ANEXO III, DO EDITAL Nº 001/2017 DO PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA – PROIC, DA UNICENTRO

PROJETO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Título do Projeto: Rastreamento de rato na tarefa mnemônica do labirinto aquático de Morris usando técnicas de Processamento Digital de Imagens

Palavras-chave: Processamento Digital de Imagens, rastreamento em vídeo, análise

comportamental quantitativa, memória espacial, labirinto aquático de Morris

Aluno: Moacir Guedes Oliveira Orientador: Mauro Miazaki

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Atualmente no Laboratório de Neuropsicofarmacologia, do Departamento de Farmácia, da UNICENTRO, há a sala do Labirinto Aquático de Morris (LAM), utilizada como tarefa comportamental de aprendizado e memória espacial em ratos como sujeitos experimentais. O LAM é talvez o paradigma de aprendizado mais utilizado para investigar o processamento de memórias espaciais [Bures et al., 1997; Redish e Touretzky, 1998; De Hoz et al., 2004; Schimanski e Nguyen, 2004]. Nesta tarefa, os ratos (ou outros pequenos roedores) são treinados para escapar da água, através do nado até uma plataforma escondida logo abaixo da superfície da água, cuja localização só pode ser encontrada utilizando-se pistas espaciais externas ao tanque que contém a água e a plataforma. Análises comportamentais do aprendizado na tarefa do LAM indicam que há a mobilização de um grupo de processos cognitivos envolvidos por um lado com o armazenamento e evocação das informações visuais, e por outro lado com o planejamento e estratégias de navegação.

Durante o aprendizado espacial, o parâmetro quantitativo mais simples que evidencia a gradual mudança do desempenho do animal em encontrar o local da plataforma é o declínio no tempo que esse animal leva para encontrar esse local. Esse tempo é denominado latência de escape. Entretanto, como pode haver muitos outros fatores que contribuem para uma dada latência de escape além da taxa de aprendizagem espacial (incluindo tigmotaxia, déficits visuais, fatores atencionais e motivacionais), torna-se necessário conduzir outras análises de desempenho para se obter um cenário mais detalhado. Dentre essas análises, o teste de transferência é um dos mais importantes e utilizados, pois fornece um parâmetro, independente da latência de escape e da velocidade de nado, da tendência de o animal persistir na procura pelo local onde a

plataforma se encontrava durante todo o treino [Stewart e Morris, 1993]. O teste de transferência consiste em medir, numa sessão de teste pós-treino, sem a plataforma e com duração de 1 minuto, a porcentagem deste tempo que o rato permanece no quadrante-alvo, o quadrante em cujo centro geométrico se encontrava a plataforma submersa nas sessões precedentes de treino. Se um rato efetivamente memorizou onde estava a plataforma, espera-se que ele gaste significativamente mais de 25% do tempo da sessão de teste nadando neste quadrante, a procura da plataforma. A relação entre este parâmetro e a formação de memória espacial é sustentado por estudos farmacológicos e de lesões em áreas cerebrais específicas, como o hipocampo [Redish e Touretzky, 1998].

Até o presente momento, o rastreamento dos ratos na piscina tem sido feito de forma manual. O vídeo do rato na piscina é transmitido a um monitor, que teve a sua tela demarcada em quatro quadrantes, através de um risco horizontal e um risco vertical, centrados na tela. Um pesquisador deve assistir ao vídeo do rato na piscina e, utilizando um cronômetro, realiza a medição do tempo de permanência do rato em cada quadrante. Esta é uma tarefa que demanda bastante tempo do pesquisador, além de ser trabalhosa, subjetiva e limitada quanto às possíveis medidas que podem ser obtidas. Por exemplo, os julgadores (*referees*) de revistas científicas geralmente cobram outros parâmetros de medida de desempenho do rato durante a sessão de teste no LAM, além da latência e do teste de transferência, tais como: velocidade média de nado (controle da atividade motora do rato), distância percorrida (outra forma de medir a latência), desenho da trajetória de nado e densidade de ocupação de vários ratos pertencentes a um grupo experimental (somatório da trajetória percorrida de todos os ratos deste grupo, onde regiões mais percorridas por mais ratos possuem cores mais "quentes" do que regiões pouco percorridas, que então não são coloridas ou possuem cores mais "frias"). Estes outros parâmetros são muito difíceis, senão impossíveis, de serem obtidos apenas manualmente.

Nesse contexto, as técnicas de Processamento Digital de Imagens (PDI) podem ser utilizadas para automatizar esse processo, bem como permitir a aquisição de parâmetros de desempenho mais complexos como os citados anteriormente. Com o rastreamento implementado em computador, é possível liberar esse tempo de trabalho para que o pesquisador realize outras tarefas mais relevantes em sua pesquisa, além de ser possível obter medidas mais objetivas e variadas.

PDI engloba técnicas computacionais que se utilizam de cálculos matemáticos em uma imagem para melhoramento das características visuais ou para extração de dados da mesma [Gonzalez e Woods, 2010]. As principais etapas em PDI são: aquisição de imagem, préprocessamento, segmentação, representação e interpretação [Marques Filho e Vieira Neto, 1999]. PDI está presente em diversas áreas de conhecimento como a medicina, biologia, geografia, entre outras [Marques Filho e Vieira Neto, 1999].

Portanto, o objetivo deste projeto é automatizar o processo de rastreamento de um rato nadando em um tanque através de técnicas de Processamento Digital de Imagens. Desta forma, será feita a localização de um rato em imagens de vídeo e sua localização ao longo do tempo será armazenada. Em trabalhos futuros será realizada a extração de medidas e análise de dados.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Realizar o rastreamento de um rato nadando em um tanque utilizando técnicas de Processamento Digital de Imagens.

2.2. Objetivos específicos

- Estudar o problema da análise de imagens da sessão de teste do LAM;
- Estudar Processamento Digital de Imagens;
- Realizar um levantamento bibliográfico de trabalhos relacionados ao problema;
- Implementar um algoritmo que localize um rato em imagens de vídeo e armazene o caminho percorrido.

3. METODOLOGIA

Neste projeto, o rastreamento será feito em vídeo já gravado, que será fornecido pelo Laboratório de Neuropsicofarmacologia, do Departamento de Farmácia, da UNICENTRO. O rastreamento em tempo real será abordado em trabalhos futuros.

O rastreamento em vídeo consiste em localizar o rato em cada quadro (*frame*) do vídeo utilizando técnicas de Processamento Digital de Imagens. Em seguida, esta informação deverá ser armazenada. Dessa forma, obtém-se a localização espacial do rato ao longo do tempo. Em trabalhos futuros, esses dados poderão ser utilizados para a extração de medidas que representem parâmetros quantitativos de desempenho do rato, como distância percorrida, velocidade média, densidade espacial (regiões mais frequentemente visitadas), entre outras.

As atividades a serem desenvolvidas pelo aluno neste projeto estão discriminadas na Seção 4 (Cronograma).

4. CRONOGRAMA

ATIVIDADES A SEREM DESENVOLVIDAS PELO ALUNO	2017					2018						
	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
Estudar o problema da análise de imagens da sessão de teste do LAM												
Estudar Processamento Digital de Imagens												
Realizar um levantamento bibliográfico de trabalhos relacionados ao problema												
Implementar um algoritmo que localize um rato em imagens de vídeo												
Implementar o armazenamento do caminho percorrido												
Elaboração do relatório final												
Elaboração de documento para divulgação												

5. RESULTADOS ESPERADOS

Ao final do projeto espera-se que o aluno tenha adquirido conhecimentos em Processamento Digital de Imagens e sobre o problema abordado. Também espera-se produzir um programa que realize a leitura de um vídeo (já gravado) e que consiga rastrear o caminho percorrido por um rato em uma piscina, gravando esses dados em arquivo. Em trabalhos futuros, pretende-se expandir este programa, incorporando rastreamento em tempo real e extração de medidas.

Os resultados da pesquisa serão disseminados na Semana de Computação da UNICENTRO e/ou EAIC (Encontro Anual de Iniciação Científica) ou, ainda, em outros eventos da área.

6. REFERÊNCIAS

Bures J, Fenton AA, Kaminsky Y, Zinyuk L. 1997. Place cells and place navigation. Proc Natl Acad Sci USA 94: 343–350.

- De Hoz L, Martin SJ, Morris RG. 2004. Forgetting, reminding, and remembering: The retrieval of lost spatial memory. PLoS Biol 2: E225.
- Gonzalez RC, Woods RE. 2010. Processamento digital de imagens. 3ª ed. São Paulo: Pearson Education.
- Marques Filho O, Vieira Neto H. 1999. Processamento digital de imagens, Rio de Janeiro: Brasport.
- Redish AD, Touretzky DS. 1998. The role of the hippocampus in solving the Morris water maze. Neural Comput 10: 73–111.
- Schimanski LA, Nguyen PV. 2004. Multidisciplinary approaches for investigating the mechanisms of hippocampus-dependent memory: A focus on inbred mouse strains. Neurosci Biobehav Rev 28: 463–483.
- Stewart CA, Morris RGM. 1993. The watermaze, in: Sahgal A (Ed.), Behavioural Neuroscience. A Practical Approach, Vol. 1, IRL Press, Oxford: 107–122.

Guarapuava, 19 de maio de 2017.

Mauro Miazaki

Orientador

Moacir Guedes Oliveira

Assinatura do Aluno