

## МОНИТОРИНГ ДИНАМИКИ ПОПУЛЯЦИЙ КЛЕТОК В ВИДЕО НА ОСНОВЕ ИНТЕГРАЛЬНОГО ОПТИЧЕСКОГО ПОТОКА И КАРТ ДВИЖЕНИЯ

Н. Chen <sup>1\*</sup>, О. В. Недзьведзь <sup>2</sup>, Sh. Ye <sup>1</sup>, А. М. Недзьведзь <sup>3,4</sup>, С. В. Абламейко <sup>3,4</sup>

УДК 535.317.1;576.5

<sup>1</sup> Университет Чжэцзян Шурен,  
310015, Ханчжоу, Китай; e-mail: eric.hf.chen@hotmail.com

<sup>2</sup> Белорусский государственный медицинский университет,  
220116, Минск, Беларусь; e-mail: olga\_nedzved@tut.by

<sup>3</sup> Белорусский государственный университет,  
220030, Минск, Беларусь; e-mail: nedzveda@tut.by

<sup>4</sup> Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси,  
220020, Минск, Беларусь; e-mail: ablameyko@bsu.by

(Поступила 6 апреля 2020)

Предложен метод мониторинга перемещения клеточной популяции в микроскопических видеопоследовательностях на основе интегрального оптического потока и карт движения. Путем настройки и калибровки оптической системы и усреднения последовательных кадров получают высококачественные изображения. Кратковременные динамические характеристики определяются оптическим потоком. На основе оптического потока вычисляется интегральный оптический поток, используемый для создания карт движения, которые применяются для анализа и описания движения клеток в любой области. Следовательно, могут быть идентифицированы различные типы движения клеток, включая направленное движение, агрегацию и дисперсию. Метод не требует обучения, его можно использовать для мониторинга и анализа ситуации или в качестве компонента комплексных систем. Эксперименты, выполненные на синтезированных и реальных микроскопических видеозображениях, показывают его эффективность.

**Ключевые слова:** популяции клеток, мониторинг динамики, видеопоследовательность, оптический поток, карта движения.

The method for monitoring cell population movement in microscopic video-sequences based on integral optical flow and motion maps is proposed. Through adjustment and calibration of the optical system and averaging consecutive frames, high-quality subsequent images are obtained. Short-term dynamic characteristics are determined by optical flow. Based on optical flow, integral optical flow is calculated and used to create motion maps, and these maps are used to analyze and describe motions in any region of interest. Therefore, different types of cell movements, including directional motion, aggregation and dispersion can be identified. Our method doesn't require training, it can be used for situation monitoring and analysis, or as a component of comprehensive systems. Experiments performed on synthesized and real microscopic video images show the effectiveness of our method.

**Keywords:** cell population, dynamics monitoring, video analysis, optical flow, motion map.

---

## CELL POPULATION DYNAMICS MONITORING IN VIDEO BASED ON INTEGRAL OPTICAL FLOW AND MOTION MAPS

Н. Chen <sup>1\*</sup>, О. В. Nedzvedz <sup>2</sup>, Sh. Ye <sup>1</sup>, А. М. Nedzvedz <sup>3,4</sup>, S. V. Ablameyko <sup>3,4</sup> (<sup>1</sup> Zhejiang Shuren University, 310015, Hangzhou, China, e-mail: eric.hf.chen@hotmail.com; <sup>2</sup> Belarusian State Medical University, Minsk, 220116, Belarus; e-mail: olga\_nedzved@tut.by; <sup>3</sup> Belarusian State University, Minsk, 220030, Belarus; e-mail: nedzveda@tut.by; <sup>4</sup> United Institute of Informatics Problems of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, 220020, Belarus; e-mail: ablameyko@bsu.by)

**Введение.** Стволовые клетки широко используются в регенеративной медицине благодаря их свойствам регенерации: дифференциации в специализированные клетки и пролиферации через митоз для производства большого количества стволовых клеток [1]. Предварительная стадия их применения заключается в культивировании клеточного материала с высокой пролиферативной активностью, жизнеспособностью и способностью к дифференцировке [2].

Технология культивирования стволовых клеток тесно связана с методами исследования динамических свойств клеток и конгломератов клеток, полученных с помощью мониторинга микроскопических видеоизображений. Хотя этот подход имеет более низкую точность получаемых результатов по сравнению с химическими методами, он не является деструктивным для анализа и имеет значительно более низкую стоимость.

Важная часть мониторинга живых клеток — исследование динамических свойств клеток, клеточных конгломератов и клеточных взаимодействий, включая обнаружение пространственно-временной локализации событий митоза. Каждое событие митоза — это деление клетки на две дочерние клетки, что включает в себя изменение размера, формы и яркости области вокруг клеток и движения дочерних клеток.

Используемые в настоящее время методы обнаружения митоза на основе фазово-контрастной микроскопии можно разделить на две группы: основанные на слежении, где исследуются траектории клеток для выявления митоза, и методы, где исследуются визуальные особенности митоза [2, 3]. Эти методы основаны на морфологии и изменениях яркости митотических клеток [4]. Методы обнаружения митоза включают в себя алгоритмы среднего смещения, методы сопоставления нескольких объектов на основе кадровой сегментации, алгоритмы отслеживания, основанные на определении характеристик области клетки, и методы обнаружения митоза, основанные на изменении яркости [5, 6].

Другая классификация подходов к выявлению митозов делит все методы на временные или пространственно-временные [2, 7—9]. Согласно этой классификации, временные методы определяют момент времени, когда одна клетка делится на две. Пространственно-временные методы определяют изменения размеров, формы, скорости и яркости клеток.

Большинство алгоритмов основаны на мониторинге движения отдельных клеток [10, 11]. Есть две проблемы с работой этих алгоритмов: качество обнаружения клеток и избыточность информации. Так как исследуемые клетки живы и внутри них происходит много процессов, иногда границы клеток не контрастны, и клетка не обнаруживается и пропускается во время отслеживания.

Базовый оптический поток широко используется для анализа движения объекта [12—14]. Применение интегрального оптического потока [15] вместо базового позволяет избежать влияния фона на движение объекта и получить область интенсивного движения клеток. В [16] введены карты движения, позволяющие формализовать типы движения группы клеток. Для их формирования используется интегральный оптический поток. Эти карты предназначены для анализа и описания движений на уровне пикселей и регионов. В настоящей работе базовый оптический поток применяется для определения основных этапов развития отдельных клеток в клеточной культуре, а интегральный оптический поток и карты движения — для идентификации основных типов движений конгломерации клеток в видеопоследовательностях, включая направленное движение, агрегацию и дисперсию.

Предлагаемый метод не требует обучения, его можно использовать для мониторинга и анализа ситуации в качестве компонента комплексных систем. Он применен к смоделированным и реальным видео с движением популяции клеток, получены хорошие результаты.

Вклад настоящей работы заключается в следующем: определено поведение конкретных клеток; вместо использования идей гидродинамики метод фокусируется на геометрических структурах, образованных движением клетки в определенный период времени, что позволяет вывести метод на новый уровень анализа; с использованием преимущества накопительного эффекта интегрального оптического потока случайное движение фона уменьшается, отделение клеток от фона становится намного проще.

**Схема мониторинга эволюции клеточной популяции.** Мониторинг эволюции клеточной популяции состоит из трех основных этапов. Первый этап — настройка и калибровка оптической системы. В этой системе популяция клеток расположена между электродами, которые используются в качестве якорей для геометрической калибровки. Фон может быть получен путем усреднения изображений электродов. Это полезно для выравнивания яркости изображений при построении последующих изображений. На втором этапе создается оптический поток и кратковременные динамические характеристики определяются оптическим потоком. Он рассчитывается по соседним кадрам ви-

деопоследовательности. В этом случае определяются направления мгновенных движений клеток и мгновенного роста клеточной популяции. На третьем этапе анализируется накопленная информация о движении и строятся карты движения, на которых можно определить типы перемещения популяции стволовых клеток на основе пороговой сегментации локальных максимумов в картах движения. Общая схема мониторинга показана на рис. 1.

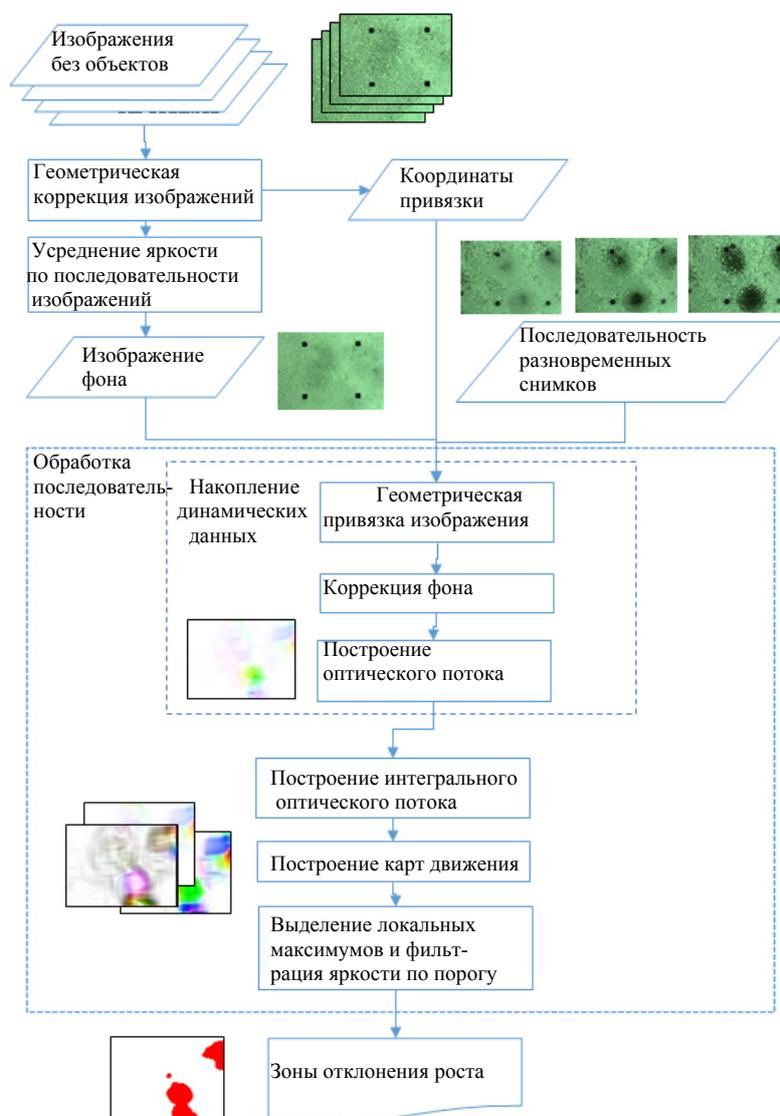


Рис. 1. Общая схема мониторинга динамики популяции стволовых клеток

**Захват и предварительная обработка изображений клеток.** Обычно процесс получения изображения идет с очень медленной скоростью, потому что за короткое время изображения тканей практически не меняются. Однако это свойство можно использовать для улучшения качества изображения. Для получения одного качественного кадра последовательные кадры, снятые за короткое время, усредняются и пиксель в изображении каждой итерации операции захвата корректируется:

$$I''(x, y) = \frac{I'(x, y)(n - 1) + I(x, y)}{n}, \tag{1}$$

где  $(x, y)$  — координата обрабатываемого пикселя;  $I''(x, y)$  — новое значение интенсивности пикселя,  $I'(x, y)$  — предыдущее значение интенсивности пикселя;  $I(x, y)$  — интенсивность пикселей в текущем захваченном кадре;  $n$  — количество итераций захвата за короткое время.

Процесс сбора продолжается, когда ошибка искажения удовлетворяет критерию:

$$\sigma''(x, y) = \frac{\sigma'(x, y)(n-1) + I''(x, y) - I(x, y)}{n} < \varepsilon, \quad (2)$$

где  $\sigma''(x, y)$  — новая ошибка интенсивности пикселя;  $\sigma'(x, y)$  — ошибка интенсивности пикселя для предыдущей итерации;  $\varepsilon$  — точность обнаружения ошибок.

Процедура построения качественного изображения повторяется через длительное время. Изображения образуют видеопоследовательность для эволюции клеток (рис. 2).

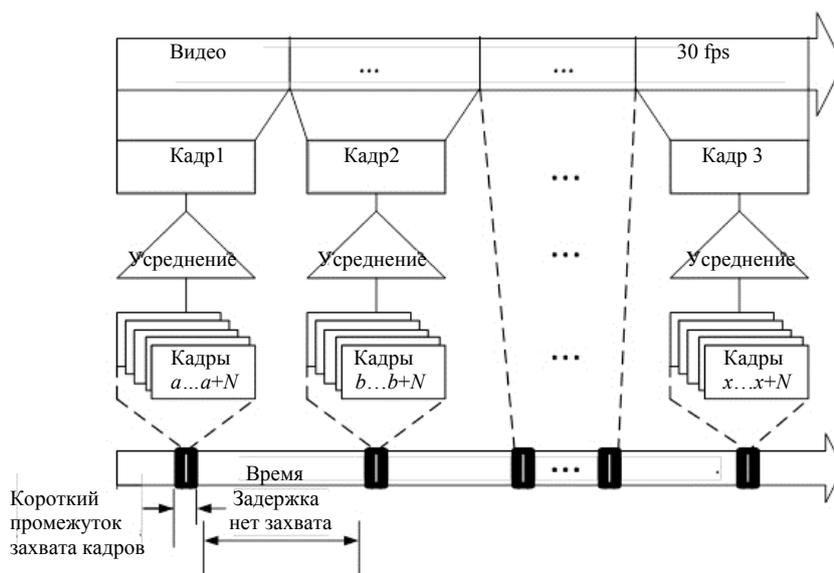


Рис. 2. Процесс захвата изображения

**Схема анализа движения клеточной популяции.** Чтобы определить движение клеточной популяции, используем понятие оптического потока. Для определения параметров движения необходимо найти интенсивность движения, количество и направление движения пикселей к определенным областям и от них.

Определяем основные типы движения клеточной популяции на основе интегрального оптического потока и карты движения на уровне пикселей, чтобы описать движения пикселей в каждой позиции, т. е. статистический анализ количества и направления движения пикселей к каждой позиции или от нее. После этого вводим региональные индикаторы движения для анализа движения на уровне региона, которое подходит для идентификации поведения клеточной популяции, и используем пороговую сегментацию для определения поведения популяций клеток. Схема метода приведена на рис. 3.

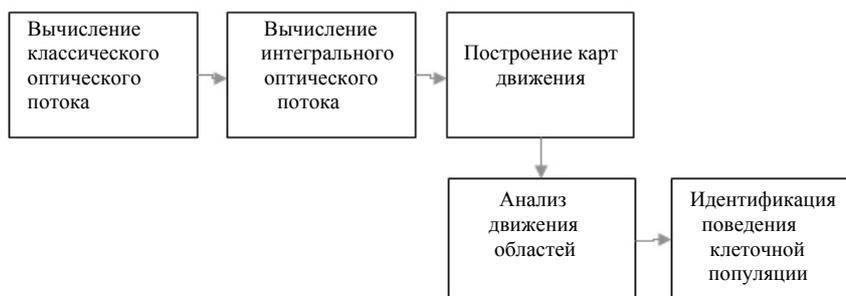


Рис. 3. Общая схема определения типов движения популяции клеток

**Интегральный оптический поток и карты движения.** Интегральный оптический поток — интеграция базового оптического потока для нескольких последовательных кадров. Для вычисления интегрального оптического потока движущиеся пиксели должны отслеживаться с использованием базового оптического потока. Обозначим  $I_t$  —  $t$ -й кадр видео  $I$ ,  $I_t(p)$  — пиксель в позиции  $p$  в  $I_t$ . Пусть  $OF_t$  — базовый оптический поток  $I_t$ ,  $IOF_t^{itv}$  — интегральный оптический поток  $I_t$ , где  $itv$  — параметр интервала кадра для вычисления интегрального оптического потока. Для любого пикселя  $I_t(p)$  его интегральный оптический поток  $IOF_t^{itv}(p)$ :

$$IOF_t^{itv}(p) = \sum_{i=0}^{itv-1} OF_{t+i}(p_{t+i}), \quad (3)$$

где  $p_{t+i}$  — позиция в  $I_{t+i}$  пикселя.

Поскольку случайные движения пикселей не учитываются, интегральный оптический поток дает возможность анализировать только объекты переднего плана, которые совершают реальные движения, по крайней мере, в течение некоторого периода времени. На основе интегрального оптического потока можно создавать карты движения для анализа геометрических структур, образованных движениями объекта. Карта движения — изображение, где элемент  $Q$  в каждой позиции показывает информацию о движении пикселей, траектория которых относится к этой позиции или области с центром в этой позиции. Карты движения сначала создаются на уровне пикселей, на их основе карты движения на уровне региона могут создаваться с помощью простых вычислений, таких как усреднение [16].

Основная идея карт движения — записывать для каждой позиции или области траектории движения пикселей, которые начинаются, заканчиваются или проходят через эту позицию или область. Для карт движения на уровне пикселей существует два способа рассмотрения траекторий движения: первый — рассмотреть только начальную и конечную позиции, второй заключается в дальнейшем рассмотрении позиций, которые прошли по траектории движения. Когда используется первый путь, траектория движения называется простой; когда применяется второй путь, траектория движения называется траекторией интерполяционного движения. Поскольку карты движения на уровне региона создаются на основе карт движения на уровне пикселей, они также зависят от того, какой путь выбран.

Создано четыре карты движения на уровне пикселей. Для каждой позиции первые две карты подсчитывают количество движущихся пикселей, а последние показывают суммарное влияние движения для двух противоположных трендов движения. Определения карт движения на уровне пикселей следующие:

- карта  $IQ$  (количество движущихся внутрь пикселей) — карта со скалярным значением в каждой позиции, указывающим количество пикселей, движущихся в соответствующую позицию;
- карта  $OQ$  (количество движущихся наружу пикселей) — карта со скалярным значением в каждой позиции, указывающим количество пикселей, удаляющихся от соответствующей позиции;
- карта  $ICM$  (комплексное движение пикселей внутрь) — карта с вектором в каждой позиции, указывающая комплексное движение пикселей к соответствующей позиции;
- карта  $OCM$  (комплексное движение пикселей вовне) — карта с вектором в каждой позиции, указывающая комплексное движение пикселей, удаляющихся от соответствующей позиции.

Используя карты движения на уровне пикселей, для каждой позиции кадра можно выявить геометрическую структуру, образованную движениями пикселей. Аналогично такая геометрическая структура для любой области показана на картах движения на уровне области, что помогает проанализировать поведение группы объектов. Существует восемь карт движения на уровне региона:

- карта  $RMI$  (интенсивность регионального движения) — карта со скалярным значением в каждой позиции, указывающим средние величины вектора смещения интегрального оптического потока для пикселей в определенной области с центром в соответствующей позиции;
- карта  $RIRQ$  (региональная относительная величина пикселей, движущихся внутрь) — карта со скалярным значением в каждой позиции, указывающая среднее значение на карте  $IQ$  в позициях в определенной области с центром в соответствующей позиции;
- карта  $RORQ$  (региональная относительная величина пикселей, движущихся вовне) — карта со скалярным значением в каждой позиции, указывающая среднее значение на карте  $OQ$  в позициях в определенной области с центром в соответствующей позиции;
- карта  $RICM$  (региональное всестороннее движение пикселей внутрь) — карта с вектором в каждой позиции, показывающая среднее значение на карте  $ICM$  в позициях в определенном регионе с центром в соответствующей позиции;

карта *ROCM* (региональное всестороннее движение пикселей вовне) — карта с вектором в каждой позиции, показывающая среднее значение на карте *OCM* в позициях в определенном регионе с центром в соответствующей позиции;

карта *RIOI* (региональный индикатор входа/выхода) — карта со скалярным значением в каждой позиции, показывающая, движется ли больше пикселей в сторону, чем удаляющихся от определенного центра области в соответствующей позиции,  $RIOI = RIRQ/RORQ$ ;

карта *RIS* (региональная внутрипиксельная симметрия) — карта со скалярным значением в каждой позиции, показывающая, как симметрично движутся пиксели в направлении определенной области с центром в соответствующей позиции,  $RIS = RIRQ/RICM$ ;

карта *ROS* (региональная симметрия вне пикселя) — карта со скалярным значением в каждой позиции, показывающая, как симметрично пиксели удаляются от определенной области с центром в соответствующей позиции,  $ROS = RORQ/ROCM$ .

Из приведенных выше определений имеем  $RIS \geq 1$  и  $ROS \geq 1$ , причем знаки равенства работают, когда соответствующие пиксели перемещаются в одном направлении. Чем больше *RIS* или *ROS*, тем симметричнее движутся соответствующие пиксели.

**Типы движения клеточной популяции.** При исследовании движения клеток в популяции можно выделить три типа: направленное; агрегация клеток или их групп (движение к общему центру); рассеивание клеток (движение от центра). Направленное движение определяется тогда, когда несколько клеток движутся в одном и том же направлении (рис. 4). Основные признаки такого движения — одновременное перемещение нескольких клеток из одной области изображения в другую; скорость движения клеток, превышающая скорость движения объектов фона; совпадающие направления движения клеток.

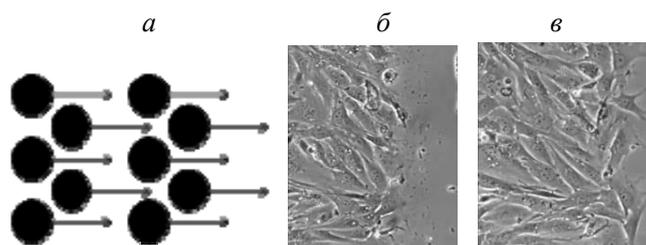


Рис. 4. Направленное движение совокупности клеток: *a* — схема направленного движения совокупности клеток (стрелками указано направление движения); *б*, *в* — микроскопические изображения смещения совокупности клеток в одном направлении

Агрегация — это движение клеток по направлению к общему центру (рис. 5). Движение клеток может быть симметричным, но могут и преобладать два направления. Различают следующие признаки агрегации: несколько клеток перемещается в одну область изображения из других областей; скорость движения этих клеток больше скорости хаотического движения; можно выделить как минимум два преобладающих направления движения.

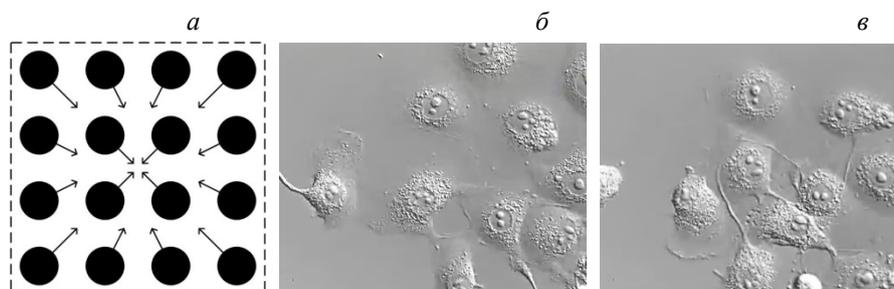


Рис. 5. Агрегация клеток: *a* — схема агрегации клеток (стрелками указано направление движения); *б*, *в* — микроскопические изображения агрегации клеток

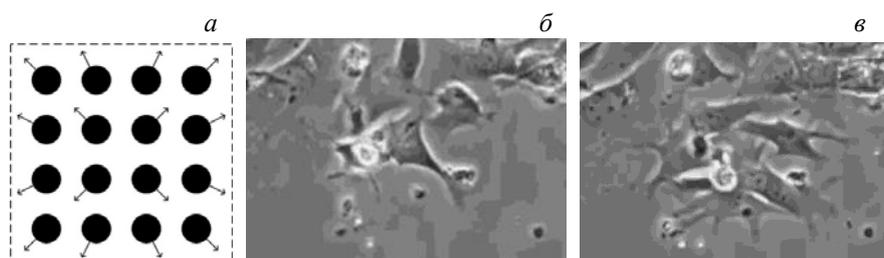


Рис. 6. Рассеивание клеток: *a* — схема рассеивания (отдельные клетки изображены черными кружками, стрелками указано направление движения); *б, в* — микроскопические изображения рассеивания клеток

Рассеивание — движение клеток от общей точки на изображении (рис. 6). Признаки рассеивания: несколько клеток перемещаются по направлению от их общего центра в другие участки изображения; скорость их движения превышает скорость хаотического движения; можно выделить как минимум два преобладающих направления движения.

Вычисление классического и интегрального оптических потоков основано на использовании данных о движении пикселей, т. е. об их начальном и конечном положениях. Описание движения клеточной популяции выполняется двумя способами. Первый описывает движение относительно каждой точки на кадре видеоизображения с учетом количества пикселей, проходящих через данную точку, и направления их движения. Второй способ описывает движение относительно области изображения, объединяющей несколько точек, при этом могут быть определены количество объектов, находящихся в области, и направление их движения. Совместное применение этих способов позволяет описать движение как на уровне пикселя, так и на уровне области.

**Определение поведения популяций клеток. Идентификация типов движения клеточной популяции.** Для определения направленного движения клеток в области  $r$  могут быть использованы характеристики: интенсивность движения в области  $MI_t(r)$ , относительное количество пикселей, покидающих область  $ORQ_t(r)$ , и коэффициент симметрии области для покидающих ее пикселей  $OS_t(r)$ . Направленное движение совокупности клеток происходит, если  $MI_t(r)$ ,  $ORQ_t(r)$  и  $OS_t(r)$  соответствуют пороговым значениям или превышают их. Вывод о наличии направленного движения в области  $r$  для кадра  $I_t$  можно сделать, если выполняются условия:

$$MI_t(r) \geq t_{11}, \quad ORQ_t(r) \geq t_{12}, \quad OS_t(r) \geq t_{13},$$

где  $t_{11}, t_{12}, t_{13}$  — пороговые значения для карт  $MI, ORQ$  и  $OS$ , соответственно,  $t_{13} > 1$ .

Определение агрегации клеток в области  $r$  может быть выполнено на основе интенсивности движения в области  $MI_t(r)$ , относительного количества пикселей, входящих в область  $IRQ_t(r)$ , относительного коэффициента области  $IOI_t(r)$  и коэффициента симметрии области для входящих пикселей  $IS_t(r)$ . Агрегация происходит в области  $r$ , в момент времени  $I_t$  выполняются условия:

$$MI_t(r) \geq t_{21}, \quad IRQ_t(r) \geq t_{22}, \quad IOI_t(r) \geq t_{23}, \quad IS_t(r) \geq t_{24}.$$

где  $t_{21}, t_{22}, t_{23}, t_{24}$  — пороговые значения для карт  $MI, IRQ, IOI$  и  $IS$  соответственно, которые зависят от относительных размеров клеток на изображении, причем  $t_{23} > 1$  и  $t_{24} > 1$ . На данном этапе работы пороговые значения подбирались эмпирически в зависимости от конкретной задачи.

Для определения рассеивания клеток в области  $r$  могут быть использованы характеристики: интенсивность движения в области  $MI_t(r)$ , относительное количество пикселей, покидающих область  $ORQ_t(r)$ , относительный коэффициент области  $IOI_t(r)$  и коэффициент симметрии области для выходящих пикселей  $OS_t(r)$ . Рассеивание клеток происходит, если достигаются пороговые значения и выполняются условия:

$$MI_t(r) \geq t_{31}, \quad ORQ_t(r) \geq t_{32}, \quad IOI_t(r) \geq t_{33}, \quad OS_t(r) \geq t_{34},$$

где  $t_{31}, t_{32}, t_{33}, t_{34}$  — пороговые значения для карт  $MI, ORQ, IOI, OS$  соответственно,  $0 < t_{33} < 1$  и  $t_{34} > 1$ .

**Результаты и их обсуждение.** Алгоритм протестирован с использованием синтезированных и реальных микроскопических видеоизображений. Первая видеогруппа включает в себя синтезированные видеопоследовательности, которые содержат движение шаров, имитирующих основные типы движения, представленные файлами: `simple motion.mp4` и `simple motion2.mp4` включают в себя направленное движение; `dispersion.mp4` and `dispersion2.mp4` включают в себя дисперсию объектов; `aggregation.mp4` и `aggregation2.mp4` включают агрегацию объектов.

Вторая видеогруппа включает в себя реальные микроскопические видеопоследовательности движущихся ячеек, представленных файлами: cell migration.mp4 содержит направленное движение клеток, которое доминирует во всей последовательности; cell migration2.mp4 содержит направленное движение клеток, в котором в определенное время образуются зона агрегации и зона дисперсии; nerve tissue.mp4 отражает рост нервных клеток, в которых имеются участки агрегации и рассеивания клеток; cell motion.mp4 описывает движение стволовых клеток в популяции при формировании ткани, существуют все виды движения; muscle tissue.mp4 описывает рост клеток в одном направлении с небольшими участками агрегации и дисперсии клеток, связанными с неравномерным ростом.

Результаты анализа направленного перемещения с использованием простой траектории движения показаны на рис. 7 (852×480, 30 кадр/с), модели клеток движутся слева направо. При использовании простой траектории значение для любого узла на карте  $OQ$  равно 1 или 0, а значение для любого узла на карте  $ORQ$  меньше 1. Интервал для вычисления интегрального оптического потока  $itv = 20$ ,

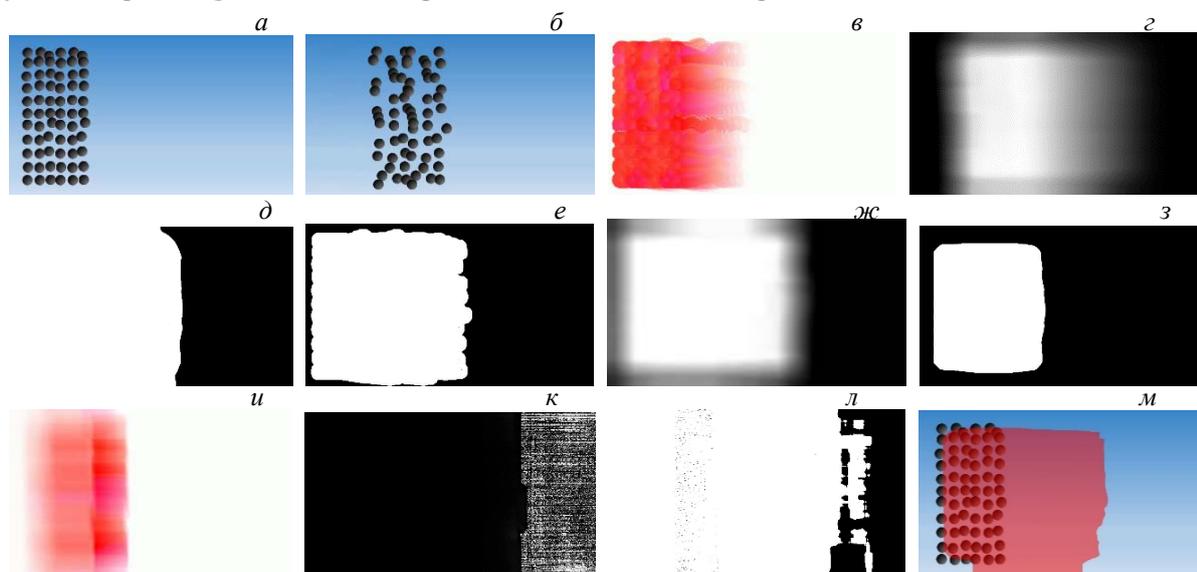


Рис. 7. Результаты эксперимента по определению направленного движения моделей клеток с использованием простой траектории движения:  $a$  — кадр  $I_t$ ;  $б$  — кадр  $I_{t+20}$ ;  $в$  — цветное изображение  $IOF_t^{20}$ ;  $г$  — полутоновое изображение  $MI_t$ ;  $д$  — результат сегментации  $MI_t$ ;  $е$  — полутоновое изображение  $OQ_t$ ;  $ж$  — полутоновое изображение  $ORQ_t$ ;  $з$  — результат сегментации  $ORQ_t$ ;  $и$  — цветное изображение  $ROCM_t$ ;  $к$  — полутоновое изображение  $OS_t$ ;  $л$  — результат сегментации  $OS_t$ ;  $м$  — результат идентификации направленного движения совокупности клеток  $I_t$

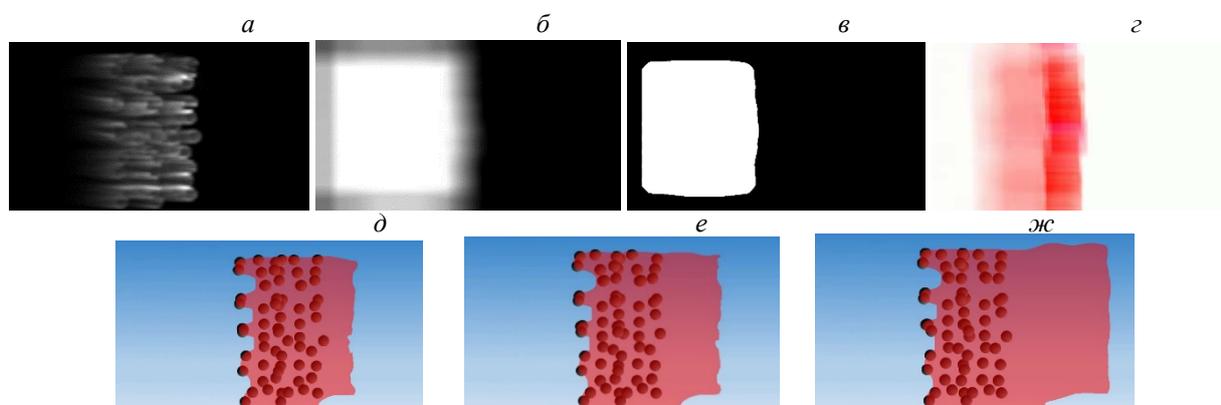


Рис. 8. Результаты эксперимента по определению направленного движения совокупности клеток с использованием интерполированной траектории движения:  $a$  — полутоновое изображение  $OQ_t$ ;  $б$  — полутоновое изображение  $ORQ_t$ ;  $в$  — результат сегментации  $ORQ_t$ ;  $г$  — цветное изображение  $ROCM_t$ ;  $д$  — результат определения направленного движения  $t_{12} = 6$ ;  $е$  — результат определения направленного движения  $t_{12} = 10$ ;  $ж$  — результат определения направленного движения  $t_{12} = 15$

размер области для определения поведения клеток  $150 \times 150$ . Пороговые значения для карт  $MI$ ,  $ORQ$  и  $OS$   $t_{11} = 20$ ,  $t_{12} = 0.8$  и  $t_{13} = 1.1$  соответственно. На рис. 8 видно, что область движущихся объектов и участок перед ними закрашены красным цветом. Промежутки между движущимися объектами, в которых движение не наблюдается, также окрашены, так как в результате накопления пикселей при формировании интегрального оптического потока они воспринимаются как движущиеся.

Для анализа движения интерполированной траектории движения порог для карты  $ORQ$  должен быть намного выше, так как пиксели, проходящие через каждый узел, вносят свой вклад в значение для этого узла на картах  $OQ$  и  $ORQ$ . Размер области  $101 \times 101$ ,  $t_{11} = 20$ ,  $t_{12} = 3$ ,  $t_{13} = 1.1$ . Сравнение карт  $OQ$  показывает, что карта на рис. 7, а более подробная, чем на рис. 7, е.

Из анализа рис. 7 и 8 следует, что карта  $ROCM$  при использовании интерполированной траектории движения (рис. 7, з) является более выраженной и содержит меньше шумов, размывающих движение, чем такая же карта при использовании простой траектории движения (рис. 7, и). Поэтому для анализа движения используем интерполированную траекторию. По мере повышения порога для карты  $ORQ$  результат показывает низкую чувствительность к порогу (рис. 8, д—ж).

Результат анализа агрегации моделей клеток показан на рис. 9 ( $852 \times 480$ , 30 кадр/с), движение направлено с разных сторон к центру изображения. Для определения агрегации клеток важно, что интенсивность движения внутри области агрегации мала. Для анализа агрегации объектов использовалась интерполированная траектория, интервал для вычисления интегрального оптического потока  $itv = 20$ , размер области  $101 \times 101$ . Пороговые значения для карт  $MI$ ,  $IRQ$ ,  $IOI$ ,  $IS$ :  $t_{21} = 10$ ,  $t_{22} = 3$ ,  $t_{23} = 1.5$ ,  $t_{24} = 4$ . Здесь  $t_{23} = 1.5$  означает, что число пикселей, входящих в исследуемую область, должно быть по крайней мере в 1.5 раз больше числа пикселей, выходящих из нее.

На рис. 9, а и б показано движение моделей клеток по направлению к центру изображения для кадров  $I_t$  и  $I_{t+20}$ . Интегральный оптический поток на рис. 9, в отображает направление их движения. Поскольку используется интерполированная траектория движения, тонкие серовато-белые следы на рис. 9, г соответствуют большим значениям для подходящих узлов на карте  $IQ$ . Наличие шумов на карте  $IOI$  объясняет то, что большая часть рис. 9, ж черная, но результат сегментации на рис. 9, з показывает, что больше пикселей движется внутрь области, чем из нее. На рис. 9, и видно симметричное движение пикселей вокруг светлой области в центре, на рис. 9, к симметричное направление

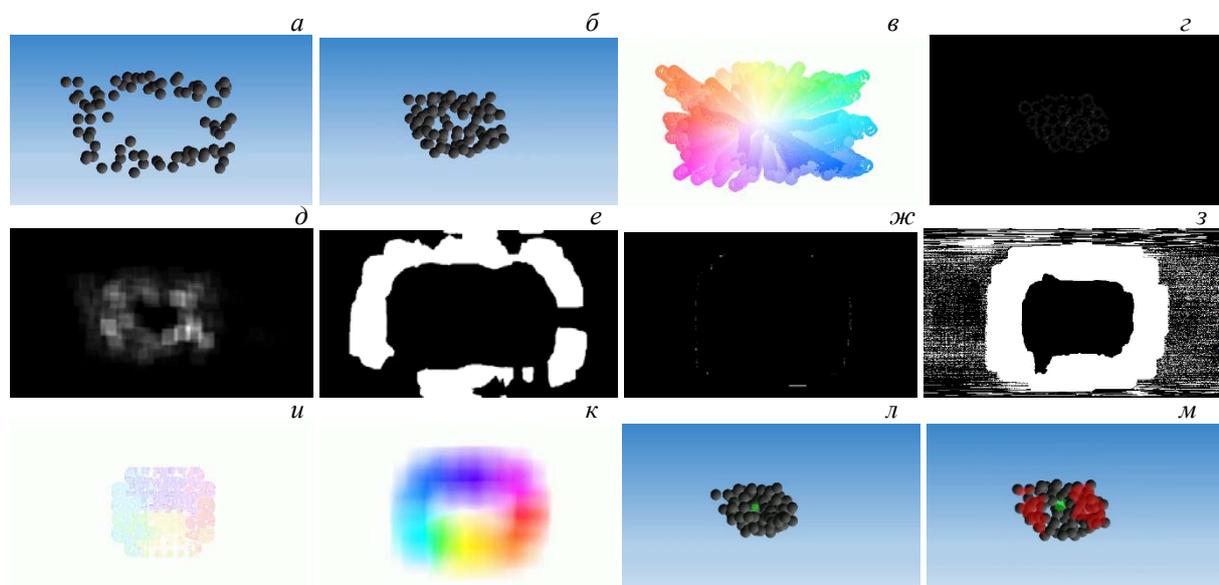


Рис. 9. Результаты эксперимента по определению агрегации клеток с использованием интерполированной траектории: а — кадр  $I_t$ ; б — кадр  $I_{t+20}$ ; в — цветное изображение  $IQ_t^{20}$ ; г — полутоновое изображение  $IQ_t$ ; д — полутоновое изображение  $IRQ_t$ ; е — результат сегментации  $IRQ_t$ ; ж — полутоновое изображение  $IOI_t$ ; з — результат сегментации  $IOI_t$ ; и — цветное изображение  $ICM_t$ ; к — цветное изображение  $RICM_t$ ; л — выделенная зона агрегации клеток в  $I_t$  при  $t_{24} = 10$ ; м — выделенная зона агрегации клеток в  $I_t$  при  $t_{24} = 20$

движения выражено более явно. Окончательный результат представлен на рис. 9, л, “маска” в центре соответствует области, в которой происходит агрегация. Для лучшего визуального эффекта результат совмещался с кадром  $I_{t+20}$  вместо кадра  $I_t$ . На рис. 9 м показано присутствующее на изображении простое движение.

При сравнении результатов анализа различных карт движения можно сделать вывод, что наиболее важной характеристикой для анализа агрегации объектов является коэффициент симметрии области для входящих пикселей  $IS_t$ . Большую роль играют интенсивность движения  $MI_t(r)$  и количество пикселей, входящих в область  $IRQ_t$ .

Результаты анализа рассеивания клеток показаны на рис. 10 (852×480, 30 кадр/с). По мере рассеивания клеток интенсивность движения внутри отдельной области уменьшается, поэтому для обнаружения дальнейшего рассеивания необходимо увеличить размер области и уменьшить пороговое значение для карты  $MI$ . Для анализа использована интерполированная траектория движения, интервал для вычисления интегрального оптического потока  $itv = 20$ , размер области  $101 \times 101$ . Пороговые значения  $t_{31} = 10$ ,  $t_{32} = 2$ ,  $t_{33} = 0.8$ ,  $t_{34} = 4$  для карт  $MI$ ,  $ORQ$ ,  $IOI$ ,  $OS$  соответственно.

На рис. 10, а и б показано движение моделей клеток по направлению от центра изображения для кадров  $I_t$  и  $I_{t+20}$ . Интегральный оптический поток на рис. 10, в — преобладающие направления движения. Центр рассеивания четко выражен на рис. 10, б, е, л и м. Окончательный результат показан на рис. 10, н, “маска” в центре соответствует области, в которой происходит рассеивание. На рис. 10, о показано простое движение объектов на изображении.

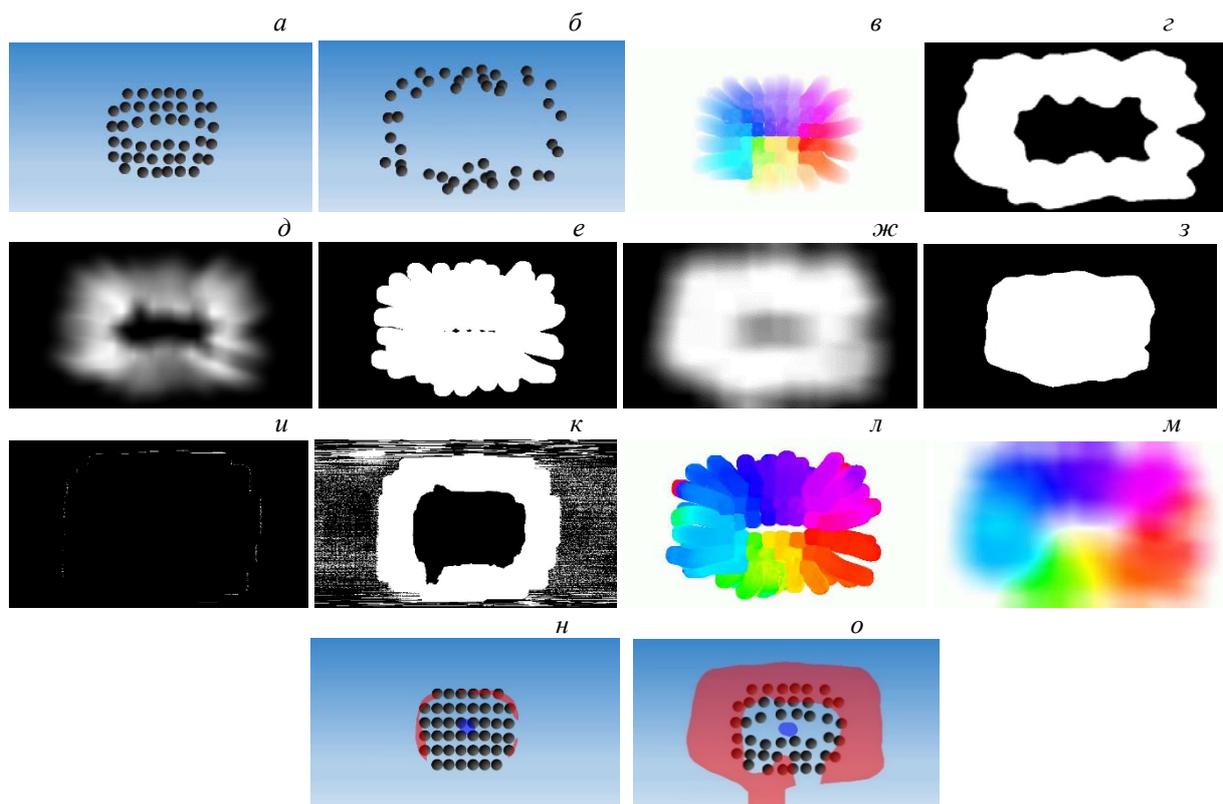


Рис. 10. Экспериментальные результаты идентификации рассеивания клеток: а — кадр  $I_t$ ; б — кадр  $I_{t+20}$ ; в — цветное изображение  $IOF_t^{20}$ ; з — полутоновое изображение  $MI_t$ ; д — результат сегментации  $MI_t$ ; е — полутоновое изображение  $OQ_t$ ; ж — полутоновое изображение  $ORQ_t$ ; з — результат сегментации  $ORQ_t$ ; и — полутоновое изображение  $IOI_t$ ; к — результат сегментации  $IOI_t$ ; л — цветное изображение  $OCM_t$ ; м — цветное изображение  $ROCM_t$ ; н — результат идентификации рассеивания  $I_t$  при  $t_{43} = 10$ ; о — результат идентификации рассеивания  $I_t$  при  $t_{43} = 2$

Результаты обработки реальных микроскопических видеопоследовательностей движущихся ячеек приведены ниже. Интегральный расчет оптического потока и сегментированная карта движения для простого движения ячейки показаны на рис. 11, *а, б*. Направление движения обозначено стрелкой на микроскопическом изображении и выделено на карте движения. Для более сложного типа движения накопленная информация анализируется и строятся карты движения. Эти карты позволяют определить области неинформированного роста населения, которые могут быть признаком патологических изменений в клеточной культуре (рис. 11, *в, г*).

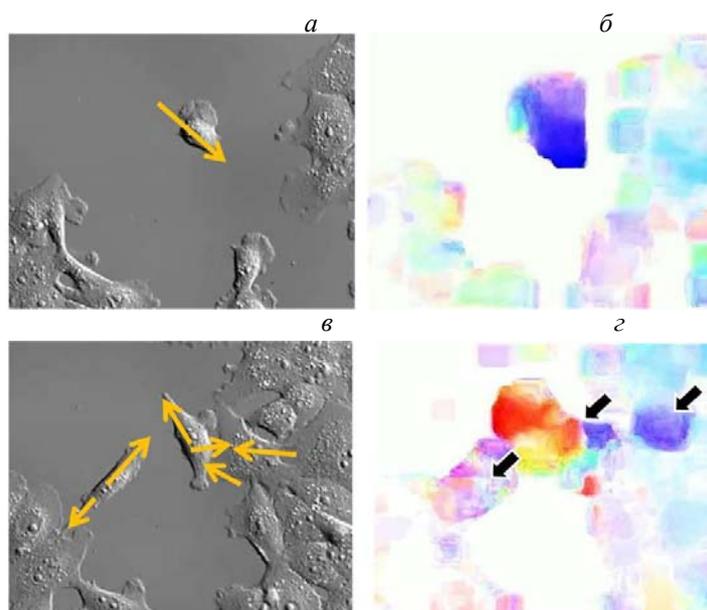


Рис. 11. Исходное изображение (*а, в*) и карта движения (*б, г*) для простого движения клеток (*а, б*) и карта его движения для равномерного роста клеточной популяции (*в, г*)

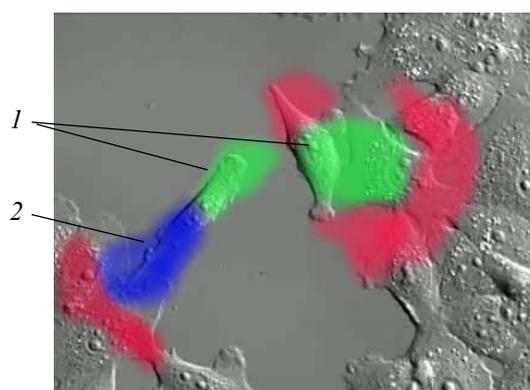


Рис. 12. Область определения агрегации клеток (*1*) и хаотического движения клеток (*2*)

Активные области движения ячеек определяются на основе пороговой сегментации локальных максимумов в картах движения. В результате области с движением клеток (отклонение роста) определяются во время мониторинга эволюции слоев клеток (рис. 12).

Для каждого типа движения на видео определена вероятность  $P$  совпадения с экспериментом:

$$P = \frac{\text{число событий, определяемых данным алгоритмом}}{\text{число событий, определяемых экспертом}} \times 100\%. \quad (4)$$

Результаты приведены в табл. 1.

**Т а б л и ц а 1. Результаты определения движения клеточных популяций с помощью предлагаемого алгоритма**

Тип видео-последовательности	Название	Вероятность идентификации, %		
		Направленное движение	Агрегация	Рассеивание
Реальная	Cell migration.mp4	100	—	—
	Cell migration2.mp4	100	75	80
	Nerve tissue.mp4	100	85	100
	Cell motion.mp4	100	100	100
	Muscle tissue.mp4	100	96	98
Тестовая	Simple motion.mp4	100	—	—
	Simple motion2.mp4	100	—	—
	Dispersion.mp4	100	—	100
	Disrersion2.mp4	100	—	100
	Aggregation.mp4	100	100	—
	Aggregation2.mp4	100	100	—

Примечание: “—” — отсутствие данных структур на видео.

**Заключение.** Мониторинг эволюции популяции клеток — сложная процедура. Для его реализации необходимо учитывать изменение формы отдельных клеток в популяции, что указывает на деление или разрушение клеток. Для изменения формы клеток можно использовать метод базового оптического потока. Помимо изменения формы отдельных клеток характеристики группового движения важны для пролиферативной активности и жизнеспособности клеточной культуры. Для определения этих характеристик можно использовать метод интегрального оптического потока.

Отличия предлагаемого метода от рассмотренных ранее заключается в следующем. Не выделяются и не анализируются отдельные клетки, что является достаточно затратным. Отметим две проблемы с работой этих алгоритмов — качество обнаружения клеток и избыточность информации. Так как исследуемые клетки живы и внутри них происходит много процессов, иногда границы клеток не контрастны, клетка не обнаруживается и пропускается во время отслеживания. Также не нужно определять изменения размеров, формы, скорости и яркости отдельных клеток. В отличие от методов сопоставления нескольких объектов на основе покадровой сегментации в предлагаемом методе отсутствует необходимость выполнять покадровую сегментацию, выделять и сопоставлять объекты или группы объектов. В отличие от ряда методов, использующих обучение, например нейронные сети, в нашем методе обучение не используется и его можно применять для мониторинга и анализа ситуации в качестве компонента комплексных систем анализа клеточных популяций.

Эффективность метода продемонстрирована и подтверждена экспериментальными результатами. Алгоритм позволяет улучшить скорость анализа и контроль качества культивируемой ткани. Алгоритм определения типа движения клеточной популяции может быть эффективно использован для анализа микроскопических видеопоследовательностей.

Работа выполнена при поддержке Программы прикладных исследований в области общественного благосостояния провинции Чжэцзян (LGF19F020016, LGJ18F020001) и Национальной программы иностранных экспертов высокого уровня (GDW20183300463), программы ГКНТ Республики Беларусь Ф20КИТГ-006.

- [1] K. A. Tatke, N. Desai. Proc. 4th Int. Conf. Innovations in Information, Embedded and Communication Systems, March 17—18, 2017 (2017) 1—7
- [2] S. Huh, S. Eom, E. Ker, L. Weiss, T. Kanade. Proc. 9th IEEE Int. Sympos. Biomedical Imaging, May 2—5, 2012 (2012) 390—393
- [3] C. A. O. Toro, C. G. Martín, A. G. Pedrero, A. R. Gonzalez, E. Menasalvas. Proc. 11th Int. Conf. Practical Applications of Computational Biology and Bioinformatics, June 21—23, 2017 (2017) 137—145
- [4] M. Saha, C. Chakraborty, D. Racoceanu. Comput. Med. Imaging and Graphics, **64** (2017) 29—40

- 
- [5] **A.-A. Liu, K. Li, T. Kanade.** Proc. IEEE Int. Sympos. Biomed. Imaging, April 14—17, 2010 (2010) 580—583
- [6] **M. Maška, O. Daněk, S. Garasa, A. Rouzaut, A. Muñoz-Barrutia.** IEEE Transact. Med. Imaging, **32**, N 6 (2013) 995—1006
- [7] **R. Nathiya, G. Sivaradje.** ARPN J. Engin. Appl. Sci., **10**, N 6 (2015) 2691—2696
- [8] **Y. Mao, Z. Yin.** Proc. 19th Int. Conf. Med. Image Computing and Computer-Assisted Intervention, October 17—21, 2016 (2016) 685—692
- [9] **W. Nie, H. Cheng, Y. Su.** IEEE Transact. Big Data, **3**, N 4 (2017) 458—469
- [10] **V. Kimbahune, N. Uke.** Int. J. Engin. Sci. Technol., **3**, N 3 (2011) 2448—2453
- [11] **A. Mosig, S. Jäger, C. Wang, S. Nath, I. Ersoy, K. Palaniappan, S. Chen.** Algorithms Mo. Biol., **4** (2009); <https://doi.org/10.1186/1748-7188-4-10>
- [12] **B. Solmaz, B. Moore, M. Shah.** IEEE Transact. Pattern Analys. Machine Intel., **34**, N 10 (2012) 2064—2070
- [13] **B. Horn, B. Schunck.** Determining Optical Flow, Artificial Intel., **17**, N 1-3 (1981) 185—203
- [14] **M. Tao, J. Bai, P. Kohli, S. Paris.** Comput. Graphics Forum, **31**, N 2 (2012) 345—353
- [15] **H. Chen, S. Ye, O. V. Недзведь, С. В. Абламейко.** Журн. прикл. спектр., **85**, № 1 (2018) 135—143 [H. Chen, S. Ye, O. Nedzvedz, S. Ablameyko. J. Appl. Spectr., **85**, N 1 (2018) 126—133]
- [16] **H. Chen, S. Ye, O. Nedzvedz, S. Ablameyko, Z. Bai.** Pattern Recognition and Image Analysis, **29**, N 1 (2019) 131—143