

Diseño y construcción de una caja de actividad motora con tecnología de microcontroladores para la captura y análisis de datos de ratas en experimentación

Francisco J. Heredia López ¹, Karen Z. Navarrete Kao ²

¹ Universidad Autónoma de Yucatán, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi". Laboratorio de Neurofisiología.
hlopez@tunku.uady.mx

² Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Matemáticas.
karnava@todito.com

Resumen. Este proyecto describe el funcionamiento de un sistema electrónico basado en un microcontrolador "RISC" que controla una caja para registrar la actividad motora en ratas. Es un medio eficaz para obtener de manera automática información de estos animales en experimentación sin necesidad de dedicar de manera exclusiva una computadora PC para dicha tarea.

Abstract. This project describes the operation of an electronic system based on a microcontrolador RISC that controls a box to register the motor activity in rats. It is an efficient method to obtain in an automatic way information of these animals in experimentation with no dedicate a PC computer for that task.

Introducción

uso de computadoras personales se ha hecho común hoy en día, gracias al costo, facilidad de adquisición y capacidad de proceso para el desarrollo científico y tecnológico, permitiendo utilizarlas como estaciones de trabajo en las cuales es posible con los programas y lenguajes adecuados poder realizar la captura de mas de una fuente de información de manera casi simultanea.

Dentro de la investigación biomédica, las neurociencias se ocupan del estudio del sistema nervioso, tratando de comprender mejor los fenómenos que rigen el funcionamiento del mismo. Para ello se realizan, entre otros, estudios conductuales de animales vivos, como ratas y conejos. Así, es posible valorar el funcionamiento del sistema nervioso al establecer una correlación entre los cambios en la actividad motora exhibida por el animal en estudio y la naturaleza del fármaco empleado. Entre las metodologías de estudio de alteraciones en la conducta motora, se encuentra el uso una caja dotada con sensores en las paredes de la misma, o bien con una cámara de video en su parte superior, para capturar la actividad motora y por medio de programas de análisis evaluar las alteraciones conductuales.

En el Laboratorio de Neurofisiología del Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi" de la UADY se llevan acabo diversas investigaciones de este tipo. En nuestro caso se emplea una caja dotada con sensores en las paredes con la

cual se puede ubicar una posición en x, y, z para poder la actividad motora del animal experimentación.

Antecedentes

Geyer M.A.[1] y Sandra E[2], reportan el uso de un sistema basado en haces frarrojos para medir la actividad espontánea en ratas con el propósito de determinar el efecto en su conducta debida a la administración de drogas y otras manipulaciones. Es un dispositivo automatizado que permite determinar la cantidad y la cualidad de la actividad conductual en ratas.

Neil T. Brockwell [3] describe un sistema computarizado para el monitoreo del condicionamiento de estancia y actividad de desplazamiento en ratas, estos sistemas pueden controlar varios gabinetes de experimentación a la vez. Cada gabinete consiste de dos cajas conectadas por un pequeño túnel en los cuales se pueden insertar puertas tipo guillotina. En las paredes del gabinete se fijan pares de sensores infrarrojos. En ambos casos se utilizan como elementos sensores emisores y detectores infrarrojos.

Un segundo grupo de metodologías para sensar conducta motora contempla el uso de sistemas de video como los descritos por Ilan Golani et al [4], Schwarting et al [5], Frank Sams Dodd [6]. En estos sistemas se miden la conducta de giro, exploración, y desplazamiento en ratas. Todos estos sistema requieren del uso de programas de computación para realizar el análisis de la conducta observada, representando a la rata como un patrón de puntos blancos.

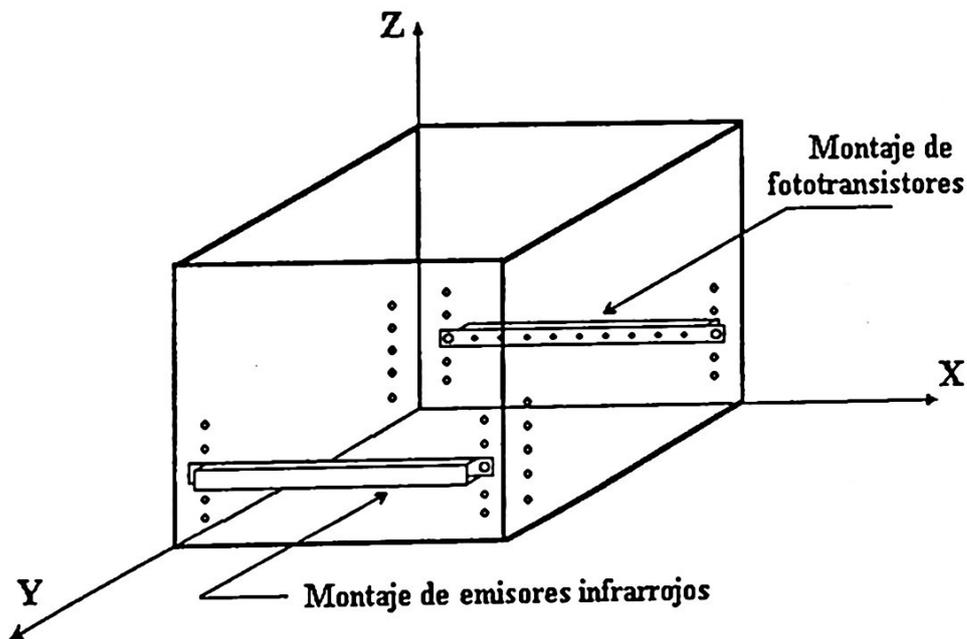


Fig. 1. Esquema de la caja de acrílico con un par de rieles que forma un eje coordenado

Para el caso de nuestro laboratorio se optó por utilizar elementos frarrojos [14] como el medio para poder detectar cambios en la conducta

motora en ratas, para ello se construyó una caja de acrílico transparente (Ver la figura 1) con piso y sin tapa de 50 x 50 cm, dotada de pares de optoacopladores infrarrojos (emisor-receptor) en sus paredes, los cuales permiten ubicar al animal en un plano cartesiano X-Y (nueve coordenadas por eje), y en una coordenada del eje Z, dentro de un espacio de experimentación, con el objeto de tener la información de su comportamiento motor en el tiempo, y almacenarla para su análisis posterior.

Las 90 coordenadas se barren secuencialmente, seleccionando la misma pareja emisor-receptor en los tres ejes por medio de circuitos multiplexores-demultiplexores[9][10]. Para evitar problemas de ruido por luz parásita en el enlace emisor-receptor, la emisión infrarroja es modulada con la frecuencia del oscilador local de un circuito PLL ("phase-locked loop") [11], cuya entrada recibe la señal del receptor [7] correspondiente a través del circuito demultiplexor, para compararla con su propia frecuencia de referencia. Este circuito es reproducido tres veces, uno para cada eje coordinado. Las salidas TTL compatibles de dichos PLL son leídas para determinar la ubicación del animal.

3 Métodos

Para realizar el control de la caja previamente descrita fue necesario desarrollar un circuito de control basado en un microcontrolador, esto debido a que un microcontrolador posee todas las características de un computador completo y puede ser programado para que cumpla una tarea determinada a un muy bajo costo. También fue necesario desarrollar los programas para el mismo y para recuperar la información colectada dentro de una PC. En dicha PC se realiza el análisis de los cambios en conducta por medio de un sistema de programas realizados en un lenguaje de programación gráfica (LabVIEW 4.1 de National Instruments) [15].

Así el trabajo desarrollado puede centrarse en dos grandes secciones: Desarrollo del "hardware" y desarrollo del "software".

3.1 Desarrollo del hardware

Se diseño y construyó un circuito de control para la caja basado en un microcontrolador RISC ("Reduced Instruction Set Computer"). En este proyecto se seleccionó un microcontrolador de 8bits con tecnología "Enhanced Flash" modelo PIC16F877 [14], el cual utiliza cinco puertos digitales: A, B, C, D, E. Dispone de 8Kx14bits de memoria FLASH mejorada, 256 "bytes" de memoria de datos EEPROM, rango amplio de voltaje de funcionamiento de 2,0V a 5,5V, comunicación IIC, dos temporizadores de 8 bits y uno de 16 bits. Se empleó para el circuito de reloj un cristal XT de 4MHz.

Este microcontrolador (Ver la figura 2) envía una secuencia binaria (del 0 al 8) para seleccionar de manera secuencial una de las nueve coordenadas de cada eje, espera 500 ms y lee el estado de las salidas binarias de los circuitos PLL para determinar en qué coordenadas se encuentra el animal. La información de la ubicación del animal es almacenada previa validación en un banco de memorias no volátiles del tipo EEPROM ("Electrical Erasable Read Only Memory") 24LC65 [15] con una capacidad total de 64,536 "bits".

Este mismo microcontrolador controla una pantalla LCD (“Liquid Cristal Display”) [9] alfanumérica, un teclado de tres teclas que permite seleccionar funciones como introducir el tiempo de experimentación, iniciar o abortar un experimento o transmitir los datos colectados a una PC a través del puerto serial RS232 del propio microcontrolador, por medio de un circuito cambiador de nivel MAX232.

También se señala que los sistemas descritos están alimentados por medio de una fuente de alimentación externa (eliminador de baterías de 9V) y cuenta con un banco de baterías NiCd de respaldo para evitar la pérdida del experimento por apagones de corta duración.

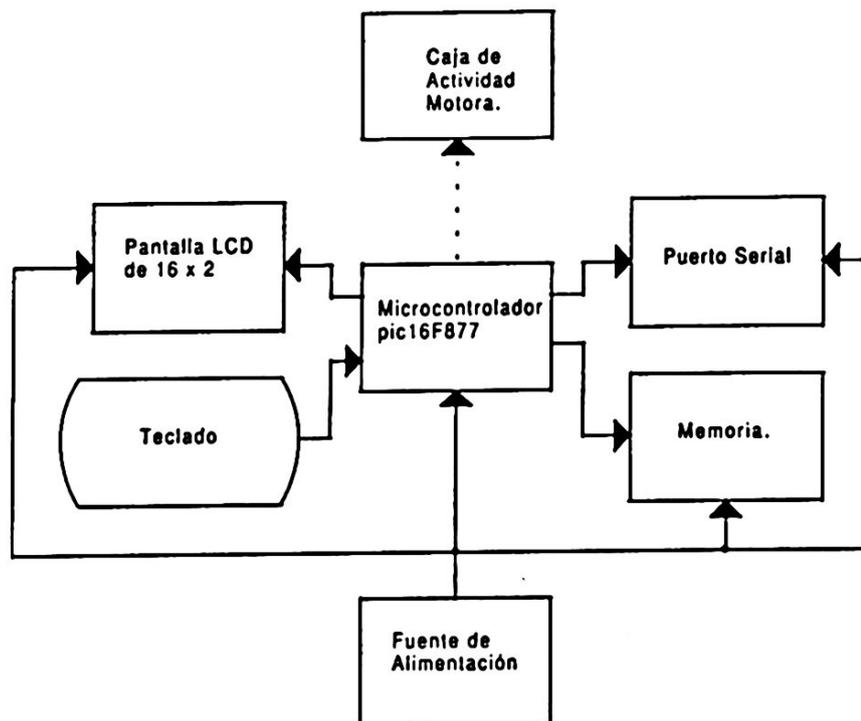


Fig. 2. Diagrama a bloques del circuito desarrollado

3.2 Desarrollo del software

El programa desarrollado para el microcontrolador ejecuta las siguientes tareas:

- 1) Programa el puerto B como entrada, los puertos A, D y E como salidas, y el puerto C sus “bits” RC0 y RC1 como entradas y el resto como salidas.
- 2) Inicializa la pantalla LCD para un modo de bus de datos de 8 bits y un desplegado de 5 x7 puntos.
- 3) Pregunta al usuario si es un nuevo experimento (Ver figura 3), en caso negativo el programa salta a preguntar si transmite los datos colectados por el puerto serial (paso 9). En caso afirmativo:
- 4) Pregunta el tiempo de duración del experimento en minutos.

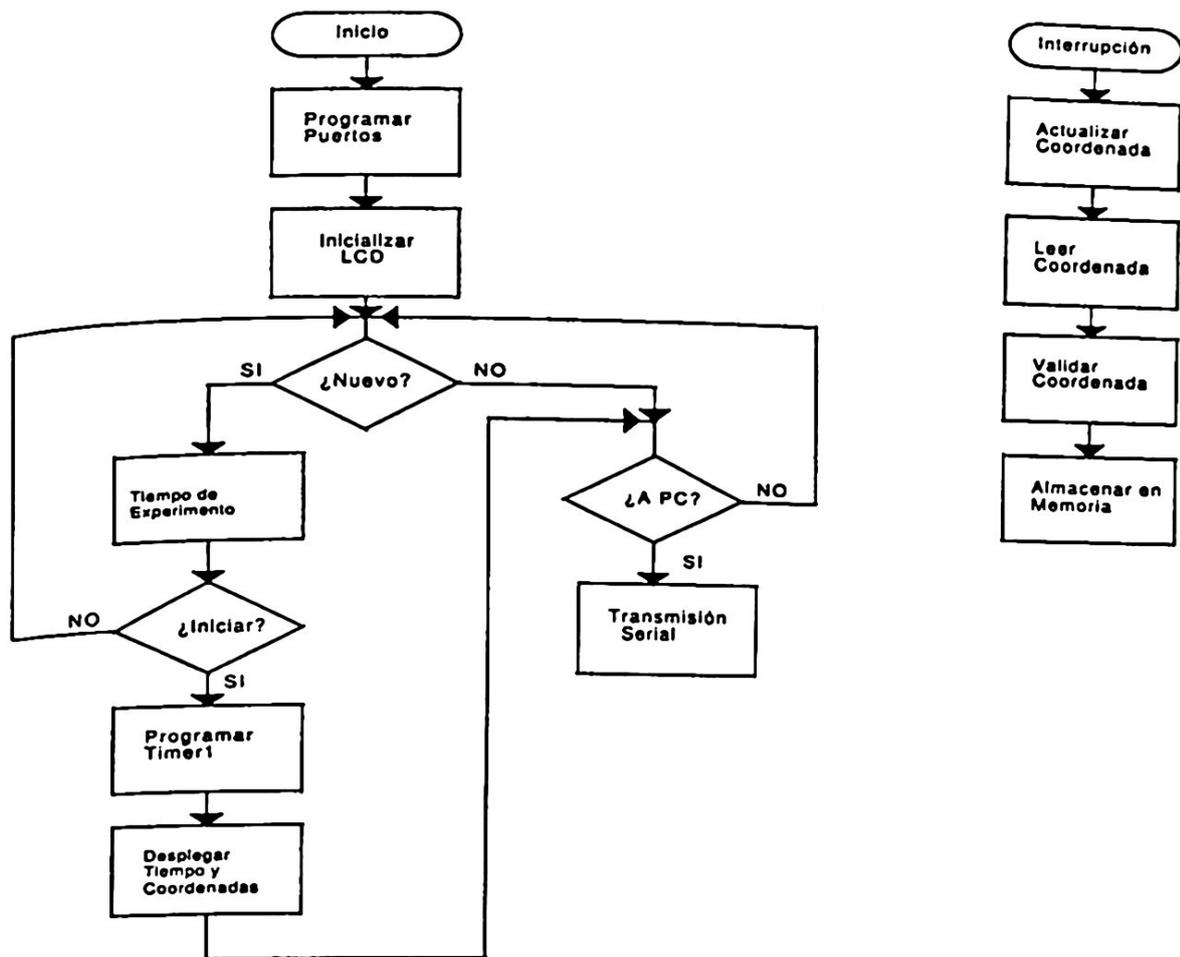


Fig. 3. Diagrama de flujo del programa desarrollado para el microcontrolador

- 5) Pregunta si inicia el experimento, en caso negativo el programa salta a preguntar si transmite los datos colectados por puerto serial (paso 9). En caso afirmativo: pasos 6. 7. 8.
- 6) Programa el "Timer1" en modo reloj de tiempo real para generar una interrupción cada 10 ms.
- 7) El programa permanece en un ciclo desplegando el tiempo transcurrido y las coordenadas detectadas, hasta que el tiempo de experimentación termine o el usuario aborte el experimento por oprimir una tecla ("enter").
- 8) Durante este ciclo las interrupciones del "Timer1" hacen que el programa cada 30 ms actualice el valor de la coordenada a barrer y leer de manera secuencial. También dentro de este proceso en la interrupción se guardan los datos de tres barridos previos de las nueve coordenadas para compararlos entre si y detectar cuando hay una diferencia entre ellos para así validar un movimiento y almacenarlo en la memoria.
- 9) Al concluir el experimento o abortarlo el programa pregunta si los datos colectados se transmiten por el puerto serial, en caso negativo el programa salta al paso 3. En caso afirmativo se programa el puerto serial a 2400 bps, 8 "bits" de datos, no paridad, un "bit" de "stop" y se leen de las primeras dos memorias el total de datos colectados y memorias utilizadas, con esta información el programa empieza a leer los datos colectados, convertirlo a "ASCII" y transmitirlos con el

siguiente formato: tiempo(s), tabulador, coordenada X, tabulador, coordenada Y, tabulador, coordenada Z, "enter". Esto con el fin de que el programa receptor de datos en la PC los almacene en un archivo compatible con el formato que los programas de análisis previamente desarrollados manejan.

10) Concluida la transmisión de todos los datos el programa salta al paso 3.

4 Resultados

La integración de la caja de actividad motora con el módulo del microcontrolador desarrollado se ve de la manera siguiente (Figura 4):

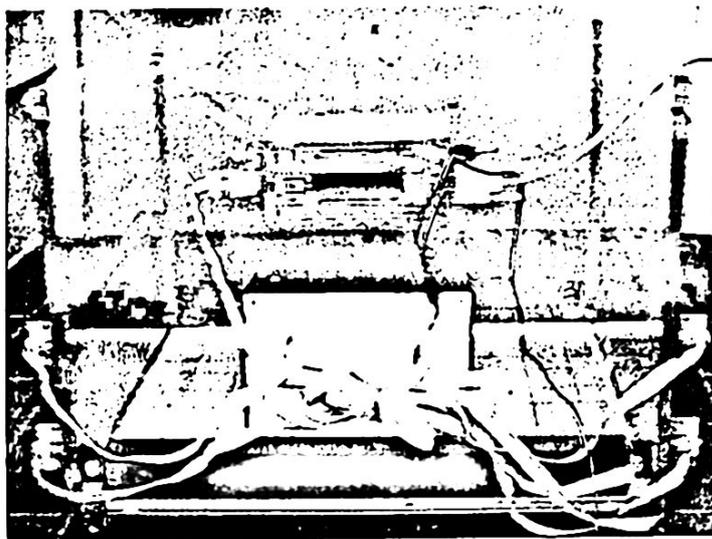


Fig. 4. Caja de Actividad Motora con el Módulo desarrollado incorporado

La caja permite la captura de la actividad motora del animal de manera autónoma y permite transmitir serialmente dicha información a una PC. (Ver tabla 1)

Tabla 1. Ilustración de una sección del archivo de datos (El archivo se genera en ASCII puro, se presenta en formato tabla por razones de legibilidad).

Tiempo	X	Y	Z
108	3	6	1
109	3	7	0
110	2	8	0
111	3	9	0
112	4	9	0
114	5	9	0
115	6	9	0
116	7	9	0
118	7	8	0
119	8	8	0

Esta información se evalúa con los programas: de análisis de velocidad, distancia recorrida, erguimientos y permanencia en determinadas zonas de la caja. (Ver las figuras 5 y 6). El sistema ya ha sido utilizado para estudiar los cambios conductuales esperados por la aplicación de fármacos que intervienen en la modulación de la actividad motora.

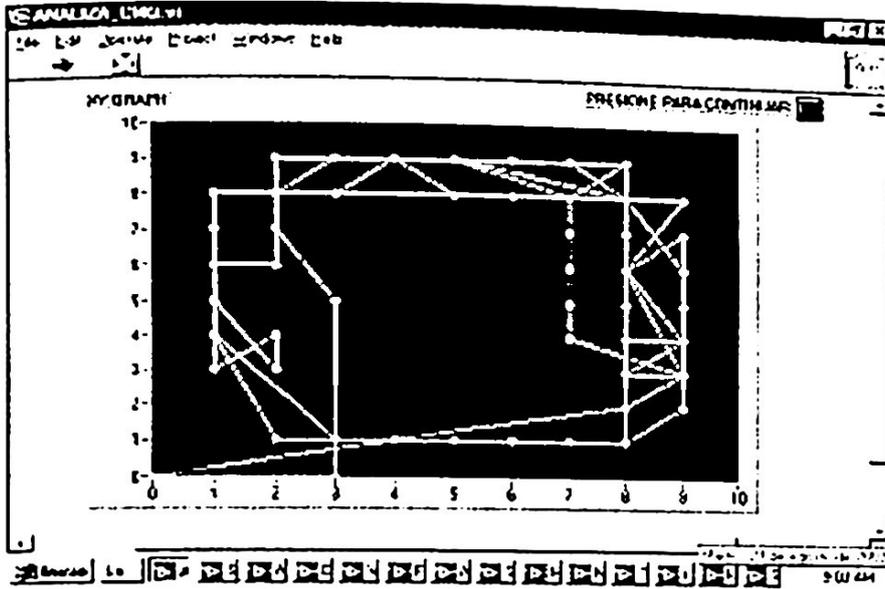


Figura 5. Gráfica que ejemplifica un análisis de conducta motora.

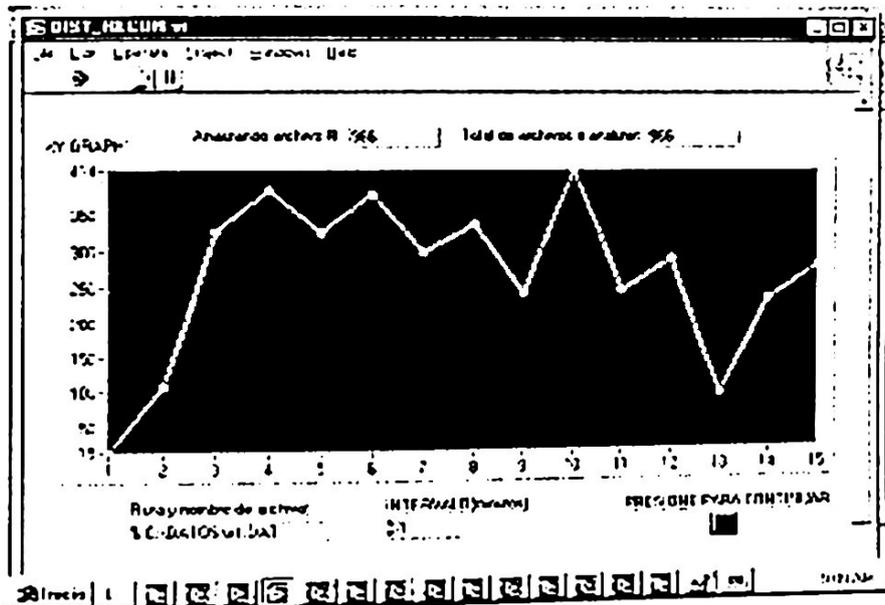


Figura 6. Gráfica que ejemplifica un análisis de distancia recorrida

5 Discusiones

Hasta este momento los datos se recuperan con un programa desarrollado en Basic pero el proceso es ineficiente por el número de pasos que implica, esto hace necesario

migrar este código a Labview para incluir este proceso dentro de los programas de análisis previamente desarrollados.

Referencias

1. Geyer, M.A., Russo, P.V., Masten V.L.: Pharmacol Biochem Behav Vol. 25. (1986) 277-288
2. File, E.S., Baldwin, H.A., Johnston, A.L., Wilks, L.J.: Pharmacol Biochem Beba Vol. 30. (1988) 809-815
3. Brockwell, N.T., Ferguson, D.S., Beninger, R.J.: J Neurosci Meth Vol. 64. (1996) 227-232
4. Golani, I., Benjamin, Y., Eilam, D.: Behavioral Brain Research Vol. 53. (1993) 21-23
5. Schwarting, R.K., Goldenberg, R., Steiner, H., Fornaguera, J., Huston, J.P.: J Neurosci Meth, Vol. 49. (1993) 199-210
6. Sams, F.: J Neurosci Meth Vol. 59. (1995) 157-167
7. Diefenderfer, A.J.: Instrumentación Electrónica (1987) 137
8. AND Display Products Catalog. AND 491 LCD Display (1991) 4-14 4-15
9. CD4051. CMOS Data Book.National Semiconductors Corporation (1989) 1-120 1-125
10. CD4066. CMOS Data Book.National Semiconductors Corporation (1989) 1-126 1-131
11. LM567 Tone Decoder. Special Purpose Linear Devices DataBook. National Semiconductors Corporation (1989) 5-281 5-288
12. Microchip Microcontroller PIC16F877 (2001) 1-218
13. Non-Volatile Memory Products Data Book. 24LC65 Serial EEPROM 3-277 3-288
14. STEREN Catálogo No. 9 Electrónica STEREN S.A de C.V., México D.F. (1998) 99
15. User Manual Lab View Ver. 4.1. National Instruments Corporation (1996)