se encontrar o padrão desejado nas imagens seguintes, ou seja, várias maneiras de se calcular a medida de similaridade ou valor de correlação. Uma das maneiras para comparar as duas imagens, que é descrita e avaliada dentre tantas outras por Martin e Crowley, 1995 (MARTIN; CROWLEY, 1995), é calcular a Soma das Diferenças Quadradas (SSD) entre os pixels correspondentes das imagens.

Uma das desvantagens deste método é a sua sensibilidade em relação à mudanças nas condições de iluminação, para evitar esse problema, o ideal é normalizar as imagens amostradas pelas suas luminosidades. Para normalizar as imagens pelas suas luminosidades, basta dividir o valor de correlação obtido pela luminosidade total, gerando assim a chamada correlação-cruzada normalizada (NCC).

No artigo de Martin e Crowley, 1995 (MARTIN; CROWLEY, 1995), é afirmado que o SSD é muito mais estável na presença de ruídos do que o NCC,

porém, como já foi escrito anteriormente, o NCC é invariante em relação a mudanças na iluminação, ou seja, cada um apresenta vantagens e desvantagens em relação ao outro.

4 Metodologia

Para viabilizar o desenvolvimento do módulo em um curto espaço de tempo, serão reaproveitados alguns pacotes livres já existentes, como ImageJ, para processamento digital de sinais, o JMF, para manipulação de filmadoras digitais. Os pacotes citados acima são constituídos de programas na linguagem Java, o que facilitará a portabilidade do módulo para outros sistemas operacionais.

Seguem abaixo as etapas metodológicas relacionadas com cada um dos objetivos específicos.

1. Analisar técnicas de rastreamento e segmentação de imagens aplicáveis ao problema.
 - (a) Aquisição de imagens através de uma webcam.
 - (b) Estudo das propriedades estatísticas de uma imagem (brilho, contraste, histogramas, etc).
 - (c) Estudo generalizado das teorias e tecnologias disponíveis para segmentação de imagens.
 - (d) Estudo específico da técnica que melhor se adapta à segmentação de camundongos.
 - (e) Estudo sobre técnicas de rastreamento.
2. Analisar ferramentas de apoio ao desenvolvimento do módulo.
 - (a) Estudo da linguagem Java voltada para visão computacional.
 - (b) Avaliação da portabilidade e dos tipos suportados da biblioteca JMF.
 - (c) Capturação e formatação de mídias de vídeo.
 - (d) Reprodução e edição das mídias de vídeo em JMF.
 - (e) Análise das outras funcionalidades importantes do JMF.
 - (f) Avaliação da portabilidade da ferramenta ImageJ.
 - (g) Binarização e histogramas no ImageJ.
 - (h) Conversão de tipos (RGB - Níveis de Cinza) no ImageJ.
 - (i) Estudo da organização de uma imagem digital na ferramenta ImageJ.
 - (j) Análise das outras funcionalidades importantes da ferramenta ImageJ.
3. Desenvolver um módulo para segmentar e rastrear camundongos automaticamente.

- (a) Implementação e teste dos filtros para pré-processar as imagens.
 - (b) Implementação e teste do módulo para segmentar o camundongo.
 - (c) Implementação e teste do módulo para rastrear o camundongo em sequência de imagens.
 - (d) Integração e análise de desempenho dos módulos.
 - (e) Criação da documentação para os módulos implementados.
4. Integrar o módulo de rastreamento de camundongos ao sistema Topolino.
- (a) Reunião com o grupo para discutir a integração.
 - (b) Integração do módulo implementado com a plataforma Topolino.
 - (c) Verificação de erros da integração.
 - (d) Análise de desempenho da plataforma.
 - (e) Comparação com outros produtos.

5 Cronograma

Etapa	Mês											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.a	X											
1.b	X											
1.c	X	X										
1.d		X										
1.e			X	X								
2.a	X	X										
2.b			X									
2.c				X								
2.d				X								
2.e				X								
2.f		X										
2.g					X							
2.h					X	X						
2.i					X							
2.j					X	X						
3.a							X	X				
3.b							X	X	X	X		
3.c									X	X	X	
3.d										X	X	
3.e											X	
4.a												X
4.b												X
4.c												X
4.d												X
4.e												X

Referências

- ADAMS, R.; BISCHOF, L. Seeded region growing. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, IEEE Computer Society, Washington, DC, USA, v. 16, n. 6, p. 641–647, 1994. ISSN 0162-8828.
- ALARD, C.; LUPTON, R. H. A method for optimal image subtraction. *Astrophysical Journal*, v. 503, p. 325, 1998.
- CHEN, S.-Y.; LIN, W.-C.; CHEN, C.-T. Split-and-merge image segmentation based on localized feature analysis and statistical tests. *CVGIP: Graph. Models Image Process.*, Academic Press, Inc., Orlando, FL, USA, v. 53, n. 5, p. 457–475, 1991. ISSN 1049-9652.
- GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. *Digital Image Processing*. Boston, MA, USA: Addison-Wesley Longman Publishing Co., Inc., 1992. ISBN 0201508036.
- HARDENBERG, C. *Fingertracking and Handposture Recognition for Real-Time Human-Computer Interaction*. Dissertação (Mestrado) — Université Joseph Fourier, 2001.
- HARDENBERG, C. von; BERARD, F. Bare-hand human-computer interaction. In: *PUI '01: Proceedings of the 2001 workshop on Perceptive user interfaces*. New York, NY, USA: ACM Press, 2001. p. 1–8.
- KRUGER, S.; CALWAY, A. *Multiresolution Motion Estimation Using an Affine Model*. [S.l.], Junho 1996. Disponível em: <<http://www.cs.bris.ac.uk/Publications/Papers/1000127.pdf>>.
- MALM, H.; HEYDEN, A. Hand-eye calibration from image derivatives. In: *ECCV '00: Proceedings of the 6th European Conference on Computer Vision-Part II*. London, UK: Springer-Verlag, 2000. p. 493–507. ISBN 3-540-67686-4.
- MARTIN, J.; CROWLEY, J. L. Comparison of correlation techniques. In: AL., U. R. et (Ed.). *Intelligent Autonomous Systems - IAS-4*. Karlsruhe, Germany: [s.n.], 1995. p. 86–93. Disponível em: <<http://www-prima.imag.fr/~jmartin/Publis/publis-abstract.html#ias95>>.
- SPINK, A. et al. The ethovision video tracking system - a tool for behavior phenotyping of transgenic mice. *Physiology and Behavior*, Orlando, FL, USA, p. 731–744, 2001.
- STAFFORD-FRASER, J. Q. *Video-augmented environments*. [S.l.], abril 1997. Disponível em: <<http://www.cl.cam.ac.uk/TechReports/UCAM-CL-TR-419.pdf>>.
- WELLNER, P. Interacting with paper on the digitaldesk. *Commun. ACM*, ACM Press, New York, NY, USA, v. 36, n. 7, p. 87–96, 1993. ISSN 0001-0782.

WREN, C. R. et al. Pfinder: Real-time tracking of the human body. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, IEEE Computer Society, Washington, DC, USA, v. 19, n. 7, p. 780–785, 1997. ISSN 0162-8828.