

Capítulo 3

Propuesta del uso de *software* de código abierto para evaluar los efectos de los solventes en modelos animales

Emmanuel Alcalá,^{1} Tania Campos Ordoñez^{**}
y Jonathan Buriticá^{2*}*

*CENTRO DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES EN COMPORTAMIENTO,
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR,
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Resumen

Los inhalantes son un conjunto diverso de sustancias psicoactivas, administradas por inhalación, que incluyen solventes orgánicos como tolueno, ciclohexano y benceno. A pesar de ser la tercera droga más abusada por adolescentes en países como México y Estados Unidos, la investigación sobre estas sustancias es limitada, especialmente en comparación con otras drogas. Los estudios existentes se han centrado principalmente en los daños cerebrales y han revelado efectos bifásicos en la actividad locomotora. Los pocos estudios de conducta instrumental realizados han mostrado resultados distintos a los de otras drogas; por ejemplo, el

1 El autor agradece a CONACYT la beca Postdoctoral 660431.

2 Correspondencia: Jonathan Buriticá. Universidad de Guadalajara, Centro de Estudios e Investigaciones en Comportamiento, C/ Francisco de Quevedo # 180, Col. Arcos Vallarta (Jalisco), México. CP. 44130. Email: jonathan.buritica@academicos.udg.mx

tolueno parece inducir preferencias por alternativas demoradas o seguras en estudios de descuento demorado y probabilístico, en contraste con las anfetaminas o la cocaína. Una posibilidad es que los efectos bifásicos y el desarrollo de conductas estereotípicas pueden interferir con la ejecución en estas tareas, por lo que se proponen mediciones adicionales, como la detección de patrones de movimiento atípicos. Las tecnologías gratuitas de visión por computadora basadas en aprendizaje profundo, junto con otras técnicas estadísticas, han facilitado estas mediciones en los últimos años. El uso de *software* de código abierto para evaluar los efectos de los solventes en modelos animales es una alternativa novedosa. Este capítulo revisa algunas de estas tecnologías y proporciona un ejemplo de medición de los efectos de un solvente sobre la conducta en un modelo animal.

Palabras clave: inhalantes, visión por computadora, *software* de código abierto.

Abstract

Inhalants are a diverse set of psychoactive substances, administered by inhalation, including organic solvents such as toluene, cyclohexane, and benzene. Despite being the third most abused drug by adolescents in countries like Mexico and the United States, research on these substances is scarce, especially in comparison with other drugs. Existing studies have mainly focused on brain damage and have revealed biphasic effects on locomotor activity. The few studies of instrumental behavior that have been carried out have shown different results to those of other drugs; for example, toluene appears to induce preferences for delayed or less risky alternatives in delayed discounting and probabilistic studies, in contrast to amphetamines or cocaine. One possibility is that biphasic effects and the development of stereotypical behaviors may interfere with performance on some of these tasks, so additional measures, such as detection of atypical movement patterns, are proposed. Free technologies of computer vision based on deep learning, in conjunction with other statistical techniques, have facilitated these measurements in recent years. Therefore, the use of open-source software to assess the effects of solvents in animal models is a novel alternative. This chapter reviews some of these technologies and provides an example of measuring the effects of a solvent on behavior in an animal model.

Keywords: inhalants, computer vision, open-source software.

Los inhalantes constituyen un grupo heterogéneo de sustancias de abuso con efectos psicoactivos definidas por su vía de administración. Entre las más comunes se encuentran los solventes orgánicos, gases y nitritos contenidas en productos industriales de uso común como el pegamento de contacto, gasolina, insecticidas, removedores de barniz de uñas, diluyentes de pinturas, aerosoles, anestésicos, etc. En particular, los solventes orgánicos están presentes en diferentes productos de formulación casera y son de fácil acceso dado que se encuentran disponibles en supermercados y en productos industriales, como es el caso del n-hexano, tolueno, benceno, ciclohexano, xileno y tricloroetano (Campos-Ordóñez *et al.*, 2019; Cruz & Bowen, 2021). A pesar de que en países como México y Estados Unidos son la tercera droga más abusada por adolescentes (Comisión Nacional contra las Adicciones, 2017; SAMHSA, 2020), la investigación básica en estas sustancias es poca en comparación con drogas como la cocaína y anfetaminas, y gran parte de esa investigación se ha enfocado en los daños en el cerebro.

El abuso de solventes ocurre principalmente a través de la inhalación, ya que sus propiedades fisicoquímicas permiten que se vaporicen al entrar en contacto con el aire, facilitando su inhalación (Batis, 2017). Dos de las principales vías de inhalación incluyen la conducta de “esnifar”, en donde una persona respira con la nariz y boca los vapores emitidos por el producto industrial, colocando el solvente de contacto en una tela empapada; y en el otro caso se le denomina “embolsar” cuando la persona vierte el producto en una bolsa plástica e inhala los vapores con la nariz y boca (Campos-Ordóñez & Gonzalez-Perez, 2016).

El periodo de abuso de solventes orgánicos es corto y corresponde aproximadamente de 10 a 15 minutos, durante este periodo los usuarios pueden inhalar concentraciones superiores a 6000 partes por millón (ppm) (Batis, 2017). Sin embargo, el cálculo de la dosis diaria inhalada es difícil de establecer debido a la fácil vaporización de los solventes, al método de abuso, la variabilidad en la frecuencia de inhalación, la cantidad de diluyente inhalado durante cada episodio o las diferentes propiedades físicas de la tela usada (Aydin *et al.*, 2002). Una aproximación es inhalar veinte veces los vapores para producir un periodo de intoxicación aguda por encima de las cinco horas (Edminster & Bayer, 1985), que se pueden repetir varias veces al día y que puedan llevar al usuario a consumir hasta ~30,000 ppm (Campos-Ordóñez *et al.*, 2022).

Los efectos del abuso de solventes en el sistema nervioso central (SNC) son inmediatos y prolongados, induciendo cambios bifásicos en la conducta motora, desde hiperactividad y excitación en dosis bajas hasta ausencia motora y desorientación en dosis altas (Cruz & Bowen, 2021; Campos-Ordoñez *et al.*, 2022). Estas manifestaciones pueden oscilar entre euforia y desinhibición hasta confusión y debilidad (Tormoehlen *et al.*, 2014), e incluso pueden llegar a condiciones más graves con el abuso prolongado, como hipertonía muscular, convulsiones y alteraciones psicomotoras (Ghanizadeh & Mosallai, 2010; Maruff *et al.*, 1998; Ramcharan *et al.*, 2014). La frecuencia de estas conductas aumenta con la duración del abuso (Aydin *et al.*, 2002), y pueden persistir durante periodos de abstinencia (Ghanizadeh & Mosallai, 2010; Joshi & Vankar, 2015; Maruff *et al.*, 1998).

En los estudios conductuales, se ha encontrado que varias de estas sustancias tienen efectos bifásicos en la actividad locomotora: incremento de actividad seguido de un decremento por sus efectos sedativos (Braunscheidel *et al.*, 2019; Campos-Ordoñez *et al.*, 2022). Algunas de las tareas de conducta instrumental usadas han arrojado resultados diferentes al de otras drogas. Por ejemplo, el tolueno produce curvas de descuento probabilístico desplazadas hacia la derecha, a diferencia de las anfetaminas o la cocaína, y en tareas de descuento temporal, su consumo parece modificar la preferencia por alternativas demoradas (Braunscheidel *et al.*, 2017, 2019; Furlong *et al.*, 2016). Es posible que los efectos bifásicos, y el desarrollo de otras conductas estereotípicas, estén interfiriendo con la ejecución en algunas de estas tareas, por lo que es necesario introducir otras mediciones, tales como el seguimiento de la postura (*posture tracking*), en donde las posturas son definidas como un conjunto de medidas en el tiempo que describen la configuración corporal de un animal en tiempo real durante la ejecución (Berman, 2018; Campos-Ordoñez *et al.*, 2022).

Modelos animales para el estudio de los efectos de la inhalación de solventes

Para investigar los efectos de la exposición a solventes orgánicos, se utilizan modelos animales que emulan la exposición recreativa humana, siguiendo tres criterios principales: la inhalación como vía de administración, alta concentración inicial y exposiciones cortas (Cruz & Bowen, 2021). Los sistemas de

exposición para animales replican tanto la exposición ocupacional mediante un sistema dinámico con aire fresco y concentraciones bajas de solvente, como la exposición recreativa a través de un sistema estático con poca ventilación y altas concentraciones de solvente (Cruz & Bowen, 2021). Se ha estudiado la exposición de ratones a altas concentraciones de ciclohexano, seguida de recuperación y evaluación conductual (Bespalov *et al.*, 2003; Campos-Ordoñez *et al.*, 2022; Campos-Ordonez *et al.*, 2019; Nino *et al.*, 2023). No obstante, existen menos estudios sobre los efectos crónicos de estos solventes en la conducta bifásica en animales, con la mayoría enfocándose en la conducta locomotora y en la identificación de déficits funcionales graves mediante la batería de observación funcional (FOB) (Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research, 2003; Van Sluyters & Obernier, 2003).

Diversos estudios han descrito que la exposición a solventes como ciclohexano y tolueno puede inducir en roedores conductas como hiperactividad, comportamiento estereotipado, letargo, ataxia y sedación (Malley *et al.*, 2000; Batis *et al.*, 2010; Samuel-Herter *et al.*, 2014). Además, el uso de la batería de observación funcional (FOB) ha permitido detectar alteraciones en la marcha, la postura y la reactividad sensoriomotora tras la exposición a tricloroetano (Bowen & Balster, 2006). El uso de *software* de código abierto puede ayudar a automatizar y cuantificar algunas de las observaciones de la FOB. Recientemente, se ha utilizado *software* libre para registrar de forma automatizada la conducta locomotora y la conducta estereotipada en ratones expuestos a ~30000 ppm de ciclohexano (Campos-Ordoñez *et al.*, 2022). Este análisis, utilizando DeepLabCut (DLC; Mathis *et al.*, 2020) y rutinas personalizadas en Python (Van Rossum & Drake, 2019), mostró un aumento de la actividad locomotora con el tiempo y el desarrollo de un patrón estereotipado de correr en círculos, cambios conductuales que también se han observado en humanos que inhalan solventes. Estos resultados evidencian la utilidad de los modelos animales para el estudio de los efectos de los solventes inhalados.

En los últimos años, diversas tecnologías gratuitas de visión por computadora basadas en aprendizaje profundo (DL, por sus siglas en inglés, *Deep Learning*) y otros algoritmos gratuitos han facilitado la medición de conductas complejas, de forma automática y sistematizada, como las descritas en el párrafo anterior. En este capítulo se ejemplifica el uso de esta tecnología en datos de la investigación previamente descrita en Campos-Ordoñez *et al.*, (2022)

para detectar patrones de movimiento en ratones expuestos a ciclohexano con algoritmos sofisticados pero transparentes.

Aunque la investigación centrada en el cerebro es sin duda valiosa, realizar inferencias sobre las capacidades psicológicas basadas únicamente en daños cerebrales es problemático y puede llevar a conclusiones erróneas, dado que la correspondencia entre regiones del cerebro y la conducta no es biyectiva, es decir, no es uno a uno (Krakauer *et al.*, 2017). Debido a esto, la investigación minuciosa sobre la conducta y los patrones de movimiento es un paso necesario para un mejor entendimiento de los efectos de los solventes en modelos animales y, en la medida en que dichos modelos nos informen sobre lo que sucede en humanos, para el desarrollo de estrategias más efectivas de mitigación de los daños. Sin embargo, gran parte del *software* para este tipo de análisis es propiedad privada y costoso. Que sea privado tiene varios inconvenientes: complica más el problema de la reproducibilidad en la ciencia e imposibilita hacer modificaciones para usos diferentes (Ince *et al.*, 2012; Tananbaum, 2020; UNESCO, 2021). Que sea costoso lo vuelve inaccesible para muchos investigadores, especialmente en laboratorios con poco presupuesto, condicionando así el avance científico al poder adquisitivo de las instituciones.

Aunque existe una diferencia técnica entre el *software* de código libre y el de código abierto, ambos pertenecen al mismo movimiento y serán tratados de forma indistinta en este trabajo. En este capítulo se revisan algunas de ellas, restringiéndonos a los llamados algoritmos de rastreo de *keypoints*, que son partes anotadas manualmente de un objeto para su rastreo (Weinreb *et al.*, 2023).

¿Qué es el *software* de código abierto?

El *software* de código abierto (OSS, por sus siglas en inglés, *Open Source Software*) permite el estudio, modificación y distribución gratuita de éste (Corbly, 2014; UNESCO, 2021). En ciencia, este *software* debe ser accesible, modificable, legible y, preferentemente, documentado (UNESCO, 2021). El OSS es ventajoso para la ciencia con respecto al hardware y *software* privados, que pueden obstaculizar el desarrollo científico debido a restricciones de uso y distribución, falta de interoperabilidad, obsolescencia y dependencia del proveedor (Tananbaum, 2020; UNESCO, 2021). En contraposición, el OSS promueve la

adaptabilidad y colaboración científica (Escobar & Pérez-Herrera, 2015; Tannbaum, 2020; UNESCO, 2021).

Uso de OSS como herramienta de análisis comportamental en la investigación

El Análisis Experimental de la Conducta (AEC) inicialmente dependía de equipos especializados desarrollados por los propios investigadores, utilizando dispositivos electromecánicos y carpintería casera (Escobar, 2014; Gilroy *et al.*, 2019). Con la estandarización de la investigación en AEC y la llegada de las computadoras y los lenguajes de programación, se creó un mercado para equipos que automatizan tareas tediosas (Gilroy *et al.*, 2019). Sin embargo, estos avances trajeron consigo costos, como el alto precio del hardware y *software* comercial para la psicología experimental (Escobar & Pérez-Herrera, 2015), y la limitación del espacio experimental explorable debido a la dependencia de una tecnología privada que los investigadores ya no eran capaces de modificar (Sosa & Alcalá, 2022).

Muchas conductas relevantes ocurren en entornos naturalistas y son sensibles a restricciones temporales y topográficas, así como a limitaciones biomecánicas de la postura y locomoción (Datta *et al.*, 2019; Gomez-Marin & Ghazanfar, 2019; Liao *et al.*, 2003; Wagman *et al.*, 2019). Esto no implica reemplazar la metodología del Análisis Experimental de la Conducta (AEC), sino extender las mediciones que permiten tecnologías como las cajas operantes y los programas de reforzamiento. Por ejemplo, en un experimento típico, hay conductas exploratorias previas al establecimiento de la contingencia (Cabrera *et al.*, 2013). Al no observar sistemáticamente la conducta no registrada por nuestros dispositivos, se ignoran segmentos importantes de “la vida de la conducta” (Gomez-Marin & Ghazanfar, 2019).

El método preferido para registrar la conducta es la videografía, a menudo por periodos de minutos a horas (Mathis *et al.*, 2020). Sin embargo, la extracción de rasgos conductuales concretos a partir de la captura del movimiento es un problema importante que suele requerir de la anotación manual de conductas por observadores cualificados, o del uso de *software* privado como EthoVision (<https://www.noldus.com/ethovision-xt>), ANY-maze (<https://www.any-maze.com/>) y OF-3C (<https://www.bioseb.com/>) que,

además de las limitaciones mencionadas antes, tienen opciones predefinidas para tareas específicas (e.g., campo abierto, laberinto de Morris, etc.), y no se puede garantizar que funcione para un entorno de laboratorio por lo que en ocasiones debe comprarse también equipo como cámaras o laberintos (González-Gaspar *et al.*, 2021).

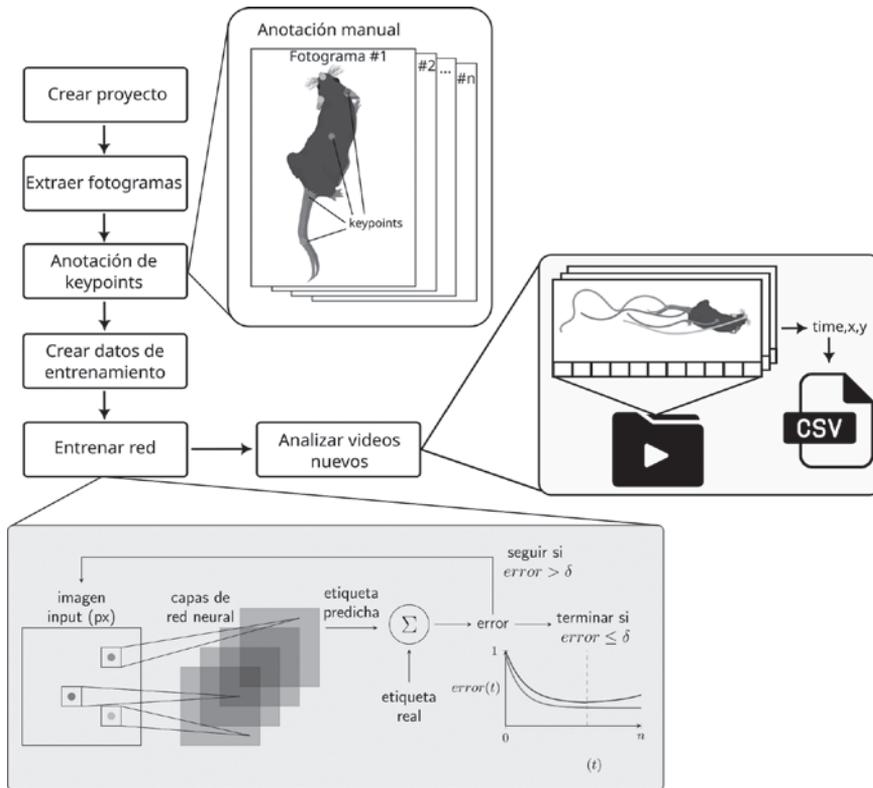
El interés creciente en medir conductas en diversos contextos con resolución temporal de subsegundos ha impulsado el desarrollo de métodos de medición en la neuroetología computacional (Datta *et al.*, 2019; Krakauer *et al.*, 2017). Estos métodos aprovechan la potencia computacional (e.g., procesamiento paralelo en CPUs o GPUS) y algoritmos de ciencia de datos, como DL, debido a la accesibilidad y asequibilidad de videos de calidad, la robustez y precisión en estimaciones de posición, y la facilidad de uso y disponibilidad de algoritmos de DL para visión por computadora (Mathis *et al.*, 2020; Panadeiro *et al.*, 2021).

El oss basado en algoritmos de DL es usado principalmente para la estimación de poses, o *keypoints*, cuyas posiciones en pixeles se rastrean en cada fotograma en el que aparecen en un video (Weinreb *et al.*, 2023). La resolución temporal con la que se rastrean los *keypoints* es el recíproco de la tasa de fotogramas (en fotogramas por segundo, o fps). Por ejemplo, si un video se grabó con 30 fps, la resolución temporal sería de 1/30 s, es decir, tendríamos un fotograma aproximadamente cada 0.033 s.

Una de las mayores ventajas de los algoritmos de detección de *keypoints*, como DeepLabCut (DLC), es que permiten predecir *keypoints* en secuencias de video no utilizadas en el entrenamiento (Mathis *et al.*, 2020). En DLC se entrena una red neuronal para detectar partes específicas de un animal (los *keypoints*), como cabeza, lomo y cola de un ratón, utilizando un conjunto de entrenamiento con anotaciones manuales (ver Figura 1). El entrenamiento se realiza con un subconjunto de fotogramas anotados y otro subconjunto se usa para probar el aprendizaje, midiendo el error de predicción. El entrenamiento se detiene cuando el algoritmo ya no mejora y, una vez entrenada, la red se emplea para predecir *keypoints* en otros fotogramas y videos, un enfoque conocido como aprendizaje por transferencia (Mathis *et al.*, 2018).

Figura 1

Flujo de trabajo para el análisis de video usando algoritmos de estimación de postura (keypoints)

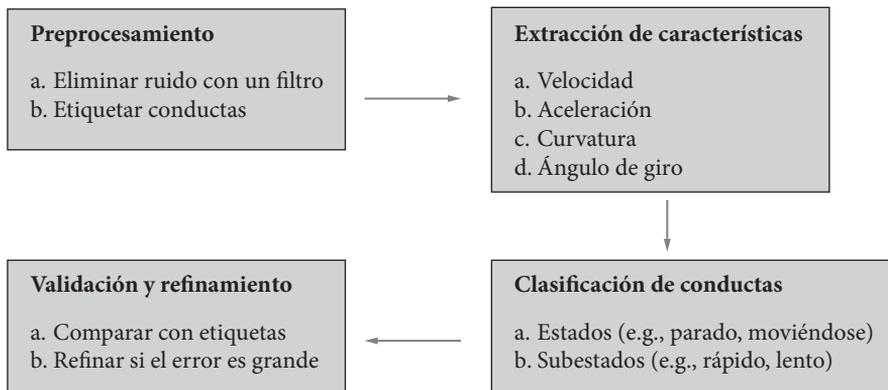


Una vez que los videos han sido analizados y las posiciones de los *keypoints* en el tiempo guardadas, lo que sigue es extraer conductas concretas de las series de tiempo. La forma en la que se haga dependerá del tipo de conducta que se quiere extraer. En general, puede consistir en las etapas mostradas en la Figura 2 (Berman, 2018; Mathis *et al.*, 2020). Antes del análisis, los datos suelen ser filtrados para eliminar ruido. A partir de las posiciones filtradas, se derivan características adicionales como la velocidad y aceleración instantáneas, curvatura y ángulo de giro, que pueden ser interpretadas de manera más intuitiva.

Estas características alimentan algoritmos de clasificación, que se dividen generalmente en supervisados y no supervisados (Weinreb *et al.*, 2023). Los primeros requieren etiquetas manuales de conducta para la comparación, mientras que los segundos son capaces de identificar estructuras subyacentes en los vectores de características sin la necesidad de etiquetas (e.g., velocidades por debajo de un valor pueden ser clasificadas como “parado”; Campos-Ordoñez *et al.*, 2022). Los algoritmos supervisados, aunque requieren más trabajo manual, pueden entrenarse con videos etiquetados y luego aplicarse a videos no etiquetados. Este proceso puede ser apoyado por herramientas de código abierto como Boris (<http://www.boris.unito.it/>), que ayuda a registrar eventos en videos (Friard & Gamba, 2016).

Figura 2

Flujo de trabajo para el análisis de conductas a partir de la estimación de los keypoints



Uso de oss en animales expuestos a inhalantes

Para ejemplificar el uso de *software* libre y abierto, se usaron datos del experimento reportado en Campos-Ordoñez *et al.*, (2022), descrito en una sección anterior, en donde se evaluó el efecto de la exposición crónica a ciclohexano (CHX) comparando un grupo de exposición con uno de control (CTRL). Con el *software* DLC se analizaron los videos y se obtuvieron las coordenadas posicionales de tres *keypoints* (cabeza, espalda y cola) por ratón, durante 30

minutos, con una tasa de fotogramas de 24 fps (ver Figura 1). Se seleccionaron únicamente las posiciones de la cabeza de dos ratones, cada uno perteneciente al grupo experimental. Los vectores de posiciones obtenidos mediante DLC se procesaron con un filtro de Savitzky-Golay, que suaviza una serie de puntos ajustando, de forma sucesiva en subconjuntos de puntos adyacentes, un polinomio de grado menor. Con los datos suavizados, obtuvimos las variables de la Tabla 1 (o, en el argot de la ciencia de datos, características), que también se describieron el flujo de trabajo propuesto en la Figura 2.

Tabla 1
Variables usadas para la estimación de estados

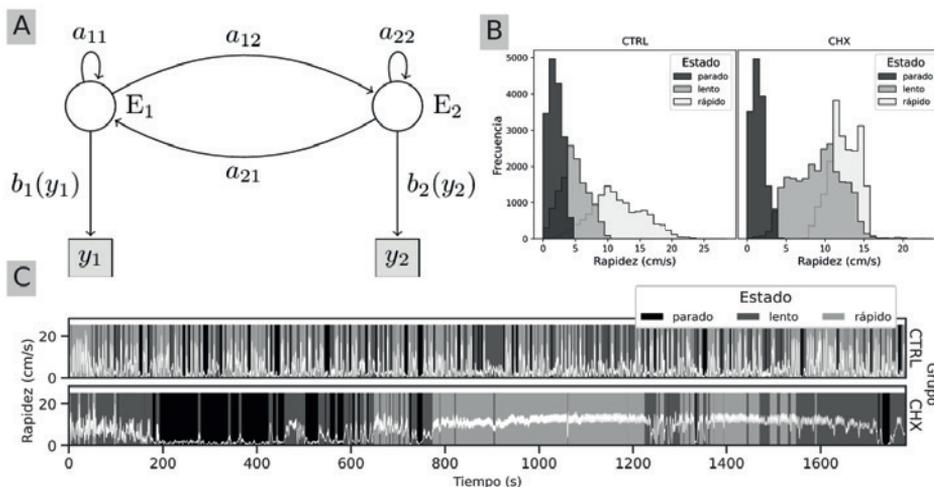
Variable	Descripción	Ecuación
Velocidad en \mathcal{X} , \mathcal{Y}	Cambio en la posición en \mathcal{X} y \mathcal{Y} con respecto al tiempo. Tiene dos componentes: rapidez y dirección.	$v_x = dx/dt,$ $v_y = dy/dt$
Rapidez, $ v $	Magnitud de la velocidad, la tasa de cambio instantáneo de la distancia en cualquier dirección.	$ v = \sqrt{v_x^2 + v_y^2}$
Aceleración en \mathcal{X}	Cambio en la velocidad en \mathcal{X} y \mathcal{Y} con respecto al tiempo.	$a_x = dv_x/dt,$ $a_y = dv_y/dt$
Magnitud de Aceleración, $ a $	Magnitud de la aceleración, o tasa de cambio en la velocidad en cualquier dirección.	$ a = \sqrt{a_x^2 + a_y^2}$
Ángulo de giro	Es el ángulo formado por el vector de aceleración en \mathcal{Y} con respecto a \mathcal{X}	$\theta_{giro} = \arctan(a_y/a_x)$
Dirección	Es el ángulo formado por los vectores de velocidad.	$\theta_{dir} = \arctan(v_y/v_x)$
Cambio en la dirección	Es el cambio en la dirección en momentos consecutivos.	$\Delta\theta_{dir} = \theta_{dir,t+1} - \theta_{dir,t}$
Curvatura	Indica en qué medida una trayectoria difiere de una línea recta.	$\kappa = \frac{v_x \cdot a_y - v_y \cdot a_x}{(v_x^2 + v_y^2)^{\frac{3}{2}}}$

Nota. dx/dt es la primera derivada de \mathcal{X} con respecto al tiempo. Lo mismo para la aceleración

Con estas variables entrenamos un modelo oculto de Markov (HMM, por sus siglas en inglés, *Hidden Markov Model*). Un HMM es un modelo que asume que el sistema a modelar es un proceso de Markov con estados ocultos, o no observables directamente, pero están asociados a una distribución de probabilidad que genera valores observables. La Figura 3 panel A muestra una descripción formal de un HMM con sus constituyentes básicos: los estados, las probabilidades de transición de los estados, los valores observados, y las probabilidades de emisión. Para implementar el HMM se usó `hmmlearn` (Lebedev, 2023).

Figura 3

Modelo oculto de Markov y distribución de la rapidez en diferentes estados estimados



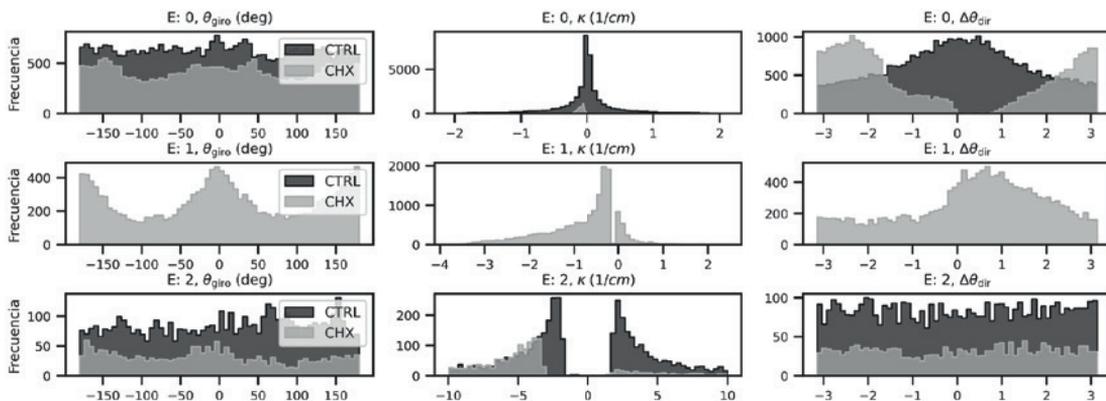
Nota. Panel A: Modelo oculto de Markov con dos estados. a_{ij} es la probabilidad de transición del estado i al estado j (e.g., a_{11} es la probabilidad de permanecer en E_1 , a_{12} de pasar de E_1 a E_2), $b_i(y_k)$ es la probabilidad de observar y_k dado que el estado es i (e.g., $b_1(y_1)$ es la probabilidad de observar y_1 dado que el estado es 1). Panel B: Distribución de la rapidez a través de los estados estimados. En ambos sujetos experimentales la distribución de la rapidez puede dividirse entre “parado” y “moviéndose” alrededor de los 5 cm/s. Panel C: Distribución de los estados estimados (franjitas negras y grises) y rapidez (línea blanca superpuesta sobre las franjitas) con respecto al tiempo. Como puede inferirse de los estados y rapidez del CHX, la mayor parte de su movimiento se ubica en la segunda mitad de la sesión experimental, mientras que para el grupo CTRL está distribuido durante toda la sesión.

Para distinguir entre los estados que describieran únicamente el movimiento se usaron solo tres características: rapidez, magnitud de aceleración y distancia recorrida. El modelo de HMM fue capaz de distinguir entre tres estados de dichas características, que corresponden a tres distribuciones. La Figura 3 panel B muestra cómo se distribuyen dichos estados en el tiempo para cada ratón (CTRL vs CHX). La distancia instantánea (cm/s) recorrida es de la cabeza, y no necesariamente del desplazamiento completo del animal. Por ello, el estado con valores de rapidez más cortos se definió como “parada”, mientras que valores de rapidez mediana y larga se definieron como “lento” y “rápido”, respectivamente. El panel C de la Figura 3 muestra la distribución de los estados como función del tiempo para cada sujeto (representados como áreas negras y grises), y la rapidez, que corresponde con los estados: fue baja para estado “parado”, intermedia para “lento” y alta para “rápido”.

Con las características que pudieran describir mejores patrones de dirección, como curvatura (κ), ángulo de giro (θ_{giro}) y cambio de dirección ($\Delta\theta_{dir}$) se entrenó nuevamente un modelo de HMM, con tres estados como parámetro. La Figura 4 muestra la distribución de las métricas bajo los diferentes estados. La distribución de θ_{giro} parece oscilar entre -180 y 180° , lo que indica que la aceleración cambia de dirección, hacia la izquierda o derecha en los extremos, y hacia arriba o abajo alrededor del 0. En el caso de la κ , el signo indica la dirección: si es positivo, la curva gira en el sentido contra-horario, mientras que una curvatura negativa indica que la curva gira en el sentido de las agujas del reloj. Un valor de 0 indicaría un desplazamiento cercano a una línea recta. El $\Delta\theta_{dir}$ es la diferencia sucesiva del cambio en la dirección de la velocidad. Si su valor es positivo en un momento dado, el cambio es hacia el eje y positivo, es decir, en sentido contra-horario. Para CHX, el estado 0 (primera fila de la Figura 4) se calcularon 196 movimientos circulares, la mayoría en sentido de las manecillas del reloj. También en el estado 0 para el sujeto CTRL tuvo más movimientos circulares (63), pero en el estado 1 no tuvo ninguno, mientras que CHX tuvo 165. En general, estos datos demuestran la utilidad de estas herramientas para detectar y capturar patrones de movimiento sin previo etiquetado en videos largos.

Figura 4

Distribuciones de tres características o variables después de entrenar un modelo de HMM con ellas. Las variables se explican en la Tabla 1



Conclusión

El OSS, como DLC y otras librerías de ciencia de datos mencionadas en este trabajo, además de no tener costos, constituyen una potente alternativa al *software* privado para el análisis de diversas conductas, sobre todo configuraciones experimentales que requieren mediciones complejas, como las que provienen de los modelos animales para el estudio de los efectos de los solventes inhalados. Estas herramientas de fácil acceso no solo prescinden de requerimientos especiales, como laberintos de un fondo de cierto color o cámaras costosas, sino que también amplían las posibilidades experimentales y de análisis de datos. Existen múltiples proyectos, además de los mencionados aquí, como OpenBehavior (<https://edspace.american.edu/openbehavior/>), que promueven la implementación de análisis vanguardistas y fomentan su adopción al hacerlos libres, contando ya con más de 100 proyectos de hardware y *software* abierto que incluyen aparatos conductuales, de medición, análisis de video y análisis de datos. El uso de OSS de visión por computadora y ciencia de datos ayudaría a automatizar y cuantificar algunos ítems de la FOB relacionados con la conducta locomotora y postural de roedores expuestos a inhalantes.

Referencias

- Aydin, K., Sencer, S., Demir, T., Ogel, K., Tunaci, A., & Minareci, O. (2002). Cranial MR Findings in Chronic Toluene Abuse by Inhalation. *AJNR: American Journal of Neuroradiology*, 23(7), 1173-1179.
- Batis, J. C. (2017). Effectiveness of Inhalant Abuse Legislation. *Substance Use & Misuse*, 52(2), 175-181. <https://doi.org/10.1080/10826084.2016.1223135>
- Batis, J. C., Hannigan, J. H., & Bowen, S. E. (2010). Differential effects of inhaled toluene on locomotor activity in adolescent and adult rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 96(4), 438-448. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2010.07.003>
- Berman, G. J. (2018). Measuring behavior across scales. *BMC Biology*, 16(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s12915-018-0494-7>
- Bespalov, A., Sukhotina, I., Medvedev, I., Malyshkin, A., Belozertseva, I., Balster, R., & Zvartau, E. (2003). Facilitation of electrical brain self-stimulation behavior by abused solvents. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 75(1), 199-208. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(03\)00071-6](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(03)00071-6)
- Bowen, S. E., & Balster, R. L. (2006). Tolerance and sensitization to inhaled 1,1,1-trichloroethane in mice: Results from open-field behavior and a functional observational battery. *Psychopharmacology*, 185(4), 405-415. <https://doi.org/10.1007/s00213-006-0335-1>
- Braunscheidel, K. M., Gass, J. T., Mulholland, P. J., Floresco, S. B., & Woodward, J. J. (2017). Persistent cognitive and morphological alterations induced by repeated exposure of adolescent rats to the abused inhalant toluene. *Neurobiology of Learning and Memory*, 144, 136-146. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2017.07.007>
- Braunscheidel, K. M., Okas, M. P., Hoffman, M., Mulholland, P. J., Floresco, S. B., & Woodward, J. J. (2019). The Abused Inhalant Toluene Impairs Medial Prefrontal Cortex Activity and Risk/Reward Decision-Making during a Probabilistic Discounting Task. *Journal of Neuroscience*, 39(46), 9207-9220. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1674-19.2019>
- Cabrera, F., Sanabria, F., Jiménez, Á. A., & Covarrubias, P. (2013). An affordance analysis of unconditioned lever pressing in rats and hamsters. *Behavioural Processes*, 92, 36-46. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2012.10.003>

- Campos-Ordóñez, T., & González-Pérez, O. (2016). Cyclohexane, a Potential Drug of Abuse with Pernicious Effects on the Brain. *Frontiers in Pharmacology*, 6, 291. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00291>
- Campos-Ordóñez, T., Zarate-Lopez, D., Galvez-Contreras, A. Y., Moy-Lopez, N., Guzman-Muniz, J., & González-Pérez, O. (2015). Cyclohexane Produces Behavioral Deficits Associated with Astroglial and Microglial Reactivity in the Adult Hippocampus Mouse Brain. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 35(4), 503-512. <https://doi.org/10.1007/s10571-014-0146-6>
- Campos-Ordóñez, T., Zarate-Lopez, D., Ibarra-Castaneda, N., Buriticá, J., & González-Pérez, O. (2019). Cyclohexane Inhalation Produces Long-Lasting Alterations in the Hippocampal Integrity and Reward-Seeking Behavior in the Adult Mouse. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 39(3), 435-449. <https://doi.org/10.1007/s10571-019-00660-0>
- Campos-Ordóñez, T., Alcalá, E., Ibarra-Castañeda, N., Buriticá, J., & González-Pérez, Ó. (2022). Chronic exposure to cyclohexane induces stereotypic circling, hyperlocomotion, and anxiety-like behavior associated with atypical c-Fos expression in motor- and anxiety-related brain regions. *Behavioural Brain Research*, 418, 113664. <https://doi.org/10.1016/j.BBR.2021.113664>
- Comisión Nacional contra las Adicciones. (2017). Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco, ENCODAT 2016-2017
- Corbly, J. E. (2014). The Free Software Alternative: Freeware, Open Source Software, and Libraries. *Information Technology and Libraries*, 33(3), Article 3. <https://doi.org/10.6017/ital.v33i3.5105>
- Cruz, S. L., & Bowen, S. E. (2021). The last two decades on preclinical and clinical research on inhalant effects. *Neurotoxicology and Teratology*, 87, 106999. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2021.106999>
- Datta, S. R., Anderson, D. J., Branson, K., Perona, P., & Leifer, A. (2019). Computational Neuroethology: A Call to Action. *Neuron*, 104(1), 11-24. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.09.038>
- Edminster, S. C., & Bayer, M. J. (1985). Recreational gasoline sniffing: Acute gasoline intoxication and latent organolead poisoning: Case reports and literature review. *The Journal of Emergency Medicine*, 3(5), 365-370. [https://doi.org/10.1016/0736-4679\(85\)90321-X](https://doi.org/10.1016/0736-4679(85)90321-X)

- Escobar, R. (2014). From relays to microcontrollers: The adoption of technology in operant research. *Revista Mexicana de Análisis de La Conducta*, 40(2), 127-153. <https://doi.org/10.5514/rmac.v40.i2.63673>
- Escobar, R., & Pérez-Herrera, C. A. (2015). Low-cost USB interface for operant research using Arduino and Visual Basic. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 103(2), 427-435. <https://doi.org/10.1002/jeab.135>
- Friard, O., & Gamba, M. (2016). BORIS: A free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. *Methods in Ecology and Evolution*, 7(11), 1325-1330. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12584>
- Furlong, T. M., Duncan, J. R., Corbit, L. H., Rae, C. D., Rowlands, B. D., Maher, A. D., Nasrallah, F. A., Milligan, C. J., Petrou, S., Lawrence, A. J., & Balleine, B. W. (2016). Toluene inhalation in adolescent rats reduces flexible behaviour in adulthood and alters glutamatergic and GABAergic signalling. *Journal of Neurochemistry*, 139(5), 806-822. <https://doi.org/10.1111/jnc.13858>
- Ghanizadeh, A., & Mosallai, S. (2010). A novel possible strategy for the management of petrol sniffing addiction in adolescents. *Case Reports*, 2010, bcr0120102617. <https://doi.org/10.1136/bcr.01.2010.2617>
- Gilroy, S., Kaplan, B., Bullock, C., & Waits, J. (2019). Current use and Development of FOSS in Behavior Analysis: Modern Behavioral Engineering. En *An Introduction to software development for behavior analysts* (pp. 1-22). Brazilian Association of Behavioral Psychology and Medicine.
- Gomez-Marin, A., & Ghazanfar, A. A. (2019). The Life of Behavior. *Neuron*, 104(1), 25-36. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.09.017>
- González-Gaspar, P., Macías-Carballo, M., Cadena-Mejía, T., Landa-Jiménez, M. A., Montes-González, F. M., López-Meraz, M. L., Beltran-Parrazal, L., & Morgado-Valle, C. (2021). Analixity: An open source, low-cost analysis system for the elevated plus maze test, based on computer vision techniques. *Behavioural Processes*, 193, 104539. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2021.104539>
- Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research*. (2003). National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/10732>
- Hurley, R. A., & Taber, K. H. (2015). Occupational Exposure to Solvents: Neuropsychiatric and Imaging Features. *The Journal of Neuropsychiatry and*

- Clinical Neurosciences*, 27(1), 1-6. <https://doi.org/10.1176/appi.neuropsych.270101>
- Ince, D. C., Hatton, L., & Graham-Cumming, J. (2012). The case for open computer programs. *Nature*, 482(7386), Article 7386. <https://doi.org/10.1038/nature10836>
- Joshi, M., & Vankar, G. K. (2015). Gasoline Abuse in a 10-Year-Old Child with Mental Retardation: A Case Report. *Substance Abuse: Research and Treatment*, 9, SART.S20148. <https://doi.org/10.4137/SART.S20148>
- King, M. D., Day, R. E., Oliver, J. S., Lush, M., & Watson, J. M. (1981). Solvent encephalopathy. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 283(6292), 663-665. <https://doi.org/10.1136/bmj.283.6292.663>
- Krakauer, J. W., Ghazanfar, A. A., Gomez-Marin, A., MacIver, M. A., & Poeppel, D. (2017). Neuroscience Needs Behavior: Correcting a Reductionist Bias. *Neuron*, 93(3), 480-490. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2016.12.041>
- Lebedev, S. (2023). Hmmlern (0.3.0). *GitHub*. <https://github.com/hmmlern/hmmlern>
- Liao, J. C., Beal, D. N., Lauder, G. V., & Triantafyllou, M. S. (2003). The Kármán gait: Novel body kinematics of rainbow trout swimming in a vortex street. *Journal of Experimental Biology*, 206(6), 1059-1073. <https://doi.org/10.1242/jeb.00209>
- Malley, L. A., Bamberger, J. R., Stadler, J. C., Elliott, G. S., Hansen, J. F., Chiu, T., Grabowski, J. S., & Pavkov, K. L. (2000). Subchronic Toxicity of Cyclohexane in Rats and Mice by Inhalation Exposure. *Drug and Chemical Toxicology*, 23(4), 513-537. <https://doi.org/10.1081/DCT-100101969>
- Maruff, P., Burns, C. B., Tyler, P., Currie, B. J., & Currie, J. (1998). Neurological and cognitive abnormalities associated with chronic petrol sniffing. *Brain*, 121(10), 1903-1917. <https://doi.org/10.1093/brain/121.10.1903>
- 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), Article 9. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0209-y>
- Mathis, A., Schneider, S., Lauer, J., & Mathis, M. W. (2020). A Primer on Motion Capture with Deep Learning: Principles, Pitfalls, and Perspectives. *Neuron*, 108(1), 44-65. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.09.017>
- Nino, P., Mzia, Z., Nadezhda, J., Yousef, T., Giorgi, L., & Tamar, L. (2023). Short- and long-term effects of chronic toluene exposure on spatial me-

- mory in adolescent and adult male Wistar rats. *Neuroscience Letters*, 805, 137238. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2023.137238>
- Panadeiro, V., Rodriguez, A., Henry, J., Wlodkovic, D., & Andersson, M. (2021). A review of 28 free animal-tracking software applications: Current features and limitations. *Lab Animal*, 50(9), Article 9. <https://doi.org/10.1038/s41684-021-00811-1>
- Ramcharan, K., Ramesar, A., Ramdath, M., Teelucksingh, J., & Gosein, M. (2014). Encephalopathy and Neuropathy due to Glue, Paint Thinner, and Gasoline Sniffing in Trinidad and Tobago-MRI Findings. *Case Reports in Neurological Medicine*, 2014, e850109. <https://doi.org/10.1155/2014/850109>
- SAMHSA. (2020). Key substance use and mental health indicators in the United States: Results from the 2019 National Survey on Drug Use and Health (HHS Publication No. PEP20-07-01-001, NSDUH Series H-55). <https://www.samhsa.gov/data/>
- Samuel-Herter, S. R., Slaght, S. L., & McKay, B. E. (2014). Age-dependent time courses of recovery for motor functions following acute toluene intoxication in rats. *Developmental Psychobiology*, 56(4), 657-673. <https://doi.org/10.1002/dev.21134>
- Sosa, R., & Alcalá, E. (2022). The nervous system as a solution for implementing closed negative feedback control loops. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 117(3), 279-300. <https://doi.org/10.1002/jeab.736>
- Tananbaum, M. M. C., Greg. (2020). We Must Tear Down the Barriers That Impede Scientific Progress. *Scientific American*. <https://www.scientificamerican.com/article/we-must-tear-down-the-barriers-that-impede-scientific-progress/>
- Tormoehlen, L. M., Tekulve, K. J., & Nañagas, K. A. (2014). Hydrocarbon toxicity: A review. *Clinical Toxicology*, 52(5), 479-489. <https://doi.org/10.3109/15563650.2014.923904>
- UNESCO. (2021). *UNESCO Recommendation on Open Science—UNESCO Digital Library*. <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000379949.locale=en>
- Van Rossum, G., & Drake, F. L. (2009). *Python 3 Reference Manual*. Scotts Valley, CA: CreateSpace.
- Wagman, J. B., Lozano, A., Jiménez, Á. A., Covarrubias, P., & Cabrera, F. (2019). Perception of affordances in the animal kingdom and beyond. En I. Zepeda, F. Cabrera, J. A. Camacho, & E. Camacho, *Aproximaciones al*

estudio del comportamiento y sus aplicaciones (pp. 70-108). Universidad de Guadalajara.

Weinreb, C., Osman, M. A. M., Zhang, L., Lin, S., Pearl, J., Annapragada, S., Conlin, E., Gillis, W. F., Jay, M., Shaokai, Y., Mathis, A., Mathis, M. W., Pereira, T., Linderman, S. W., & Datta, S. R. (2023). *Keypoint-MoSeq: Parsing behavior by linking point tracking to pose dynamics* (p. 2023.03.16.532307). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2023.03.16.532307>