

Latin American Training Program 2022

Hands-on III: Comportamiento Closed-loop con Bonsai

Proyecto integrador

El comportamiento involucra una respuesta integrada y compleja que implica el intercambio regulatorio entre diversas áreas del sistema nervioso central (SNC), cada una a cargo del control de diferentes aspectos de la conducta.

El estudio del comportamiento animal, permite, entre otras cosas, comprender el modo en que los individuos resuelven los distintos problemas a los que deben enfrentarse a lo largo de sus vidas, así como descubrir las pautas que, unidas a una serie de tácticas y estrategias favorecen la resolución de dichos problemas. Por lo tanto, es importante poder realizar mediciones precisas de los diferentes parámetros indicativos de esos diversos aspectos del comportamiento.

En tal sentido, el campo de la neurociencia comportamental está experimentando una gran revolución. Actualmente estamos interesados en estudiar el comportamiento animal en entornos que se asemejen en la mayor medida posible a los ambientes naturales en donde desarrollarían su conducta, en términos de complejidad y desafíos que le presenten a los mismos. Incluso, logrando que el ambiente responda de diferentes maneras a la conducta del animal.

Estos nuevos paradigmas de estudio son posibles de desarrollar mediante el uso de herramientas como Bonsai (Lopes y Monteiro, 2021; Lopes et al, 2015), que permiten un rápido prototipado de setups experimentales complejos. Es posible coordinar y sincronizar diferentes fuentes de información y estimulación como cámaras, servomotores, estimulación LED, modificación del ambiente mediante realidad virtual, etc, logrando así, crear sistemas de lazo cerrado (closed-loop systems) de una manera fácil y sencilla.

En esta práctica proponemos un proyecto sencillo para integrar algunas de las capacidades de Bonsai para el estudio del comportamiento de exploración utilizando como animal objeto de estudio el ratón.

El ratón presenta una gran capacidad exploratoria, lo cual lo vuelve un modelo animal de interés para ser sometido a pruebas de actividad espontánea y de aprendizaje. Un tipo de prueba particular que permite estudiar el aprendizaje y la memoria, evaluando la capacidad de los roedores de reconocer objetos novedosos en un contexto, es el “Novel Object Recognition Test” (NOR) (Lueptow, 2017).

Esta prueba consta de tres fases: habituación, familiarización y testeo.

- Habitación: en esta fase se le permite al animal explorar libremente el contexto experimental (arena) libre de objetos.
- Familiarización: se colocan dos objetos iguales (A + A) en la arena y se deja al animal que los explore por algunos minutos.
- Testeo: se reemplaza uno de los objetos A por uno nuevo B. Luego de un intervalo de retención, se vuelve a colocar al animal en la arena por algunos minutos para que explore los objetos.

Proponemos realizar una modificación en la prueba NOR descrita, consistente en aparear un estímulo que podría ser aversivo para el ratón con el objeto novedoso B en la fase de testeo. Intentaremos contestar la siguiente pregunta:

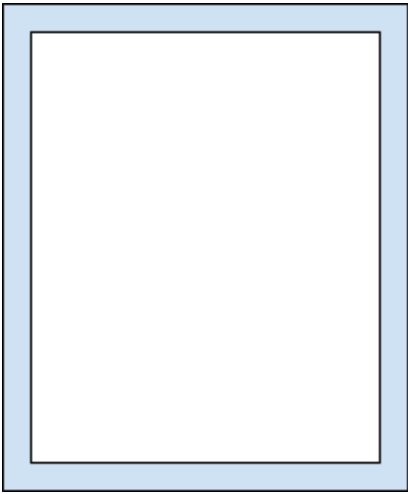
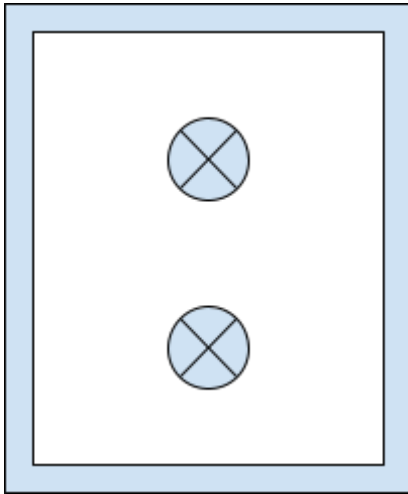
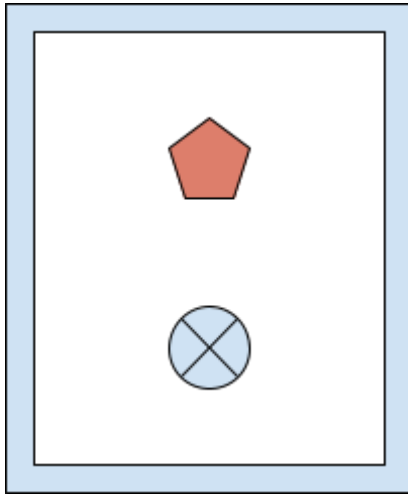
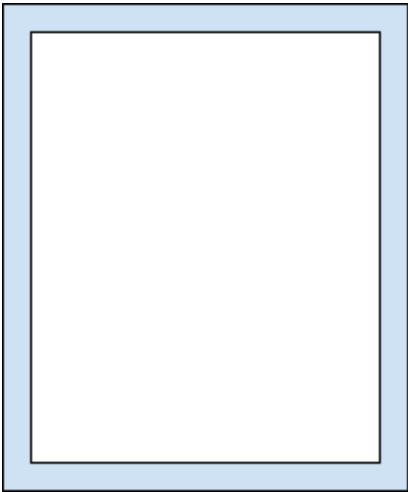
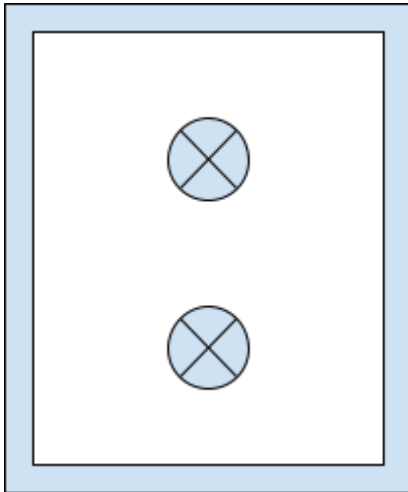
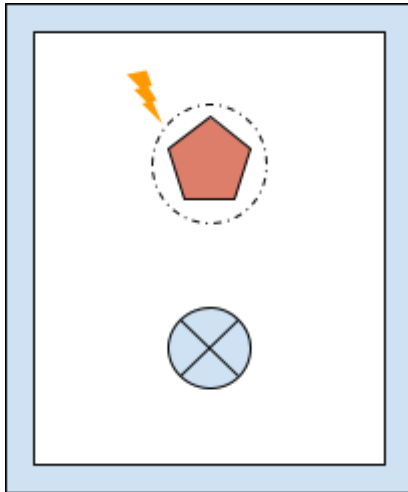
La conducta innata de los ratones de exploración de un objeto novedoso, ¿se ve impedida por la presencia de un estímulo aversivo apareado al objeto novedoso?

Las diferentes medidas que podemos utilizar para analizar la conducta del ratón en esta tarea son:

- Índice de discriminación
- Índice de exploración
- Distancia recorrida en la arena
- Tiempo de permanencia en los diferentes sectores en la arena (heatmap)
- Velocidad antes y después de la exploración de los objetos

Consignas:

1. Diseñar y armar el setup experimental con los elementos provistos (cajas plásticas, webcam, kit de Arduino y componentes electrónicos varios).
2. Pensar y armar el workflow a utilizar con Bonsai. Para ello será necesario identificar los datos necesarios a registrar para realizar las mediciones necesarias para analizar la conducta de los ratones.
3. Disponiendo de dos grupos de ratones ($n = 2$), realizar la prueba comportamental descrita NOR tradicional con un grupo de ratones y la prueba NOR modificada propuesta con el otro grupo de ratones, siguiendo el siguiente diseño experimental:

F0: Habitación	F1: Familiarización	F2: Testeo
Grupo I		
		
Grupo II		
		

Duración Fase de Habitación (F0): 5 min

Tiempo entre Fase de Habitación y Fase de Familiarización: 15 min

Duración Fase de Familiarización (F1): 10 min

Tempo entre Fase de Familiarización y Testeo: 60 min

Duración Fase de Testeo (F2): 10 min

- Mediante los datos recabados, realizar las mediciones necesarias y analizar de forma cualitativa los resultados comparando ambos grupos experimentales.

Materiales:

- Arena experimental de 40cmx40cmx40cm
- Objetos (al menos 2 iguales y uno distinto para cada setup)
- Placa microcontroladora Arduino o similar
- Servomotor
- LED y resistencia 220 Ohm
- Buzzer o parlante
- Webcam
- Parante para sostener webcam
- Luz
- Placa de pruebas (protoboard) y cables jumper
- Varios: cartón o cartulina, marcador indeleble, cinta bifaz, cinta de enmascarar
- Laptop
- Animales

Bibliografía:

Lopes G, Monteiro P. New Open-Source Tools: Using Bonsai for Behavioral Tracking and Closed-Loop Experiments. *Front Behav Neurosci*. 2021 Mar 31;15:647640. doi: 10.3389/fnbeh.2021.647640. PMID: 33867952; PMCID: PMC8044343.

Lopes G, Bonacchi N, Frazão J, Neto JP, Atallah BV, Soares S, Moreira L, Matias S, Itskov PM, Correia PA, Medina RE, Calcaterra L, Dreosti E, Paton JJ, Kampff AR. Bonsai: an event-based framework for processing and controlling data streams. *Front Neuroinform*. 2015 Apr 8;9:7. doi: 10.3389/fninf.2015.00007. PMID: 25904861; PMCID: PMC4389726.

Lueptow LM. Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice. *J Vis Exp*. 2017 Aug 30;(126):55718. doi: 10.3791/55718. PMID: 28892027; PMCID: PMC5614391.