

INSTITUTO TECNOLÓGICO Y ESTUDIOS SUPERIORES DE MONTERREY  
CAMPUS CIUDAD DE MÉXICO



**Tecnológico  
de Monterrey**

Diseño de sistema robótico para el posicionamiento de modelos murinos basado en visión  
computacional

Actividad 3. Reporte escrito

Presentado por:

Ana Paula Ocampo Fragoso  
Víctor Manuel Sepúlveda Soto

Ingeniería biomédica

Socio Formador:  
Princeton Neuroscience Institute  
Maestro Misael Alejandro Sánchez Magos

Asesores:  
Dr. José Rubén Fuentes Álvarez  
Dr. Alejandro Morfin Santana

Ciudad de México, México, noviembre 2024

## ÍNDICE

Lista de figuras.....	3
CAPÍTULO 1 .....	4
Introducción .....	4
1.2 Planteamiento del problema.....	5
1.3 Justificación .....	6
1.4 Motivación .....	6
1.5 Pregunta de investigación.....	6
1.6 Hipótesis.....	6
1.7 Alcance del trabajo.....	7
1.8.1 Objetivos particulares .....	7
CAPÍTULO 2.....	8
2.1 Marco teórico .....	8
2.1.1 Cerebro y comportamiento murino.....	8
2.1.2 Patologías.....	8
2.1.3 Ética en el uso de modelos murinos .....	9
2.1.4 Tecnologías y métodos en neurociencia .....	9
2.1.5 Pupilometría y excitación .....	10
2.1.6 Robótica y automatización en investigación .....	10
2.1.7 Algoritmos de detección por visión computacional .....	12
2.1.8 Algoritmos de control.....	12
2.1.9 Desafíos y limitaciones.....	13
2.2 Estado del arte .....	13
2.2.1 Aprendizaje Profundo y Estimación de Postura sin Marcadores .....	14
2.2.2 Herramientas Avanzadas para el Seguimiento de Animales .....	14
2.2.3 Aplicaciones en Neurociencia y Comportamiento Animal .....	14
2.2.4 Innovaciones Tecnológicas y Futuras Direcciones .....	15
CAPÍTULO 3.....	16
3.1 BRAIN CoGS Mini VR Rigs .....	16
3.2 Metodología .....	16

3.2.1 Diseño y construcción del sistema.....	17
3.2.2 Integración de componentes mecánicos y electrónicos .....	19
3.2.3 Calibración de motores .....	20
3.2.4 Desarrollo de sistema de visión artificial .....	20
3.2.5 Calibración y pruebas de sistema de visión artificial .....	20
3.2.6 Conexión de sistema de visión artificial con motores .....	21
3.2.7 Evaluación del sistema .....	21
3.2.8 Pruebas iniciales .....	21
CAPÍTULO 4.....	24
4.1 Resultados y discusión .....	24
4.1.1 Estructura física .....	24
4.1.2 Software.....	24
Referencias.....	25
Anexos .....	29

## Lista de figuras

Figura 1: Generalidades del posicionamiento del modelo murino y ejemplo de un sujeto durante una prueba (Building a mini VR rig   BRAIN CoGS mini VR rigs, s/f) .....	5
Figura 2. Modelo de CAD de Sistema de entrenamiento propuesto por “The International Brain Laboratory”. .....	11
Figura 3. Sistema de Pupilometría propuesto por Privitera, M et. al. ....	12
Figura 4: Diagrama del sistema de motores en el sistema BRAIN CoGs Mini VR Rigs [6] .....	16
Figura 5: Diagrama de bloques del diseño experimental.....	17
Figura 6: Diseño ilustrativo del sistema en acción. ....	18
Figura 7. Modelo propuesta observado en SolidWorks.....	19
Figura 8. CNC Shield con drivers A4988 acoplados.....	19
Figura 9. Pantalla de ambas cámaras en funcionamiento con el modelo murino impreso en 3D. ....	21
Figura 10. Detección de Nariz y ojos en vista superior de fotografía.....	22
Figura 11. Detección del ojo en vista lateral de una cámara en el laboratorio de Princeton. ....	23
Figura 12. Vista de la Cámara superior en el laboratorio de Princeton. ....	23
Figura 13. Diagrama del posicionamiento ideal del modelo murino [6]. ....	29
Figura 14. Especificaciones del sistema con vista superior [6]. ....	29

# CAPÍTULO 1

## Introducción

En el ámbito de la neurociencia, uno de los mayores desafíos para los investigadores radica en la realización de pruebas, debido a las dificultades éticas y técnicas involucradas. Una de las estrategias más comunes para avanzar en el conocimiento de las funciones cerebrales y sus trastornos es el uso de modelos animales, seleccionados por su alta similitud con el sistema nervioso humano. Entre los modelos más empleados se encuentran las ratas y ratones, los cuales representan aproximadamente el 39% de las investigaciones publicadas sobre el sistema nervioso de mamíferos [1].

Si bien los modelos murinos presentan ciertas limitaciones cuando se intenta trasladar los resultados a tratamientos en humanos, han sido fundamentales para profundizar en el funcionamiento del cerebro. Estos modelos son de gran utilidad en la investigación neuropsiquiátrica debido a su capacidad de replicar síntomas de trastornos humanos, como el síndrome de Korsakoff. Además, su rápida reproducción y los menores costos de infraestructura en comparación con otros modelos los hacen viables para estudios extensivos [1]. Gracias a su uso generalizado, se han desarrollado diversas herramientas especializadas para estudiar en profundidad el cerebro de los ratones y ratas, permitiendo abordar síntomas y comportamientos similares a los de algunas enfermedades neurológicas humanas [2].

Entre los métodos de investigación más innovadores se encuentran la pupilometría, utilizada para estimar los niveles de excitación en distintos estados del ratón [3], y la microscopía de dos fotones, que permite observar señales bioquímicas en el cerebro. No obstante, una dificultad significativa es aplicar estos métodos en animales despiertos y en movimiento [4]. Para enfrentar este reto, se han propuesto soluciones que buscan estandarizar los estudios neurobiológicos en animales activos. Un ejemplo notable es el trabajo del International Brain Laboratory en 2021, que presenta una prueba estandarizada para evaluar la toma de decisiones en ratones, logrando obtener resultados reproducibles en diferentes laboratorios.

Actualmente, en el laboratorio de la Universidad de Princeton, se implementa un sistema de estudio neurobiológico en roedores. Este sistema muestra diferentes tareas a los modelos murinos a través de una pantalla colocada frente a ellos, en la cual deben realizar tareas específicas, la colocación del modelo murino para este sistema se aprecia en la Figura 1.

Al resolver estas tareas correctamente, los modelos reciben recompensas, lo que permite estudiar procesos cognitivos y de toma de decisiones en un ambiente controlado y con estímulos programados.

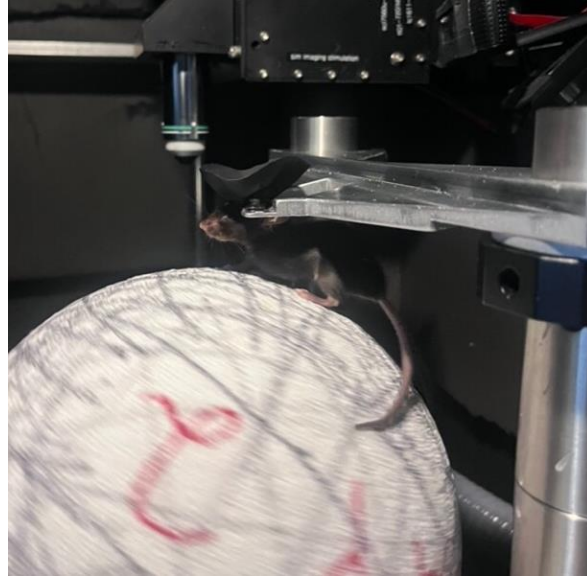
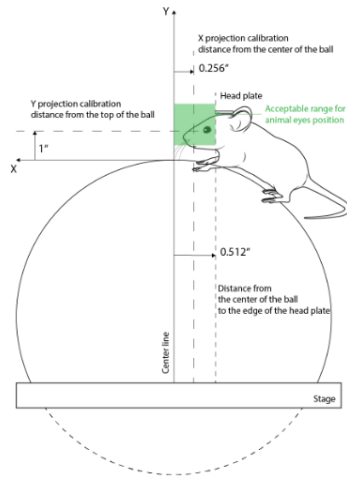


Figura 1: Generalidades del posicionamiento del modelo murino y ejemplo de un sujeto durante una prueba (Building a mini VR rig | BRAIN CoGS mini VR rigs, s/f)

El presente documento muestra los objetivos y el proceso mediante los cuales se pretende lograr el posicionamiento de una placa craneal para modelos murinos mediante un sistema de motores lineales y de imagen en un sistema cartesiano. Para esto se destaca la implementación de un sistema de visión computacional el cual proporciona imágenes desde la vista superior de los modelos, así como de la vista lateral. Estas actúan como referencia para proporcionar las coordenadas que serán enviadas a los motores con los actuadores lineales que permiten el posicionamiento del sistema.

## 1.2 Planteamiento del problema

El posicionamiento de los modelos murinos en experimentos científicos es un proceso que requiere de largos periodos de trabajo y un número limitado de técnicos capacitados. Aunque se han implementado mejoras para facilitar y acelerar el posicionamiento, el proceso sigue siendo propenso a inexactitudes que afectan los resultados experimentales y la curva de aprendizaje de los ratones. Estas imprecisiones pueden influir negativamente en el rendimiento de los experimentos, debido a la variabilidad en el posicionamiento de los animales.

La automatización de este proceso mediante un sistema de visión artificial tiene el potencial de reducir los costos, el tiempo y los errores en la colocación, mejorando la precisión y la reproducibilidad de los resultados. Esto es especialmente relevante para estudios que requieren posiciones exactas y consistentes de los sujetos de experimentación.

### 1.3 Justificación

El uso de ratones para modelar enfermedades y respuestas neurológicas del cerebro muestran un gran número de ventajas, dando resultados fundamentales para la investigación biomédica [5]. El proceso de la colocación de los ratones es realizado durante extensos periodos de trabajo, por un número limitado de técnicos. Aunque anteriormente ya se han hecho mejoras en la facilidad y velocidad en las que se pueden realizar el posicionamiento en el modelo, este sigue siendo extenso y propenso a tener inexactitudes [6]. Esto se ve reflejado en los resultados y la curva de aprendizaje de los ratones.

Es por esto, que se propone el uso de un sistema de visión artificial el cual permite realizar ajustes precisos en tiempo real basados en la detección y el seguimiento de puntos de referencia anatómicos del ratón, mejorando la exactitud y la consistencia de la colocación. Este nivel de precisión reduce la variabilidad entre experimentos, lo cual es crucial en estudios que requieren alta reproducibilidad de los resultados para garantizar que las diferencias observadas se deban a la intervención experimental y no a errores de posicionamiento.

Para el correcto funcionamiento del sistema es necesaria la presencia de un sistema cartesiano XYZ se propone debido a su capacidad para realizar movimientos precisos y controlados en tres ejes, adaptándose fácilmente a entornos experimentales. Esto asegura que los ratones sean posicionados de manera reproducible en cada sesión experimental, integrándose de manera efectiva con el sistema BRAIN CoGS mini VR rigs.

### 1.4 Motivación

Facilitar y reducir errores en el entrenamiento de modelos murinos permite un avance con menos demoras en las investigaciones neurocientíficas, además de proporcionar datos con menores sesgos en las pruebas. Estas investigaciones permiten el entendimiento de diversas áreas del cerebro que muchas veces tienen una alta complejidad para ser estudiadas. Por lo tanto, generar una solución tecnológica que homologue los estudios reduciría las variaciones en los entrenamientos.

### 1.5 Pregunta de investigación

¿Se puede realizar un posicionamiento de una placa craneal en modelos murinos en un entorno cartesiano (X, Y, Z) utilizando un sistema de motores lineales y de imagen dentro de parámetros establecidos?

### 1.6 Hipótesis

Automatizar el posicionamiento de las recompensas en pruebas murinas, se traduciría en la reducción del tiempo necesario para la preparación de los experimentos. Requiriendo únicamente una revisión de la configuración de la prueba; esto se traduciría en la reducción de

errores y la disminución de factores adversos que interfieran con su aprendizaje. Representando un beneficio en diversas investigaciones.

### 1.7 Alcance del trabajo

Este trabajo busca cumplir con un modelo físico del sistema robótico de un sistema de motores a pasos junto con un sistema de control que permita:

- Identificar la posición actual de la placa craneal para modelos murinos.
- Obtener el movimiento adecuado para colocarla en la posición deseada
- Implementar crear un sistema de control que adecue el movimiento de los motores para llegar a la posición deseada.
- Desarrollar un sistema simple mecánico que lleve a cabo este proceso.

### 1.8 Objetivos

Diseñar y construir un sistema robótico automatizado para el posicionamiento de modelos murinos, basado en la estimación de su posición mediante un sistema computacional de adquisición de imágenes, implementando un esquema de control en un entorno físico.

#### 1.8.1 Objetivos particulares

- Construir un prototipo robótico y su gemelo virtual basado en un sistema de mini equipos de entrenamiento de realidad virtual con cámaras para adquisición de imagen.
- Seleccionar e implementar algoritmo de procesamiento de imágenes para determinar el posicionamiento del roedor.
- Implementar el sistema de control considerando el posicionamiento del roedor.
- Evaluar el sistema de control propuesto en el sistema físico.

## CAPÍTULO 2

### 2.1 Marco teórico

#### 2.1.1 Cerebro y comportamiento murino

El uso de modelos murinos en estudios neurobiológicos ha ganado terreno no solo por la facilidad con que se manipulan y los menores costos que representan para los laboratorios, sino también debido a las sorprendentes similitudes que presentan con la neuroanatomía humana. En particular, el ratón cuenta con una arquitectura neural compleja, donde estructuras clave como la corteza cerebral, el hipocampo y el locus coeruleus desempeñan funciones cruciales. La corteza prefrontal, por ejemplo, es esencial para las funciones ejecutivas, facilitando procesos cognitivos avanzados como la toma de decisiones y el control inhibitorio [1, 5]. Estas similitudes permiten que los ratones se utilicen como modelos valiosos para entender procesos neurobiológicos en humanos.

Un aspecto destacado de la investigación en modelos murinos es el estudio de la actividad neural durante tareas de toma de decisiones, pues se ha demostrado que las neuronas en su corteza prefrontal mantienen patrones de actividad consistentes durante tareas de toma de decisiones espaciales a lo largo de varios días, lo que sugiere una estabilidad en los códigos neuronales involucrados en la toma de decisiones espaciales [7]. Esta estabilidad refleja la capacidad de los modelos para consolidar patrones de comportamiento ante desafíos cognitivos, lo que refuerza su utilidad en diversos estudios.

Además de la corteza prefrontal, el hipocampo también juega un rol fundamental en la cognición espacial, particularmente en la formación y recuperación de memorias. Siendo esto crucial para el aprendizaje contextual [8]. De igual manera el locus coeruleus, como principal fuente de norepinefrina, regula la atención y la respuesta al estrés, afectando la excitabilidad neuronal en varias regiones cerebrales, lo que impacta directamente en el procesamiento cognitivo y emocional [7].

Estos hallazgos subrayan la versatilidad de los ratones como modelos experimentales, donde no solo permiten explorar los mecanismos neurobiológicos subyacentes a comportamientos complejos como lo puede ser el enfrentamiento a tareas de alta utilidad, situación que ha demostrado como la interacción entre la excitación y la demanda cognitiva puede influir en el desempeño de los ratones en tareas específicas, sino que también abre la puerta a una comprensión más profunda de los mecanismos que intervienen en los procesos cognitivos tanto de los roedores como de los humanos.

#### 2.1.2 Patologías

Si bien el análisis del comportamiento de estos modelos ha beneficiado enormemente a la neurociencia, el uso de ratones transgénicos también ha evolucionado el estudio de enfermedades



complejas. En oncología, estos han permitido identificar y caracterizar oncogenes y genes supresores de tumores, profundizando así en los mecanismos moleculares del cáncer [9] permitiendo así el desarrollo de terapias más eficaces y específicas. La capacidad de manipular genéticamente ratones para inducir tumores similares a los humanos ha proporcionado un valioso sistema para la investigación de la progresión tumoral y la evaluación de nuevos tratamientos [10].

En el ámbito de las enfermedades neurodegenerativas, modelos de Alzheimer y Parkinson han facilitado la comprensión de la acumulación de proteínas aberrantes y la neurodegeneración progresiva [9], facilitando a los investigadores examinar las vías patológicas y los mecanismos subyacentes, incluyendo la acumulación de proteínas tau y beta-amiloides en el cerebro, que son esenciales para la investigación de posibles intervenciones terapéuticas [11]. Además, la utilización de ratones transgénicos que replican características de estas enfermedades facilita la evaluación de tratamientos potenciales y su eficacia [12].

### 2.1.3 Ética en el uso de modelos murinos

La investigación neurobiológica a menudo se enfoca en la prevención y el tratamiento de enfermedades psiquiátricas y neurológicas, que afectan gravemente la calidad de vida. Existe un consenso general de que el sufrimiento humano relacionado con estas condiciones debe reducirse en la medida de lo posible [13]. Sin embargo, el uso de modelos animales también implica desafíos éticos que requieren supervisión a través de leyes, normativas y comités de ética para monitorear el uso y cuidado de los animales de laboratorio, basándose en los principios de las 3Rs (reemplazo, reducción y refinamiento) [14].

Los modelos animales proporcionan información valiosa sobre la naturaleza de las enfermedades. No obstante, es importante recordar que existen limitaciones inter-especies en términos de anatomía, metabolismo, fisiología y genética [10]. Van der Worp et al. (2010) discutieron las limitaciones de los modelos murinos como predictores de respuestas humanas, enfatizando la necesidad de considerar estas diferencias al interpretar los resultados [15]. Actualmente, muchos de los animales utilizados en estudios biomédicos experimentan modificaciones genéticas, como la transgénesis o la utilización de genes knockout o knockin, para visualizar cambios específicos que, de otro modo, llevarían años en desarrollarse bajo condiciones normales [10, 16]. Por lo tanto, la selección de animales depende del campo de investigación específico, y a través de su uso, los investigadores desarrollan conocimientos científicos centrados en la medicina humana y veterinaria.

### 2.1.4 Tecnologías y métodos en neurociencia

Partiendo de la premisa del rol fundamental de estos modelos para el desarrollo de nuevas terapias es esencial diseñar sistemas experimentales que permitan estudiar el comportamiento de estos en condiciones naturales bajo un entorno controlado, esto ha generado técnicas de monitoreo

neuronal, como la electroencefalografía (EEG) y la resonancia magnética funcional (fMRI), las cuales son fundamentales en la neurociencia contemporánea. Estas metodologías permiten observar la actividad cerebral en tiempo real, correlacionando esta actividad con fenómenos comportamentales y cognitivos [17]. En el 2007 Dombeck et al. desarrollaron técnicas de imagen para registrar actividad neuronal a gran escala con resolución celular en ratones despiertos y móviles, lo que ha facilitado la comprensión de los correlatos neuronales de la conducta [4].

El procesamiento de imágenes y la visión computacional son herramientas críticas en el análisis del comportamiento murino. En 2016 Powell y Redish demostraron que los códigos neuronales complejos en la corteza prelámbica de la rata son estables a lo largo de días en una tarea de decisión espacial, lo que subraya la importancia de técnicas avanzadas para el seguimiento preciso de la actividad neuronal [7]. La integración de estas tecnologías en estudios neurocientíficos permite un análisis más detallado y reproducible de los datos experimentales, apoyando la validación de hipótesis y la exploración de nuevas preguntas de investigación.

#### 2.1.5 Pupilometría y excitación

Con la intención de ofrecer un enfoque robusto de la evaluación del estado emocional de los animales en entornos experimentales, la pupilometría se ha consolidado como una herramienta valiosa para evaluar cambios en el diámetro pupilar, lo que se correlaciona directamente con la actividad del locus coeruleus. Estudios han demostrado que el diámetro pupilar actúa como un biomarcador de excitación y atención en roedores, permitiendo inferir estados emocionales y niveles de alerta de manera no invasiva [8, 18]. Esta técnica proporciona una medida objetiva de la activación del sistema nervioso simpático durante la realización de tareas cognitivas [10].

Algunas investigaciones también dan resultados relevantes en el estudio de desórdenes psiquiátricos. Un estudio acerca de la estabilización de la excitación y como esta mejora la atención sostenida, muestra como sistemas neuromoduladores como la norepinefrina, dopamina y serotonina tienen un impacto en la excitación de la pupila (estudiada mediante pupilometría en ratones). Los resultados se relacionan con la atención sostenida de los sujetos y sugieren que las estructuras: corteza orbitofrontal y la corteza cingulada dorsal realizan cálculos relacionados con el comportamiento. Ambas están fuertemente relacionadas con el núcleo neuromodulador. Una función deteriorada de la regulación frontal de la excitación siendo una característica encontrada en trastornos como TDAH y el autismo [3].

#### 2.1.6 Robótica y automatización en investigación

La robótica y la automatización desempeñan un papel cada vez más crucial en la investigación biomédica. Sistemas estandarizados de entrenamiento, que incluyen componentes como volantes de dirección para la toma de decisiones y sistemas de recompensa, han demostrado ser eficaces para estudiar el comportamiento murino en entornos controlados [19]. The International Brain Laboratory et al. (2021) desarrollaron una medición estandarizada y

reproducibile de la toma de decisiones en ratones, lo que facilita la evaluación de la interacción de los roedores con diferentes estímulos y tareas [2].

Los sistemas de pupilometría estandarizados, que incluyen módulos de cámara y equipos especializados, permiten un monitoreo detallado de la actividad neuronal y el comportamiento. La implementación de iluminación infrarroja y estímulos LED proporciona un entorno controlado para las pruebas, garantizando que los datos obtenidos sean representativos de las respuestas de los roedores en situaciones específicas. La automatización de estos sistemas no solo mejora la eficiencia de la recolección de datos, sino que también minimiza el sesgo humano y mejora la reproducibilidad de los resultados [8].

En las Figuras 2 y 3 observamos los modelos de sistemas propuestos en estudios anteriores, en la Figura 2 el sistema de entrenamiento consiste en las adaptaciones de un volante de dirección para toma de decisiones, actuando en conjunto con pantalla con el despliegue de las tareas y un sistema de recompensa. Mientras que en la Figura 3 se presenta un sistema de pupilometría compuesto por un módulo de cámara Raspberry PI, un equipo de cirugía estereotáxica, con la implementación de pantalla táctil, así como una luz infrarroja para iluminación y luz led como estímulo.

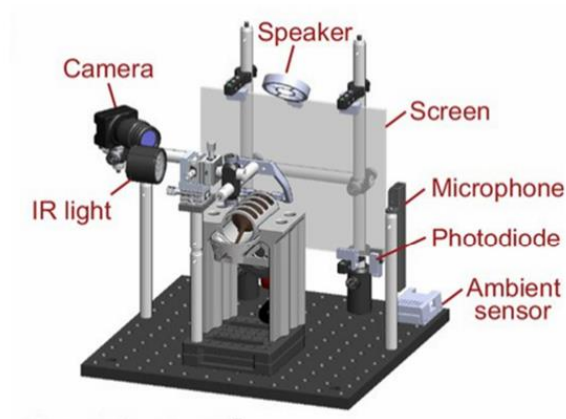


Figura 2. Modelo de CAD de Sistema de entrenamiento propuesto por “The International Brain Laboratory”.

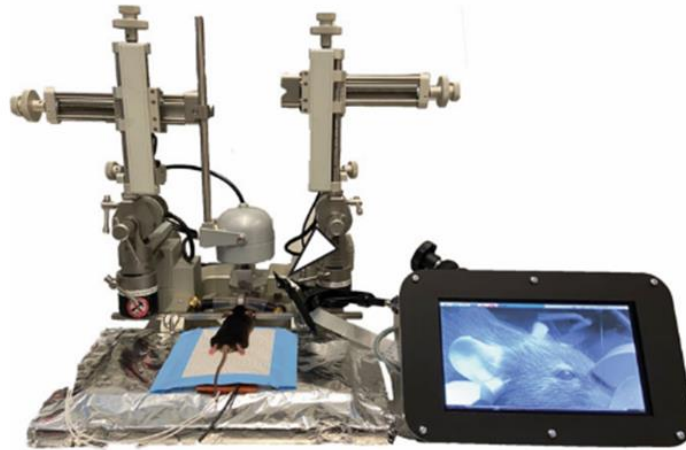


Figura 3. Sistema de Pupilometría propuesto por Privitera, M et. al.

#### 2.1.7 Algoritmos de detección por visión computacional

Dentro del funcionamiento de los avances en robótica mencionados anteriormente, los algoritmos de aprendizaje profundo, los cuales permiten una identificación precisa de objetos en imágenes y secuencias de video han sido un desarrollo fundamental para la correcta operación de estos sistemas. Entre estos algoritmos, el sistema YOLO (You Only Look Once) se ha destacado por su capacidad para realizar detecciones en tiempo real, lo que lo hace ideal para aplicaciones en robótica y vigilancia [20]. Las versiones recientes, como YOLOv8, han mejorado la velocidad y precisión en comparación con modelos anteriores [21].

Otro enfoque relevante es el de R-CNN (Region-based Convolutional Neural Networks) y sus variantes, que utilizan redes neuronales para clasificar y refinar propuestas de regiones en imágenes, logrando altas tasas de precisión [22]. También, el Single Shot MultiBox Detector (SSD) y Mask R-CNN han demostrado ser efectivos, combinando velocidad y precisión, y extendiendo las capacidades hacia la segmentación de instancias, respectivamente [23]. Estas innovaciones han ampliado las aplicaciones de la visión computacional en la investigación biomédica, permitiendo un análisis más detallado de modelos animales y su comportamiento en entornos experimentales.

#### 2.1.8 Algoritmos de control

Los algoritmos de control son fundamentales para el funcionamiento efectivo de los sistemas robóticos, especialmente en la navegación y manipulación de objetos. Existen enfoques clásicos, como el control proporcional-integral-derivativo (PID), que han sido ampliamente utilizados debido a su simplicidad y efectividad en sistemas de control lineales. Sin embargo, con los avances en tecnología, se han desarrollado métodos más complejos que incorporan técnicas de aprendizaje profundo y planificación basada en modelos. Por ejemplo, un artículo reciente revisa

diversos algoritmos de control utilizados en robótica móvil, enfatizando la combinación de control clásico y técnicas modernas para abordar desafíos en entornos dinámicos [24].

Además, la implementación de algoritmos de control en arquitecturas de hardware como los Field-Programmable Gate Arrays (FPGAs) ha demostrado mejorar el rendimiento de los robots al permitir procesamiento de alta velocidad y computación paralela [25]. Estas innovaciones son cruciales para el desarrollo de robots autónomos que pueden adaptarse a diversas tareas en tiempo real, como la navegación y el evitamiento de obstáculos.

#### 2.1.9 Desafíos y limitaciones

Los fracasos en los modelos murinos para predecir la toxicidad humana pueden atribuirse a múltiples factores, siendo el más obvio las diferencias bioquímicas y fisiológicas inherentes entre ratones y humanos. Knight (2007) abordó este tema al analizar los modelos murinos como predictores de respuestas humanas, señalando las limitaciones y consideraciones necesarias [26]. Es importante reconocer que los ratones y los humanos han evolucionado para adaptarse a nichos ecológicos muy diferentes, y las ventajas de los modelos murinos, en términos de homogeneidad genética y estado de salud, así como un ambiente controlado y dieta específica, pueden limitar su capacidad para predecir efectos en humanos, que presentan diferencias incontrolables en edad, estado de salud, medicamentos, composición genética, dieta y condiciones de vida [18, 15]

Existen varias explicaciones para el fracaso de los modelos murinos en predecir la toxicidad humana. La más obvia es que está relacionada con las diferencias bioquímicas y fisiológicas inherentes entre ratones y humanos. En este contexto, es importante darse cuenta de que no solo los ratones y los humanos han evolucionado para adaptarse a nichos ecológicos muy diferentes, sino también que las ventajas de los modelos murinos, en términos de homogeneidad genética y estado de salud, así como un ambiente y dieta bien controlados, pueden limitar su capacidad para predecir efectos en humanos, quienes presentan diferencias incontrolables en edad, estado de salud, medicamentos, composición genética, dieta y condiciones de vida [8, 27].

*“El ratón y la rata pueden no siempre permitir los resultados deseados en la investigación en neurociencia, aunque ciertamente han ampliado nuestra comprensión del cerebro”* (Żakowski, 2020). Esto resalta la necesidad de considerar las limitaciones de los modelos animales y buscar métodos complementarios que puedan mejorar la traducción de los hallazgos preclínicos a aplicaciones clínicas efectivas.

#### 2.2 Estado del arte

En los últimos años, se han logrado avances significativos en el desarrollo de sistemas para la detección y seguimiento de partes anatómicas en modelos murinos, impulsados por técnicas de visión computacional y aprendizaje profundo. Estos sistemas han permitido un análisis detallado

y no invasivo del comportamiento y la fisiología de los animales, facilitando estudios en neurociencia, biología del comportamiento y otras disciplinas relacionadas.

### 2.2.1 Aprendizaje Profundo y Estimación de Postura sin Marcadores

Uno de los avances más notables es el desarrollo de DeepLabCut, presentado por Mathis et al. (2018). Esta herramienta de código abierto utiliza redes neuronales convolucionales para estimar la postura de animales sin necesidad de marcadores físicos, permitiendo a los investigadores entrenar modelos personalizados para detectar puntos clave en el cuerpo de los animales, como articulaciones y extremidades, a partir de videos estándar [28].

Simultáneamente, LEAP (LEAP Estimates Animal Pose), desarrollado por Pereira et al. (2019), es otro sistema que aprovecha el aprendizaje profundo para la estimación rápida y precisa de la postura en animales, destacándose por su facilidad de uso y capacidad para manejar grandes conjuntos de datos [29]. Estos avances han facilitado estudios detallados del comportamiento en modelos murinos.

### 2.2.2 Herramientas Avanzadas para el Seguimiento de Animales

La necesidad de herramientas eficientes llevó al desarrollo de DeepPoseKit por Graving et al. (2019). Este conjunto de herramientas combina modelos de aprendizaje profundo con técnicas de visión por computadora para facilitar la estimación de postura en animales con alta precisión y velocidad [30].

Además, la integración de estas herramientas con sistemas de posicionamiento ha permitido el seguimiento en tiempo real de animales en entornos experimentales controlados. Estos sistemas pueden rastrear múltiples partes del cuerpo simultáneamente y adaptarse a diferentes condiciones de iluminación, mejorando la calidad de los datos recopilados.

### 2.2.3 Aplicaciones en Neurociencia y Comportamiento Animal

La combinación de técnicas de visión computacional y sistemas de posicionamiento ha facilitado estudios avanzados en neurociencia. Por ejemplo, el artículo "Task-Dependent Changes in the Large-Scale Dynamics and Necessity of Cortical Regions" muestra cómo la actividad cortical varía según las tareas realizadas, incluyendo aquellas en entornos de realidad virtual, revelando que solo algunas áreas corticales son esenciales para la ejecución de tareas específicas y que su actividad depende del contexto [31].

Además, en 2023 Guo et al. describen un sistema que utiliza visión estereoscópica para estimar la pose de ratas en tiempo real, mejorando la interacción entre robots y ratas para la investigación [22].

#### 2.2.4 Innovaciones Tecnológicas y Futuras Direcciones

Los avances tecnológicos en hardware y software han impulsado el desarrollo de sistemas más eficientes y precisos:

- Optimización de Modelos: La mejora de arquitecturas de redes neuronales ha permitido aumentar la precisión en la detección y reducir los tiempos de procesamiento.
- Integración Multimodal: La combinación de visión computacional con otras modalidades, como sensores de movimiento y registro neuronal, ofrece una visión más completa del comportamiento animal.
- Entornos de Realidad Virtual y Aumentada: Se están explorando sistemas que permiten estudiar el comportamiento animal en entornos virtuales controlados, lo que abre nuevas posibilidades para investigaciones en neurociencia y psicología.

## CAPÍTULO 3

### 3.1 BRAIN CoGS Mini VR Rigs

El sistema “Brain Research through Advancing Innovative Neurotechnologies - Collaborative Organizations for Genomic and Sensing) mini virtual reality (VR) rigs” es utilizado para estudiar el comportamiento de ratones en un ambiente controlado con tareas programadas. En este, el sujeto experimenta un entorno inmersivo mediante un dispositivo que permite caminar sobre una esfera, lo que facilita el seguimiento de la locomoción. Una pantalla panorámica cubre todo el campo de visión del sujeto y se sincroniza con sus movimientos, creando un entorno visual dinámico. Además, el sistema integra un mecanismo de recompensa frente al ratón y una cámara que registra datos de pupilometría [6].

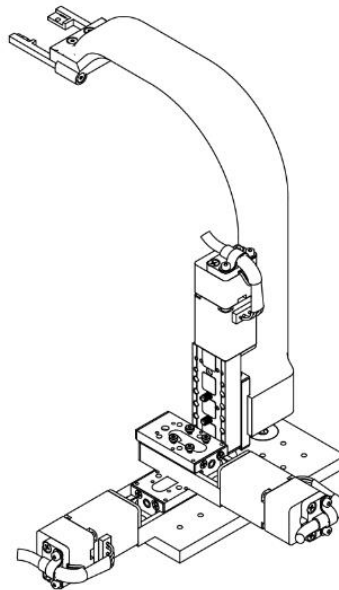


Figura 4: Diagrama del sistema de motores en el sistema BRAIN CoGs Mini VR Rigs [6]

### 3.2 Metodología

El sistema descrito en la sección anterior es el modelo de referencia sobre el cual se modela el sistema propuesto en este proyecto. La metodología para su realización se organizó en diferentes etapas, desde el diseño inicial del sistema hasta su evaluación en condiciones experimentales, asegurando una construcción y calibración que permitieran su funcionamiento preciso y reproducible. El proceso de diseño experimental mostrado en la Figura 5 ilustra los pasos que fueron considerados.



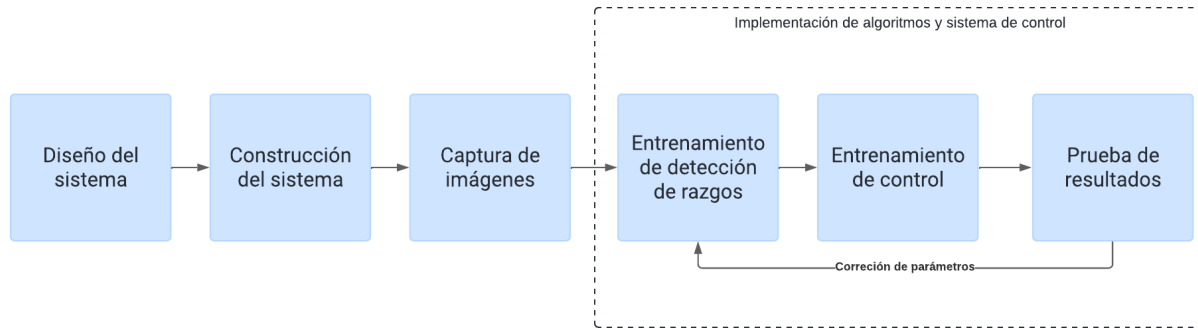


Figura 5: Diagrama de bloques del diseño experimental

### 3.2.1 Diseño y construcción del sistema

La primera fase consistió en la planificación y diseño preliminar del sistema robótico, definiendo los componentes y especificaciones técnicas. Para eso se consideraron los siguientes materiales:

#### Estructura:

- Perfiles de aluminio
- Placas de aluminio de unión
- Tornillos tipo socket
- Tuercas

#### Sistema de control e imagen:

- 2 cámaras webcam C920X
- 3 motores de etapa lineal de 100 mm de longitud
- Modelo de referencia del sistema de recompensa impreso en 3D
- Microcontroladores Sparkfun Redboard

#### Referencias físicas

- Brazo de sistema de sujeción de placa craneal impreso en 3D
- Modelo Dummy de roedor impreso en 3D
- Bola de unicel 8''

#### Alimentación

- Fuente de voltaje 12 V

En la Figura 6 se presenta un diseño ilustrativo del sistema, basado en el BRAIN CoGS Mini VR Rigs, que incluye los componentes clave como los tres motores lineales, un brazo impreso

en 3D, y las cámaras de la vista lateral y de vista superior para capturar los rasgos anatómicos del ratón. Este diseño también cuenta con una referencia visual del sistema de recompensa para simplificar la visualización durante las pruebas.

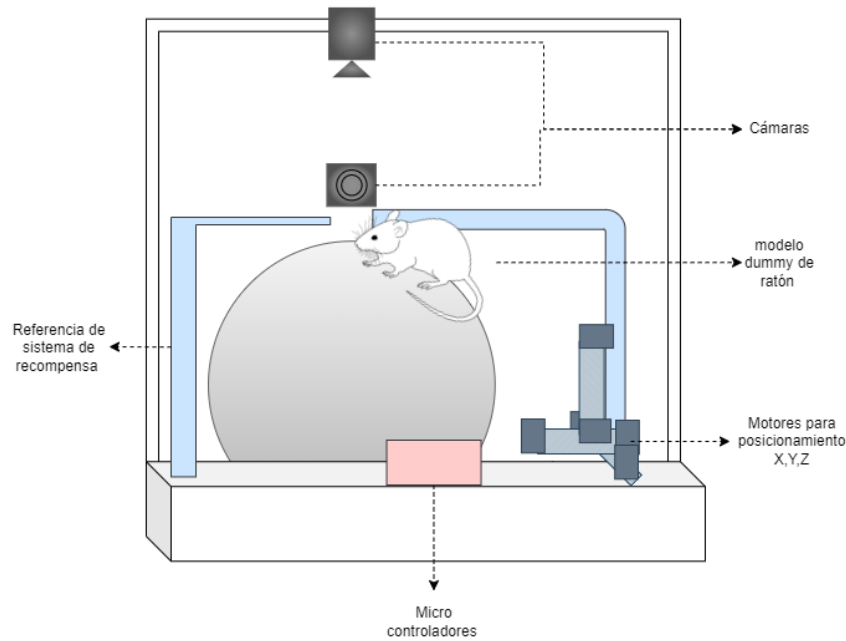


Figura 6: Diseño ilustrativo del sistema en acción.

Utilizando el diseño propuesto en la Figura 7 como referencia, se diseñó un modelo tridimensional en SolidWorks para visualizar la estructura completa. Una vez realizado esto se comenzó la construcción del modelo, para lo cual fue necesario adaptar los perfiles de aluminio a las medidas establecidas.

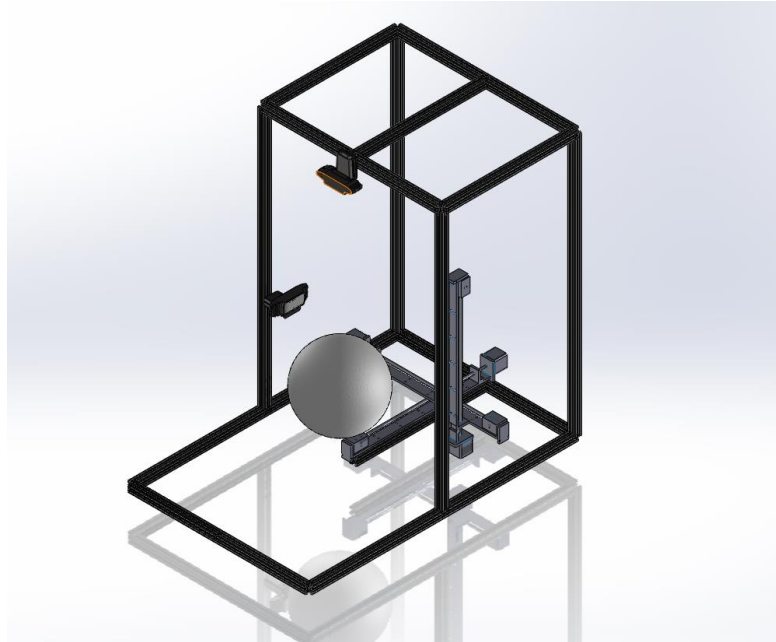


Figura 7. Modelo propuesta observado en SolidWorks.

### 3.2.2 Integración de componentes mecánicos y electrónicos

Para el funcionamiento del sistema, se emplearon tres motores a pasos, cada uno conectado a un actuador lineal en los ejes cartesianos X, Y y Z. Estos motores están controlados por drivers A4988 y un CNC Shield compatible con Arduino (usando los microcontroladores Redboard en este proyecto). La Figura 7 muestra el CNC Shield con los drivers A4988 acoplados.

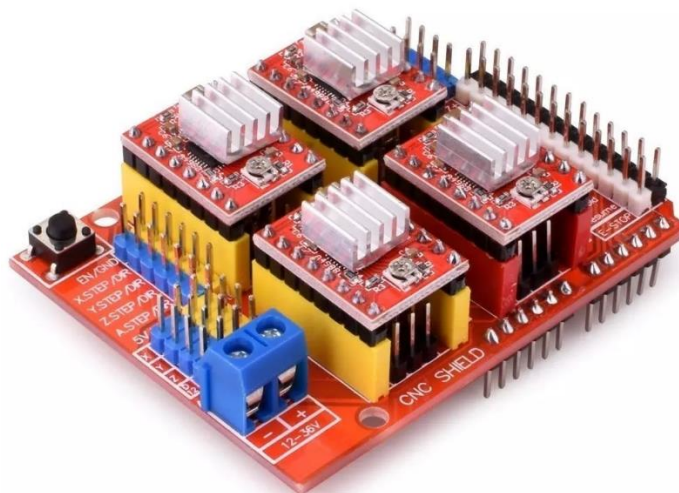


Figura 8. CNC Shield con drivers A4988 acoplados.

Los drivers A4988 requieren ajustes mediante potenciómetros, los cuales fueron calibrados para asegurar el suministro de corriente adecuado a los motores. Una vez acoplados los drivers, se instaló el software Universal G-Code Sender para establecer la conexión con los motores y comprobar que el cableado correspondiera a las bobinas de los motores NEMA-17, asegurando el funcionamiento correcto. Los motores fueron montados con acoples impresos en 3D (en Nylon 12), y se colocaron de manera que sus entradas de señal estén lo más cerca posible de los drivers, minimizando el riesgo de desconexiones.

### 3.2.3 Calibración de motores

La calibración de los motores se realizó utilizando dos métodos: el software Universal G-Code Sender y MATLAB. En Universal G-Code Sender, se configuraron los parámetros de paso y límite de los motores para optimizar la precisión en el desplazamiento de los actuadores lineales. Posteriormente, en MATLAB, se programaron scripts que permitieron realizar ajustes finos en las posiciones, garantizando que los motores respondieran con precisión a las instrucciones de posicionamiento deseadas.

### 3.2.4 Desarrollo de sistema de visión artificial

El sistema de visión artificial fue diseñado para capturar y analizar imágenes del ratón en tiempo real, utilizando dos cámaras: una en vista superior y otra en vista lateral. La cámara superior detecta la posición de rasgos visibles del modelo, como la nariz y el hocico, mientras que la cámara lateral se centra en identificar el ojo del ratón.

El procesamiento de imágenes requerirá de las cámaras previamente mencionadas en actuación conjunta con el software seleccionado, de manera que se considera lo siguiente:

- Software de procesamiento:
  - MATLAB: detección de rasgos en imagen con vista lateral y detección de rasgos en imagen de vista superior
  - Acoplamiento de algoritmo seleccionado para los actuadores lineales.

Estos algoritmos se integrarán con el sistema de control, lo cual permite que, una vez identificada la posición de los rasgos deseados, el sistema ajuste automáticamente la posición del ratón en el entorno experimental.

### 3.2.5 Calibración y pruebas de sistema de visión artificial

Una vez que se lograron detectar las formas deseadas en las imágenes capturadas, el sistema de visión artificial se integró con los motores para permitir la conversión de la posición actual del ratón a la posición ideal. Las coordenadas obtenidas del análisis de imágenes se envían como señales a los motores lineales, permitiendo que el sistema mantenga la ubicación del modelo en el punto especificado y garantizando precisión en el posicionamiento.

### 3.2.6 Conexión de sistema de visión artificial con motores

El sistema de detección de imagen se conecta a través de un Arduino “Red Board” a drivers A4988, los cuales finalmente entregan las instrucciones correspondientes a cada motor. Para poder dar las indicaciones adecuadas, primero se realizó una calibración donde se convierte el tamaño de cada pixel a un valor real del sistema métrico, con esto después se puede realizar el cálculo del movimiento que deben realizar motor por motor para llegar a la posición deseada.

### 3.2.7 Evaluación del sistema

Con la posición actual y la posición deseada definidas, se llevaron a cabo pruebas utilizando un modelo dummy que simula las características físicas del ratón. Estas pruebas permitieron identificar y corregir errores en el procesamiento de datos, evaluando la precisión del sistema en diversas posiciones y asegurando que los parámetros de posicionamiento fueran adecuados. Los resultados de esta etapa proporcionaron información clave para realizar ajustes finales y asegurar el rendimiento óptimo del sistema en condiciones experimentales.

### 3.2.8 Pruebas iniciales

El programa completo está escrito en MATLAB y consiste principalmente de cuatro partes:

#### A. Inicialización de cámaras y captura de imágenes

Esta sección del código inicia las cámaras, otorga configuraciones como la resolución y muestra la transmisión en vivo. El usuario debe presionar la tecla “Enter” para realizar la captura, las imágenes tomadas se guardan y serán utilizadas el resto del código para su procesamiento.

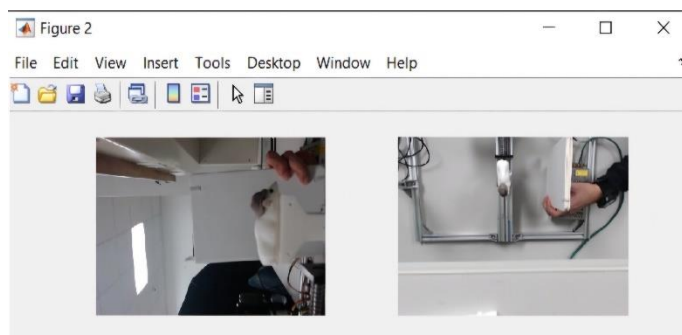


Figura 9. Pantalla de ambas cámaras en funcionamiento con el modelo murino impreso en 3D.

#### B. Detección de nariz

Obtiene la imagen capturada de la cámara superior y realiza diferentes filtros de brillo, circularidad, bordes. Al finalizar las figuras que tienen mayor circularidad pasan por un filtro de valores en el color rojo, el centroide con un valor más alto en este filtro se mantiene. Después

realiza una búsqueda de centroides que compartan la misma posición en Y o similar, a estos los reconoce como los ojos. Finalmente guarda el centroide con mayor valor en el color Rojo si se encuentra entre los valores de X de los centroides que podrían ser los ojos del roedor.

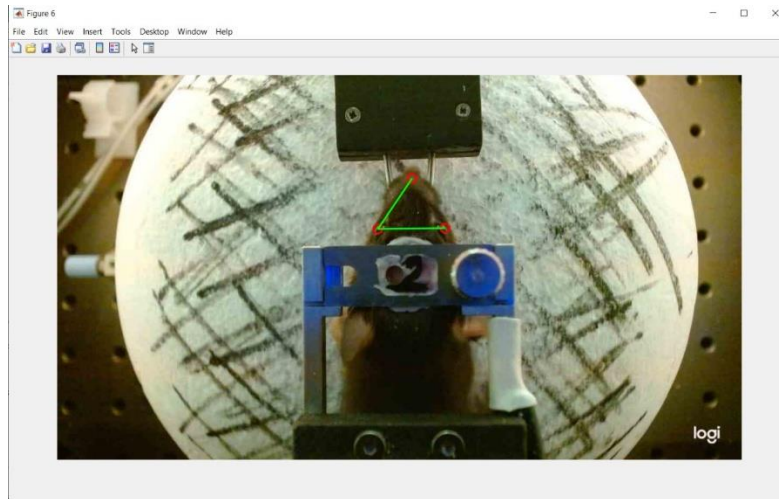


Figura 10. Detección de Nariz y ojos en vista superior de fotografía

### C. Detección de ojos

Esta sección recibe la imagen de la cámara lateral, aplica un umbral de detección de regiones oscuras, elimina el ruido a través de operaciones morfológicas y elimina el ruido. Finalmente encuentra el ojo determinado por tamaño y circularidad de los objetos resultantes de los filtros.

### D. Coordenadas y ejes

Esta sección recibe las imágenes filtradas al igual que las coordenadas en pixeles de dónde fueron encontrados la nariz y el ojo, los muestra en pantalla y muestra sus coordenadas.

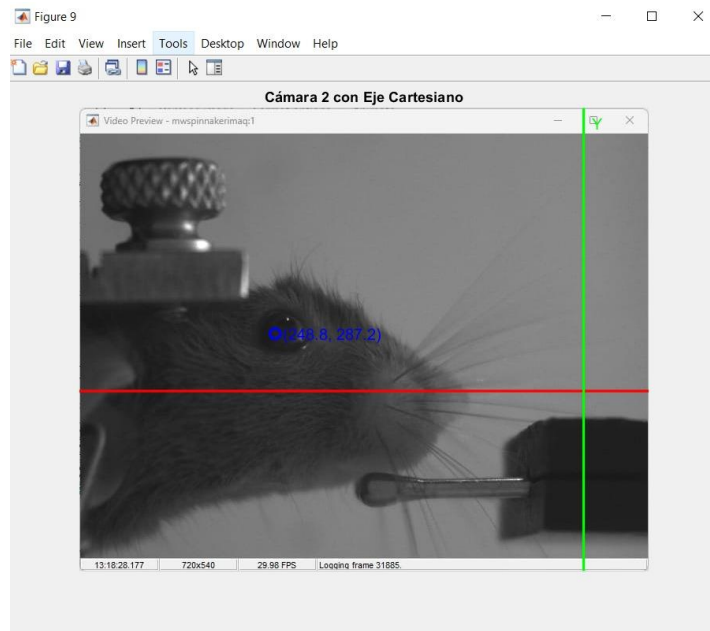


Figura 11. Detección del ojo en vista lateral de una cámara en el laboratorio de Princeton.

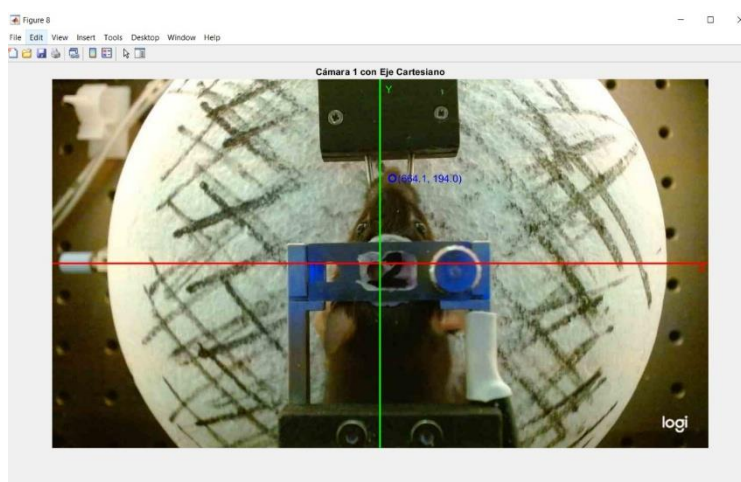


Figura 12. Vista de la Cámara superior en el laboratorio de Princeton.

## CAPÍTULO 4

### 4.1 Resultados y discusión

#### 4.1.1 Estructura física

La versión presentada a continuación está conformada por una estructura a base de perfiles de aluminio con uniones en cada esquina. La base es rectangular y cuenta con dos perfiles que funcionen como soporte del motor. A estos se ancla al primer motor con placas de aluminio, tornillos y tuercas de 2 lados.

En este modelo se encuentran los primeros dos motores, cámaras y conexiones a los drivers y a una fuente de poder. Esto permite la realización de primeras pruebas simplificadas de todas las partes, y pruebas en conjunto. Sin embargo, en siguientes versiones se propone el modelo completo, como se muestra en la imagen creada en CAD, además de cubrir las diferentes necesidades que surjan durante el armado.

#### 4.1.2 Software

El procesamiento de imágenes y la comunicación con los motores a través de un arduino y drivers A4988, ha sido probada con éxito. Las partes del código se encuentran trabajando en conjunto recibiendo y entregando información de forma correcta. Se continúa el proceso de cálculo entre pixeles y el sistema métrico para dar indicaciones a los motores que correspondan con el sistema métrico y no simplemente con los pixeles de las imágenes.

Se realizaron pruebas de las cámaras con el modelo impreso en 3D de un ratón, después de algunos ajustes por cambio de formato de imagen se consiguió la detección del ojo. Sin embargo, se continúan los ajustes para poder realizar esto con repetitividad.



## Referencias

1. Żakowski, W. (2020). Animal Use in Neurobiological Research. *Neuroscience*, 433, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.02.049>
2. The International Brain Laboratory, Aguillon-Rodriguez, V., Angelaki, D., Bayer, H., Bonacchi, N., Carandini, M., Cazettes, F., Chapuis, G., Churchland, A. K., Dan, Y., Dewitt, E., Faulkner, M., Forrest, H., Haetzel, L., Häusser, M., Hofer, S. B., Hu, F., Khanal, A., Krasniak, C., ... Zador, A. M. (2021). Standardized and reproducible measurement of decision-making in mice. *eLife*, 10, e63711. <https://doi.org/10.7554/eLife.63711>
3. de Gee, J. W., Mridha, Z., Hudson, M., Shi, Y., Ramsaywak, H., Smith, S., Karediya, N., Thompson, M., Jaspe, K., Jiang, H., Zhang, W., & McGinley, M. J. (2024). Strategic stabilization of arousal boosts sustained attention. *Current Biology*, 34(18), 4114–4128.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2024.07.070>
4. Dombeck, D. A., Khabbaz, A. N., Collman, F., Adelman, T. L., & Tank, D. W. (2007). Imaging Large-Scale Neural Activity with Cellular Resolution in Awake, Mobile Mice. *Neuron*, 56(1), 43–57. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.08.003>
5. Chinwalla, A. T., Cook, L. L., Delehaunty, K. D., Fewell, G. A., Fulton, L. A., Fulton, R. S., Graves, T. A., Hillier, L. W., Mardis, E. R., McPherson, J. D., Miner, T. L., Nash, W. E., Nelson, J. O., Nhan, M. N., Pepin, K. H., Pohl, C. S., Ponce, T. C., Schultz, B., Thompson, J., ... Members of the Mouse Genome Analysis Group. (2002). Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*, 420(6915), 520–562. <https://doi.org/10.1038/nature01262>
6. Building a mini VR rig | BRAIN CoGS mini VR rigs. (s/f). Recuperado el 7 de octubre de 2024, de <https://braincogs.github.io/building/>
7. Powell, N. J., & Redish, A. D. (2014). Complex neural codes in rat prelimbic cortex are stable across days on a spatial decision task. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8, 120. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00120>
8. Privitera, M., Ferrari, K. D., Von Ziegler, L. M., Sturman, O., Duss, S. N., Floriou-Servou, A., Germain, P.-L., Vermeiren, Y., Wyss, M. T., De Deyn, P. P., Weber, B., & Bohacek, J. (2020). A complete pupillometry toolbox for real-time monitoring of locus coeruleus activity in rodents. *Nature Protocols*, 15(8), 2301–2320. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-0324-6>

9. Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
10. Domínguez-Oliva, A., Hernández-Ávalos, I., Martínez-Burnes, J., Olmos-Hernández, A., Verduzco-Mendoza, A., & Mota-Rojas, D. (2023). The Importance of Animal Models in Biomedical Research: Current Insights and Applications. *Animals*, 13(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/ani13071223>
11. Steiner, A. P., & Redish, A. D. (2012). The Road Not Taken: Neural Correlates of Decision Making in Orbitofrontal Cortex. *Frontiers in Neuroscience*, 6. <https://doi.org/10.3389/fnins.2012.00131>
12. Jgamadze, D., Lim, J. T., Zhang, Z., Harary, P. M., Germi, J., Mensah-Brown, K., Adam, C. D., Mirzakhali, E., Singh, S., Gu, J. B., Blue, R., Dedhia, M., Fu, M., Jacob, F., Qian, X., Gagnon, K., Sergison, M., Fruchet, O., Rahaman, I., ... Chen, H.-C. I. (2023). Structural and functional integration of human forebrain organoids with the injured adult rat visual system. *Cell Stem Cell*, 30(2), 137-152.e7. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2023.01.004>
13. Barnard, N. D., & Kaufman, S. R. (1997). Animal Research Is Wasteful and Misleading. *Scientific American*, 276(2), 80–82.
14. Balls, M., Russell, W. M. S., Burch, R. L. (2009). The Three Rs and the Humanity Criterion: Reduction, Refinement, Replacement. Reino Unido: FRAME.
15. Worp, H. B. van der, Howells, D. W., Sena, E. S., Porritt, M. J., Rewell, S., O'Collins, V., & Macleod, M. R. (2010). Can Animal Models of Disease Reliably Inform Human Studies? *PLoS Medicine*, 7(3), e1000245. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000245>
16. Crawley, J. N. (2007). What's Wrong With My Mouse? Behavioral Phenotyping of Transgenic and Knockout Mice. Reino Unido: Wiley.
17. Logothetis, N. K. (2008). What we can do and what we cannot do with fMRI. *Nature*, 453(7197), 869–878. <https://doi.org/10.1038/nature06976>
18. Jucker, M. (2010). The benefits and limitations of animal models for translational research in neurodegenerative diseases. *Nature Medicine*, 16(11), 1210–1214. <https://doi.org/10.1038/nm.2224>

19. Carlsen, E. M. M., Nedergaard, M., & Rasmussen, R. N. (2022). Versatile treadmill system for measuring locomotion and neural activity in head-fixed mice. *STAR Protocols*, 3(4), 101701. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2022.101701>
20. Terven, J., Córdova-Esparza, D.-M., & Romero-González, J.-A. (2023). A Comprehensive Review of YOLO Architectures in Computer Vision: From YOLOv1 to YOLOv8 and YOLO-NAS. *Machine Learning and Knowledge Extraction*, 5(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/make5040083>
21. Tang, W., Chen, J., Ning, Y., & Xu, K. (2023). Object Detection Algorithms with Deep Learning: An Overview. 2023 3rd International Conference on Electronic Information Engineering and Computer Science (EIECS), 844–858. <https://doi.org/10.1109/EIECS59936.2023.10435579>
22. Guo, X., Jia, G., Al-Khulaqui, M., Chen, Z., Fukuda, T., & Shi, Q. (2023). Real-Time Pose Estimation of Rats Based on Stereo Vision Embedded in a Robotic Rat. 2023 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS), 4690–4695. <https://doi.org/10.1109/IROS55552.2023.10342475>
23. He, K., Gkioxari, G., Dollár, P., & Girshick, R. (2018). Mask R-CNN (No. arXiv:1703.06870). arXiv. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1703.06870>
24. Suarez-Gomez, A.-D., & Ortega, A. A. H. (2023). Review of control algorithms for mobile robotics (No. arXiv:2310.06006). arXiv. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2310.06006>
25. Suárez-Gómez, A.-D., & Ortega, A. A. H. (2024). Development of control algorithms for mobile robotics focused on their potential use for FPGA-based robots (No. arXiv:2403.09459). arXiv. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2403.09459>
26. Knight, A. (2008). Systematic reviews of animal experiments demonstrate poor contributions toward human healthcare. *Reviews on Recent Clinical Trials*, 3(2), 89–96. <https://doi.org/10.2174/157488708784223844>
27. Uhl, E. W., & Warner, N. J. (2015). Mouse Models as Predictors of Human Responses: Evolutionary Medicine. *Current Pathobiology Reports*, 3(3), 219–223. <https://doi.org/10.1007/s40139-015-0086-y>

28. Mathis, A., Mamidanna, P., Cury, K. M., Abe, T., Murthy, V. N., Mathis, M. W., & Bethge, M. (2018). DeepLabCut: Markerless pose estimation of user-defined body parts with deep learning. *Nature Neuroscience*, 21(9), 1281–1289. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0209-y>
29. Pereira, T. D., Aldarondo, D. E., Willmore, L., Kislin, M., Wang, S. S.-H., Murthy, M., & Shaevitz, J. W. (2019). Fast animal pose estimation using deep neural networks. *Nature Methods*, 16(1), 117–125. <https://doi.org/10.1038/s41592-018-0234-5>
30. Graving, J. M., Chae, D., Naik, H., Li, L., Koger, B., Costelloe, B. R., & Couzin, I. D. (2019). DeepPoseKit, a software toolkit for fast and robust animal pose estimation using deep learning. *eLife*, 8, e47994. <https://doi.org/10.7554/eLife.47994>
31. Pinto, L., Rajan, K., DePasquale, B., Thiberge, S. Y., Tank, D. W., & Brody, C. D. (2019). Task-Dependent Changes in the Large-Scale Dynamics and Necessity of Cortical Regions. *Neuron*, 104(4), 810-824.e9. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.08.025>

## Anexos

### Anexo 1: Componentes del sistema automático de BRAIN CoGs Mini VR Rigs

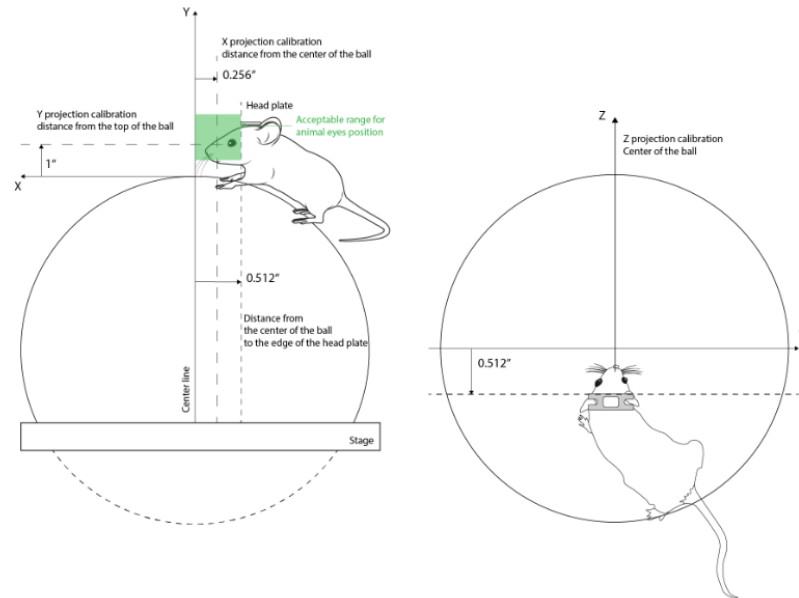


Figura 13. Diagrama del posicionamiento ideal del modelo murino [6].

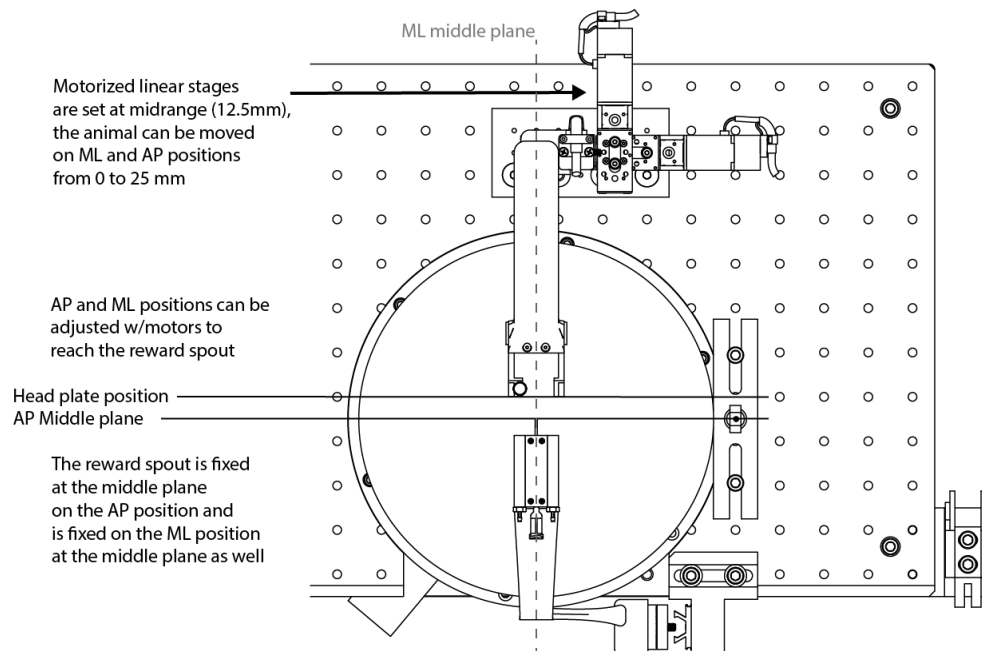


Figura 14. Especificaciones del sistema con vista superior [6].

El sistema de posicionamiento que actualmente utiliza en los BRAIN CoGs Mini VR Rigs tiene los siguientes componentes:

- 3 motores de Zaber Technologies con una etapa lineal de 25 mm (LSA25).
  - El posicionamiento se realiza mediante un software donde el técnico indica el tamaño de paso en X, Y y Z en mm.
- Brazo en impresión 3D en Nylon 12 (PA12).
- Sujetador de placa craneal de acero inoxidable.
- Breadboard como base sujeto mediante un adaptador personalizado.