



"Uso de inteligencia artificial para el análisis de la expresión facial durante la ingesta de soluciones en ratones C57BL/6"

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A (N)

Samuel Torres Castro

Director

Dr.

Isaac Obed Pérez Martínez

Dictaminadores

Dra.

Ana Lilia García Hernández

Mtra.

Claudia Daniela Montes Ángeles



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice

Agradecimientos.....	3
Resumen.....	4
Abstract.....	5
Introducción.....	6
Antecedentes.....	8
Importancia evolutiva de la expresión facial.....	8
Procesamiento de la expresión facial.....	10
Relación entre la información gustativa y la expresión facial.....	14
Utilidad de sistemas computacionales para el análisis de la expresión facial.....	18
Planteamiento de la problemática.....	19
Justificación.....	20
Pregunta a investigar.....	20
Hipótesis.....	20
Objetivo general.....	21
Objetivos específicos.....	21
Metodología.....	21
Resultados.....	28
Discusión.....	35
Conclusión.....	41
Recursos consultados.....	42
Anexos.....	45

Sección de agradecimientos

Me gustaría agradecer a mis padres por darme el apoyo y la oportunidad para continuar con mi preparación académica y perseguir mi sueño en el área de neurociencias.

A Barbie, por despertar en mí el interés en la investigación científica y alimentar mi curiosidad por el saber de las cosas a través del estudio de la vida.

A mis compañeros del Laboratorio de Investigación Almaraz, quienes son una gran inspiración para mí y han sido de enorme apoyo para desarrollar habilidades enfocadas a la investigación en las ciencias básicas.

A mi tutor de tesis, por guiar mi conocimiento a un mundo del que creía había perdido el interés y que con mucho orgullo me considero su alumno y aprendiz.

A mis sinodales, a quienes considero personas y académicos ejemplares y a quienes siempre les tendré gran admiración y respeto, porque a través de sus enseñanzas me han forjado a ser como soy.

Finalmente, agradezco al PROGRAMA DE APOYO A PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA (PAPIIT) por el financiamiento otorgado al proyecto IN219729 titulado “Búsqueda de los sustratos neuronales que modulan la inhibición de la nocicepción térmica inducida por la ingesta de sustancias hedónicas”.

Resumen

La ingesta de alimentos y sustancias desencadena una compleja actividad celular en la corteza cerebral. Debido a que el reconocimiento y discriminación de sabores ocurre a nivel central es complejo observar los procesos emocionales que provoca el sistema gustativo; sin embargo, recientemente se demostró que con el uso de asistencia tecnológica de una inteligencia artificial es posible discriminar los rastros de la ingesta mediante las expresiones faciales.

Las expresiones faciales son un reflejo del complejo proceso emocional que desencadena la actividad celular en el área motora facial, cada emoción desencadena una gesticulación específica e individual que la visión inteligente de una máquina es capaz de detectar, de esta manera el análisis de las emociones es sencilla y se ofrece como un complemento más para su estudio.

Basados en esta premisa, la incógnita se plantea a manera de si esta inteligencia computacional se puede usar para categorizar la ingesta en un modelo animal y a su vez, detectar expresiones faciales y distinguir entre ellas; ya que siendo así este sistema ofrece facilidad y veracidad al estudio de la emoción y las sensaciones orales para posteriormente ahondar en bases fisiológicas y moleculares sobre la identidad de sustancias.

Para responder a esta pregunta se propuso el uso de un modelo animal en un sistema de semifijación y la exposición a diversas sustancias mientras se videograba el rostro del ratón; posteriormente los videos fueron analizados con la inteligencia artificial y se obtuvieron datos relevantes sobre movimientos faciales y la distinción de estos mismos, lo que nos da pruebas contundentes de que la asistencia artificial distingue expresiones faciales y permite su evaluación cuantitativa.

Abstract

The ingestion of food and substances triggers a complex cellular activity in the cerebral cortex because the recognition and discrimination of flavors occur at the central level; it is complicated to observe the emotional processes that the taste system triggers. However, a recent study carried out by Nadine Gogolla in the year 2020 reveals that through artificial intelligence, it is possible to discriminate traces of ingestion through facial expressions.

Facial expressions reflect the complex emotional process that triggers cellular activity in the facial motor area; each emotion triggers a specific and individual gesticulation that the intelligent vision of a machine is capable of detecting. In this way, the study of emotions is simple and offers one more complement to your study.

Based on this premise, the question arises as to whether this computational intelligence can be used to categorize the intake in an animal model and turn, detect facial expressions and distinguish between them; this system offers ease and truthfulness to the study of emotion and oral sensations to later delve into physiological and molecular bases on the identity of substances.

To answer this question, the use of an animal model in a semi-fixation system and exposure to various substances while videotaping the mouse's face was proposed; subsequently, the videos were analyzed with artificial intelligence and relevant data on facial movements and their distinction were obtained, which gives us conclusive evidence that artificial assistance distinguishes facial expressions and allows their quantitative evaluation.

Introducción

Hace mucho tiempo, Sócrates, uno de los filósofos más importantes de Grecia expresó uno de sus pensamientos que quedaron grabados a través de la historia de las relaciones humanas: “El conocimiento es la búsqueda del saber y con él, del mejor vivir, de la virtud y del fin único, común y supremo: el bien (Platón, reimpresión de 2014). En este texto se plantea realizar un detallado análisis del comportamiento de uno de los rasgos comunes, sin embargo, misteriosos del ser humano: las emociones externadas a través de las expresiones faciales. La finalidad, al igual que la ideología del filósofo griego es la búsqueda del saber y su difusión en virtud de un bien colectivo.

La investigación de las emociones, expresiones faciales y su relación con procesos neuronales son relativamente recientes pero la historia nos remonta a la primera literatura científica redactada por Sir Charles Bell (anatomista Escocés) en su texto titulado: “Anatomy and Philosophy of Expression” en donde remarca hallazgos de la mecánica del movimiento facial, llevada a cabo por musculatura, pero controlada por haces inervados desde la masa cerebral (1844). A pesar de la contribución de Sir Charles, aún había mucho por determinar.

Las famosas descripciones de Charles Darwin (también influenciadas por Sir Bell) redactadas en 1878 sobre el estudio de las expresiones faciales en animales y demás gesticulaciones corporales durante la comunicación motivaron las investigaciones de Paul Ekman y cols en 1993 sobre el estudio del origen de las emociones en humanos; Ekman describió que la gesticulación facial espontánea mostraba patrones de movimiento y latencia similares entre personas de diferentes culturas de diferentes lugares en el mundo (Ekman & Friesen, 1976, 1978) lo cual establece al estudio de la expresión facial como algo universal.

Asimismo, Ekman argumenta que el estudio de las emociones aporta conocimientos en el campo clínico, para las áreas psicológicas y las ciencias

sociales, siendo el rostro de los individuos el principal interés como muestra de lenguaje no verbal, ya que es un indicador de comportamiento.

Más tarde, se descubrió que las sensaciones corporales son percibidas a través de entradas o aferencias nerviosas desde tejidos de la periferia hasta el sistema nervioso central y que este sistema es compartido entre los mamíferos (Craig, A. 2002). Esto es un descubrimiento interesante porque significó que los procesos ligados a emociones descritos con anterioridad (Craig, A. D. 1996) y su representación en los cambios faciales pueden ser estudiados a través de animales, así pues, se da entrada a la práctica con modelos animales con propósito científico en el campo de las neurociencias del movimiento orofacial.

Después, Robert Morecraft en 2005, describe dos rutas neuroanatómicas para el movimiento facial: primero, una ruta a través del núcleo facial en el encéfalo, que regula el movimiento facial espontáneo o emocional; y en segundo, los movimientos voluntarios pueden producirse mediante la actividad en el área de representación facial de la corteza motora, posteriormente al núcleo motor facial y finalmente llevado fuera del cráneo mediante haces de nervios pertenecientes al par craneal facial (VII). Sin embargo, las interrogantes surgen sobre la evolución de las expresiones faciales, las cuáles se han visto ligadas a la primera vía de expresión facial como una evidencia de sistemas de supervivencia primitiva (Sherwood CC, 2005).

Por otro lado, la manipulación de un mamífero cercano al humano, como el primate para la investigación científica representa un gasto económico, logístico y de mantenimiento del animal mayor al de un animal pequeño, es por eso que una vez más, bajo hipótesis de Darwin de que las emociones son universales en las especies animales, Langford en 2010 realizó experimentos con ratones expuestos a estímulos dolorosos en los que demostró el cambio en la musculatura facial del ratón, con movimiento en la posición de las orejas, la nariz, bigotes y boca, así como el cierre o apertura del ojo.

Posteriormente, Wang (2018) condujo un experimento en el que demostró que la identidad de sabores está relacionada con el comportamiento en ratón, y en el que argumenta que la amígdala es una región con actividad cuando se ingiere una sustancia agradable (dulce) o una desagradable (amarga). Este descubrimiento es muy importante porque ya se había descrito que la amígdala, en conjunto con la corteza insular son regiones implicadas en el procesamiento de emociones en humanos (Beyeler, A. C. 2018, Cai, H. 2014), entonces se comprueba una vez más las similitudes que el ser humano comparte con los ratones de laboratorio.

Es así como Dolensek, en el año de 2020 analizó la relación de las expresiones faciales en ratones cuando eran expuestos a estimulaciones agradables o desagradables y su manipulación a través de la estimulación de la corteza insular, demostrando que las expresiones faciales son indicadoras de emoción, valencia (gusto o disgusto) y son un reflejo del estado interno del roedor.

A pesar de todos los avances en el estudio de las expresiones faciales, aún se desconoce si el análisis facial nos permite estudiar elementos finos de la ingesta como la masticación, deglución, movimientos de la lengua, laringe y faringe o inclusive el movimiento de bigotes y constricción de los párpados que reflejen valor emocional por parte del animal. Por lo que este trabajo se enfocó en abordar la disección funcional de la estimulación gustativa desde las expresiones faciales, introduciendo una nueva estimulación de la que se hablará más adelante.

Antecedentes

Importancia evolutiva de la expresión facial

En la actualidad la comunicación entre humanos es esencial para una existencia próspera, con calidad de vida y la subsistencia en comunidad; las adaptaciones sociales del lenguaje humano permiten la posesión y utilización de habilidades sensitivas, cognitivas y motoras (de las cuales se describirán más adelante) que

propician la evolución sobre el comportamiento de un ser (Aristóteles, reimpresión de 2004).

El lenguaje hablado, escrito y gesticulado se ha convertido en la principal ventana a la convivencia no solo entre personas, sino que, también con otras y entre otras especies con propósitos evolutivos ya sea para ahuyentar a otros seres vivos (como en el reino animal cuando una presa ahuyenta a un depredador o cuando una persona refleja que desea alejar a otra que le parezca poco confiable) o acercar a unos (cuando se busca una pareja de apareamiento o en el ámbito humano cuando se desea convivir con alguien), de preservación (un llamado de auxilio) o para fraternizar (para vivir dentro de una comunidad) (et. al. Darwin, 1845).

A pesar de que el trasfondo evolutivo de esta conducta se ha estudiado y aprovechado desde antiguas civilizaciones como la Maya, en la que se colocaban artefactos y modificaciones corporales en los cuerpos de guerreros para hacerlos parecer feroces e imparables, hasta ahora con científicos trabajando con tecnologías de reconocimiento facial para la obtención de información sobre un ser vivo, todavía existen preguntas sin respuesta y la búsqueda de ese conocimiento precisa comprensión de mecanismos fisiológicos en las ramas médicas, ya sea desde la percepción de estímulos, procesamiento cerebral y la reactividad de un individuo (Duchenne De Boulogne, 1990).

Durante sus viajes a parajes remotos, Charles Darwin pudo apreciar la especiación evolutiva de muchas especies animales, pero también del ser humano, visitando asentamientos en lugares poco conocidos como lo fueron Las Islas Malvinas al sur del continente americano, lo que le permitió redactar las fascinantes descripciones sobre la invención natural del lenguaje como mecanismo de defensa, de comunicación y de supervivencia de los seres vivos. (et. al. Darwin, 1845).

En su libro “La expresión de la emoción en el hombre y animales” Darwin (et. al. 1872) describe que para aquellos seres sensibles a la luz y el reflejo de esta sobre

objetos (mejor conocida como el sentido de la vista) fue de vital importancia para los animales mejor evolucionados pues el reconocimiento de formas y figuras presentaba una adaptación para buscar alimentos llamativos y también a seres similares para formar una comunidad; hembras, presas, refugios, depredadores y de manera importante: reconocer emociones.

Para Charles Darwin (et. al, 1872) el lenguaje insonoro, actuado o gesticulado era primitivo e inclusive predecía al sonoro debido a la percepción visual. Se teoriza que las expresiones faciales expresaban el estado interno de los animales para advertir a otros o avisar cuando una experiencia era desagradable u agradable, de igual manera, la observación del sufrimiento o padecimiento reflejaba la necesidad de ayuda o de susceptibilidad para ser capturada por un depredador, pero también, por ejemplo, del placer de consumir alimento agradable.

Sin embargo, inclusive para Darwin la observación e interpretación de las emociones es complicado y lo expresó de la siguiente manera “Cuando somos testigos de una emoción profunda, nuestra simpatía se excita con tanta fuerza que la observación atenta se olvida o se vuelve casi imposible; de lo cual he tenido muchas pruebas curiosas. Nuestra imaginación es otra fuente de error aún más grave; porque si por la naturaleza de las circunstancias esperamos ver alguna expresión, fácilmente imaginamos su presencia” (et. al, 1872). Por un lado, Darwin expresa la importancia de la comunicación por medio de gestos faciales de un animal que habita en un contexto social y por otro la interpretación de estos, pues la composición y comprensión del lenguaje depende de la región, población y sociedad en la que se vive, además de factores intrínsecos (descritos más adelante en este texto).

En la actualidad, las expresiones faciales son un lenguaje empleado para comunicarse con otros o reforzar un mensaje hablado y expresan emociones como la felicidad, sorpresa, desprecio, tristeza, disgusto, enojo y miedo (Matsumoto, 2008) y yacen de la habilidad innata de contraer la musculatura facial para expresar

cada una de las expresiones con características únicas que denotan el tipo de emoción.

Procesamiento de la expresión facial

A pesar de las grandes contribuciones que desencadenaría el estudio de las expresiones faciales en los campos psicológicos y sociales, aún se desconocían la fisiología de un movimiento facial, su razón de movimiento y su significado. Sir Charles Bell (1844), relata sus experimentos llevados a cabo en cadáveres humanos a los que estimulaba con ligeras descargas eléctricas los músculos faciales, concentrándose por áreas anatómicas, tercio superior, tercio medio y tercio inferior de la cara, lo que lo llevó a descubrir que son inervados por un solo haz de nervio que se irradiaba a todo el rostro a medida que se centralizaba (actualmente a ese haz se le conoce como séptimo par craneal o nervio facial).

Casi 100 años después las investigaciones de Duchenne de Boulogne mediante disección y estimulación eléctrica muscular facial remarcaban que la contracción muscular por grupos o en ciertas áreas de la cara daba cabida a una expresión facial en particular y a una emoción propia de esa expresión, así como la combinación de la contracción de músculos y distensión de otros daban resultado más recalcantes de una emoción. Sin embargo, el equipo tecnológico a disposición hacía desconocido el origen o área cerebral que daba principio a la contracción muscular facial.

Estas investigaciones causaron una búsqueda científica sobre las expresiones faciales, iniciando con Robert E. Miller (1958) que estudió el fenómeno del lenguaje emocional a través de las expresiones faciales, sin embargo, para demostrar que este lenguaje es compartido por la mayoría de mamíferos como los primates y humanos se usaron monos para el experimento; el entrenamiento consistió en colocar un mono observador sobre un mono siendo castigado con descargas eléctricas, al mono castigado se le enseñaba a presionar una palanca

para detener el estímulo doloroso y se observaba el comportamiento del mono espectador, sin embargo, para el experimento se cambiaron los lugares de los monos, ahora el espectador es el mono castigado y el que era castigado es el espectador pero ahora con la palanca que detenía el castigo a su alcance. De manera importante observaron que el espectador detenía el estímulo doloroso de su compañero a pesar de que él no estaba en sufrimiento; además los investigadores hicieron un registro fotográfico de los animales al mismo tiempo del castigo y descubrieron que las expresiones faciales de ambos eran similares.

Lo anterior demostró que existe un mecanismo de defensa que desencadena respuestas observables de primate en sufrimiento y la necesidad de otro por detener el sufrimiento. Además de que las expresiones faciales funcionan como un detonador clave para pedir ayuda y que el estado interno de un animal puede ser similar cuando se observa a un compañero sufrir al grado de expresar el mismo sufrimiento a través de una facie.

Más tarde una investigación realizada por Paul Ekman (et. al. 1993) un importante expedicionista y científico que dedicó gran parte de su vida al estudio de las emociones y las expresiones faciales, con importantes textos sobre el estudio del origen de las emociones, explicó que los estímulos que detonan la gesticulación facial espontánea son similares entre personas de diferentes culturas (et. al. Ekman & Friesen, 1976, 1978) lo cual establece al estudio de la expresión facial como algo universal. Ekman argumenta que el estudio de las emociones recae en el rostro de los individuos como principal interés de muestra de lenguaje no verbal y un indicador de estados internos del organismo.

Más tarde, en el año de 1999 Susan Y. Bookheimer describió que los animales comparten un primitivo sistema neuronal en el que el procesamiento de las emociones como el miedo y enojo se expresan de manera similar como en el humano; actualmente la amígdala es reconocida como el centro de integración y discriminador de emociones (en su mayoría) (Miho Soma, 2009) por lo que se planteó que la amígdala regula emociones de ratones de una manera equivalente

al humano. Esto representó un gran avance en las ciencias neuronales y psicológicas puesto a que abrió un nuevo y extenso campo de estudio para asimilar diversas conductas o comportamientos patológicos del humano sin la necesidad de estudiarlos en pacientes y desarrollar modelos animales (et. al. Miho Soma, 2009).

Procesamiento de la información gustativa

Cabe añadir que la conexión de las emociones con la expresión facial estaba más que establecida desde los tiempos de Duchenne de Boulogne, el médico que publicó grandes pensamientos y avances en la electrofisiología del sistema nervioso en el hombre. Tal vez su más grande obra: "*Mécanisme de la physionomie humaine*" (et. al. 1990) contiene una de las conclusiones más importantes de la neurofisiología y es que sus casos trazan los orígenes y desafíos de la idea según la cual las emociones se expresan principalmente en el rostro, y se identifican con la captura instantánea de la fotografía.

Por consiguiente, se introduce la base para el estudio de la emoción a través de la categorización de las expresiones faciales y es que el poder observar la actividad neuronal a través del movimiento exterior de la cara de animales o en humanos es facilitado a través del lente de una cámara y su procesamiento digital.

Este pensamiento llevó a Nadine Gogolla, una investigadora del departamento de Circuitos de la Emoción del Instituto de Neurobiología Max Planck, en Alemania, a utilizar un algoritmo de inteligencia artificial que describe imágenes mediante el cálculo de gradientes dependientes de la orientación en un plano cartesiano, tomando en cuenta el eje entre "X" y "Y" al centro de un pixel y a los 4 pixeles directamente rodeantes que dependiendo de su oscuridad dibuja una línea y el ángulo resultante que contiene una valoración en grados es representado de manera numérica, a este proceso se le llama Histograma de Gradientes Orientados o HOG por sus siglas en inglés (N. Dalal and B. Triggs, 2005), un algoritmo que por su carácter se le define como "*Machine/Computer Vision*", una variante de la inteligencia artificial.

De esa manera el equipo de Nadine (et. al. 2020) implementó el algoritmo en videograbaciones de ratones sometidos a diferentes estimulaciones para clasificar las emociones con base en las características individuales de cada expresión facial a lo largo de 2 segundos. Para las estimulaciones dolorosas con una descarga eléctrica en la cola; para el desagrado, con lo amargo del sabor a quinina, para el placer, con lo dulce de una solución de sacarosa; para el malestar, con una inyección intraperitoneal de ácido acético, para el miedo con la sensación de escape (miedo activo) y miedo con la sensación de congelamiento (miedo pasivo).

De manera impactante, el algoritmo logró captar las diferencias en las expresiones del ratón, desde que estaba en una expresión neutral, hasta el momento de la estimulación; este estudio es el primero en utilizar la asistencia de una inteligencia artificial para la discriminación de expresiones faciales en un ratón, algo sin precedentes y sumamente importante en el campo de las relaciones sociales, quizá hasta entre diferentes especies (los humanos que son los observadores y los ratones que son la población experimental).

Dado que un video está compuesto por la captura continua de imágenes, el algoritmo se modificó para obtener los HOG de todas las imágenes obtenidas y dado que la máquina hace este proceso completamente por sí misma se le denomina "*Machine Learning*" debido a que el entrenamiento que tiene es suficiente para obtener todos estos valores y graficarlos sin el juicio, intervención o vigilancia de los investigadores.

Es importante recalcar que los experimentos que Nadine y sus compañeros llevaron a cabo se realizaron tomando en cuenta el trasfondo de estudiar los movimientos faciales que denotan las emociones y como en su artículo lo menciona: "las expresiones faciales son reflejos sensitivos de procesos emocionales internos, lo que corresponde a actividad cerebral, por lo tanto, se asume que las expresiones faciales tienen una directa conexión con el procesamiento de la emoción". Esto es muy importante debido a que el estudio del sumario emocional puede ser estudiado usando inteligencia artificial y tener resultados precisos.

Relación entre la información gustativa y la expresión facial

Lo que nos lleva a discutir un punto muy importante: las estimulaciones con sustancias líquidas de manera oral son suficientes para generar una expresión facial, pero esta idea es clásica, puesto que precede a estudios como el de Harvey J. Grill (1978) que usó un experimento en el que estudiaba movimientos musculares de ratas cuando se les proporcionaba una sustancia agradable y una que no lo era. Excursión de la lengua y sus movimientos fuera de la boca, apertura mandibular y tensión del músculo masetero, así como el movimiento de los labios difieren cuando el animal consume una sustancia placentera como la sacarosa a una sustancia desagradable como la amarga quinina.

El estudio de Harvey J. Grill (et. al.1978) demuestra que los movimientos involucrados en la ingesta de soluciones difieren dependiendo de la sustancia a probar y ahora sabemos que estos movimientos forman parte de una expresión facial. Pero, esta propuesta despertó la curiosidad de saber sobre los patrones de ingesta de una sustancia de sabor desagradable pero que produce adicción como: el etanol. Paula J. Bice y Stephen W. Kiefe en 1990 llevaron a cabo un experimento en el que contabilizaron el número de movimientos orales realizados por ratas que preferían el sabor del alcohol a ratas que no lo preferían y de manera interesante los movimientos de aquellas que no lo preferían eran menos de las ratas preferentes lo que significa que hacían menos actividad con la meta de evitar ingerir el líquido consumido, esta respuesta también puede ser considerada una expresión facial de rechazo.

Debido a estas circunstancias, se quería entender la razón por la que en los humanos a pesar de que el alcohol tiene un sabor amargo, no genera rechazo y se consume en cantidades grandes, e incluso su consumo recurrente puede conducir a estados patológicos como la ebriedad, hepatitis y en casos lamentables la muerte.

Por lo que se estudiaron patrones de consumo, palatabilidad, interacciones con el sistema nervioso central y comportamiento a través de modelos animales (Stephen W. Kiefer, 1995 y 1998). En sus resultados relatan que los animales encuentran palatable el sabor de una solución con alcohol, inclusive en altas concentraciones, al que ya fueron previamente expuestos con la solución, es decir, que se necesita de un consumo previo al alcohol para que posteriormente su consumo sea frecuente, además sugirieron que la palatabilidad del etanol en estos modelos ya que tienden a disminuir sus movimientos orales de rechazo a la sustancia, es decir, tienen movimientos en donde procuran la ingesta de la solución y no su extrusión, a comparación de la sustancia quinina, en donde tienen respuestas aversivas o de rechazo y la solución es expulsada de la cavidad oral (Kiefer et al., 1998).

Christian H. Lemon (2004) y sus colaboradores, quienes se enfocaron en estudiar las interacciones entre los componentes moleculares del sabor del alcohol con los receptores gustativos en las células que se distribuyen en la cavidad oral. Finalmente descubrieron que una concentración de al menos 40% de etanol en agua activa neuronas de la misma manera que una solución dulce de sacarosa al 0.5 molar en agua; este avance es muy importante porque presenta una base para el estudio de la predisposición al alcoholismo de un individuo basándose en los genes que codifican receptores gustativos sensibles a dos sustancias diferentes pero que son reconocidas de manera placentera en su sabor.

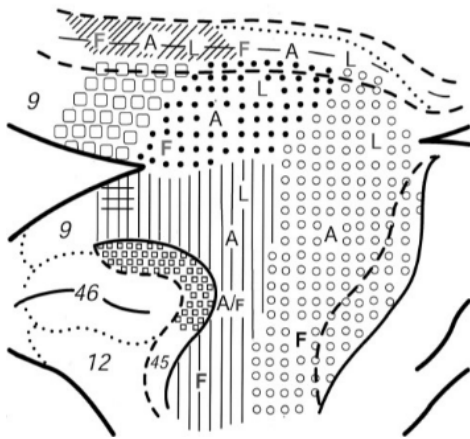


Fig. 2 Corteza motora del ratón. En este esquema de la región motora del cerebro del animal se ejemplifica la distribución de los haces nerviosos eferentes (letras F mayúsculas), llevados hasta la cara por el nervio facial.

Imagen tomada del autor Morecraft, R. J., 2004.

Empezando por el sistema gustativo, las estructuras encargadas de percibir los sabores son los botones gustativos, encontrados principalmente en la lengua, paladar, en una menor porción faríngea y en una mínima porción la laringea (T. J. Hará, 2011), en ellos se encuentran receptores de membrana celular sensibles a la gran variedad de sabores y propiedades de la materia (dulce, amargo, salado, umami, ácido) que a través de canales iónicos y de transporte transmembrana permiten el reconocimiento de sustancias como un mecanismo de supervivencia, para permitir el paso de alimento si es agradable u obstruir si es desagradable (Delmas, 2020).

Los potenciales de acción generados por las células en los botones gustativos son percibidos por las ramas terminales de los nervios Glossofaríngeo (IX), Vago (X), Facial (VII) al Núcleo Solitario, encontrado en el Tallo Encefálico, después las fibras nerviosas se decusan y se dirigen a la Corteza Gustativa, ubicada en el lóbulo Parietal (Obiefuna S, 2021). Posteriormente la distribución de estos potenciales de acción se distribuye a una región cerebral principal en el procesamiento de la información y generar memoria, rechazo o aceptación, placer y control motor (es decir, los caracteres de una emoción): La Corteza Insular (Ichiro Matsumoto, 2013)

La corteza insular es una región en la corteza cerebral involucrada en el procesamiento sensorial, la representación de emociones (sentimientos en humanos), control autónomo, motor, predicción de riesgos, toma de decisiones, conciencia corporal y funciones complejas como la empatía (Nadine Gogolla, 2017). Esta región está conectada con los circuitos motores que controlan los músculos de la cara (Robert J. Morecraft, 2004)

Además, hay descripciones del circuito motor facial en el que presenta una ruta o circuito neuronal: a través del núcleo facial en el encéfalo y se exterioriza del cráneo a través de los forámenes circunvalantes al foramen auditivo para finalizar en la extensión de los músculos faciales. De esa manera se regula el movimiento facial espontáneo y del que se teoriza está ligado al proceso emocional directo, en otras palabras, esta vía es similar a la de un arco reflejo, en la que la información aferente es asimilada de manera aguda que la respuesta es casi autónoma y no requiere de procesamientos secundarios (Sherwood CC, 2005).

Utilidad de sistemas computacionales para el análisis de la expresión facial

La finalidad de esta tesis es representar las evidencias encontradas gracias al uso de inteligencia artificial que mediante cálculos matemáticos (descritos más adelante en este texto) nos proporcionó información cuantitativa de un video con caracteres cualitativos y que es de apoyo en el estudio de las emociones, principalmente aquellas allegadas a estímulos gustativos. Cabe señalar que la experimentación se realizó en un modelo animal (ratón de la cepa C57BL/6) un gran aliado en las ciencias básicas.

De igual manera presentar resultados sobre la ingesta de sustancias que tienen interacciones emocionales con un ratón sediento y que expresa complejos gestos faciales, tales como: placer y disgusto, logrados a partir de la exposición a gotas de soluciones de sacarosa (0.5 molar) etanol (solución en agua al 10%) agua y quinina (solución en agua al 10%); con el objetivo de estudiar detalles de la

gesticulación facial mediante la implementación de una inteligencia artificial similar a la que el investigador Nadine Gogolla (et. al. 2020) usó.

Planteamiento del problema

Las emociones son un reflejo de la actividad cerebral en respuesta a experiencias, procesos hormonales y procesos cognitivos como los estándares de comportamiento (hábitos) y las respuestas autónomas. Las emociones también son parte del lenguaje no verbal a través gestos faciales que ayudan a preservar la supervivencia durante momentos importantes en el desarrollo de un animal como lo es la ingesta. A pesar de ser complejo el mecanismo neuronal que evoca una expresión facial cuando se inicia el proceso digestivo en la boca y de deglución en la laringe y faringe, las emociones pueden ser estudiadas desde una perspectiva externa. Las expresiones faciales que fulguran el proceso de estimulación gustativa y de la deglución son complicadas de descifrar, debido a esto, se requiere de asistencia tecnológica para detectar patrones de movimiento que nos indiquen el reconocimiento de la sustancia ingerida desde su trayecto en la lengua hasta la faringe.

Justificación

Actualmente en México existen pocas investigaciones enfocadas al estudio y análisis de las expresiones faciales, su relación con las emociones y los procesos cognitivos. Sin embargo, con un nuevo abordaje es más sencillo y útil estudiar los distintos estados de la emoción, desde la presentación del estímulo hasta la respuesta facial que representa: valencia, duración y flexibilidad de una sustancia ingerida. Es por ello que este estudio se enfoca en la implementación de un método de análisis de expresiones faciales de exámenes de fotogramas experimentales en un modelo murino sometido al consumo de diversas soluciones. El estudio de las expresiones faciales nos permitirá abordar en un futuro preguntas muy importantes

para las ciencias médicas y odontológicas sobre neurobiología del dolor, de la percepción gustativa y del procesamiento fisiológico de pares craneales para la búsqueda de blancos terapéuticos para enfermedades asociadas a estos procesos.

Pregunta de investigación

¿El análisis de expresiones faciales usando algoritmos aplicados en la inteligencia artificial para examinar videos de experimentos en ratones, proveerán los elementos suficientes para diseccionar emociones y movimientos asociados a la ingesta y estimulación oral?

Hipótesis

El análisis de fotogramas por medio de algoritmos usados en inteligencia artificial exterioriza los cambios faciales durante el proceso de percepción gustativa ligado a discriminación emocional.

Objetivo general

Usar algoritmos computacionales aplicados al análisis facial para analizar vídeos de ratones C57BL/6 bajo la estimulación con distintas soluciones para reconocer gesticulaciones faciales durante la ingesta.

Objetivos específicos

- Caracterizar la digitalización de los videos del área orofacial del ratón en un sistema de videografía.

- Precisar el tiempo en el que comienza la ingesta de cada una de las soluciones para obtener los cuadros por segundo de interés, y analizarlos por medio del *machine vision*.
- Analizar con el algoritmo los HOGs de interés, graficarlos y presentarlos en mapas de correlación que discriminen la relación entre la estimulación oral y la respuesta facial.

Materiales y métodos

Animales

Para este estudio el cuidado de los animales, así como su manipulación o interacción se llevaron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999), avalados por la Comisión de Bioseguridad y de Ética de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la Universidad Nacional Autónoma de México (Oficio CE/FESI/092020/1369) como parte del proyecto “Uso de inteligencia artificial para el análisis de la expresión facial durante la ingesta de soluciones en ratones C57BL/6.”

Se utilizaron 7 ratones, 3 hembras y 4 machos. Después de su nacimiento se dejaron con la progenitora para cuidado y alimentación, posteriormente se habituaron en cajas individuales de acrílico transparente con aserrín esparcido en la base, la comida y agua fueron de acceso libre. A partir de la sexta semana de edad, se inició la primera fase del estudio que requiere una cirugía para la colocación de un aditamento para familiarizarlos a un sistema de cabeza fija.

Cirugía estereotáxica

Para la implantación del aditamento al cráneo del ratón se anestesiaron con una fórmula de Ketamina 80 mg/kg con Xilacina 5 mg/kg de manera intraperitoneal. Se colocaron en un aparato estereotáxico que permite fijar a través de los incisivos y las cuencas auditivas la cabeza del animal y así fijar el dispositivo. Se procedió a

cortar y debridar la piel que recubre el cráneo, limpiar la zona con algodón, después se colocó adhesivo a base de silano y se colocó el aditamento. En los bordes de la unión se coloca cemento dental Ketac™ Molar Easy Mix. Finalmente se removió al ratón del aparato estereotáxico y se reubicó en su caja para su recuperación.

Estimulación con sabores

Para estudiar 4 expresiones faciales y su relación con la ingesta se decidió privar a los ratones de agua una noche antes a la prueba para asegurar la motivación del animal a consumir líquidos. Las soluciones que se administraron durante la prueba fueron agua que representa un estado basal, sacarosa una solución dulce relacionada a una expresión facial placentera, quinina una sustancia amarga que representa disgusto y etanol. Las soluciones fueron entregadas aleatoriamente a través de jeringas individuales con una aguja curvada y con la punta pulida y sin filo

Videos

Se obtuvieron 35 videos de ratones de la cepa C57BL/6, 3 hembras y 4 machos. Se formaron grupos de 5 días de trabajo experimental. Cada video tiene una duración de 22 minutos en los cuáles se videograbó a los ratones en un sistema de cabeza fija con una esfera de unicel móvil en las patas para permitir el libre movimiento y el momento en el que se administra una gota de solución aleatoria cada 60 segundos hasta completar 20 entregas.

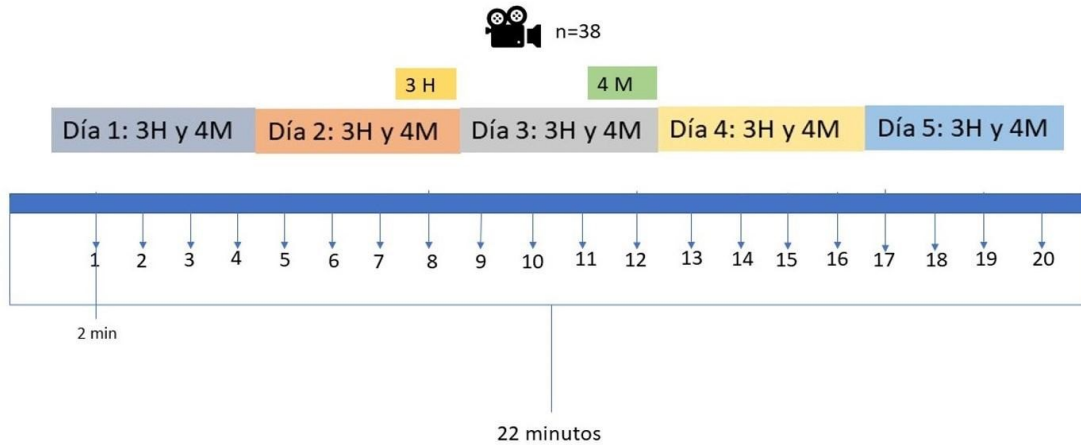


Fig.3. Contenido de los videos. En la parte superior un ícono de video demuestra el número de elementos obtenidos (38 videos). En los recuadros debajo los grupos de ratones divididos por sexo (3 hembras y 4 machos). Abajo, los 6 cuadros de colores dividen grupos por días de grabación y los grupos de ratones por sexo que se encuentran en ellos. En la parte inferior, la línea de color azul representa una línea de tiempo total de 22 minutos y la numeración en ella representa la entrega de las soluciones aleatorias por minuto al ratón; “1” representa el inicio de la primera entrega que inicia en el minuto 2 y “20” la última entrega de la solución en el minuto 21.

Análisis de expresión facial

Set de filmación

Los videos obtenidos muestran a los ratones desde la punta de la nariz hasta la parte delantera de las patas traseras, ya que la unidad de grabación se encontraba a 45° con respecto al ojo de los animales se compilaron videos del perfil derecho del animal. Para evitar las diferencias de fondo y del ambiente, el sistema de cabeza fija se colocó en una misma posición para las 35 grabaciones, la iluminación fue la misma y se colocaron hojas de papel blancas alrededor del ratón para distinguirlo mejor.

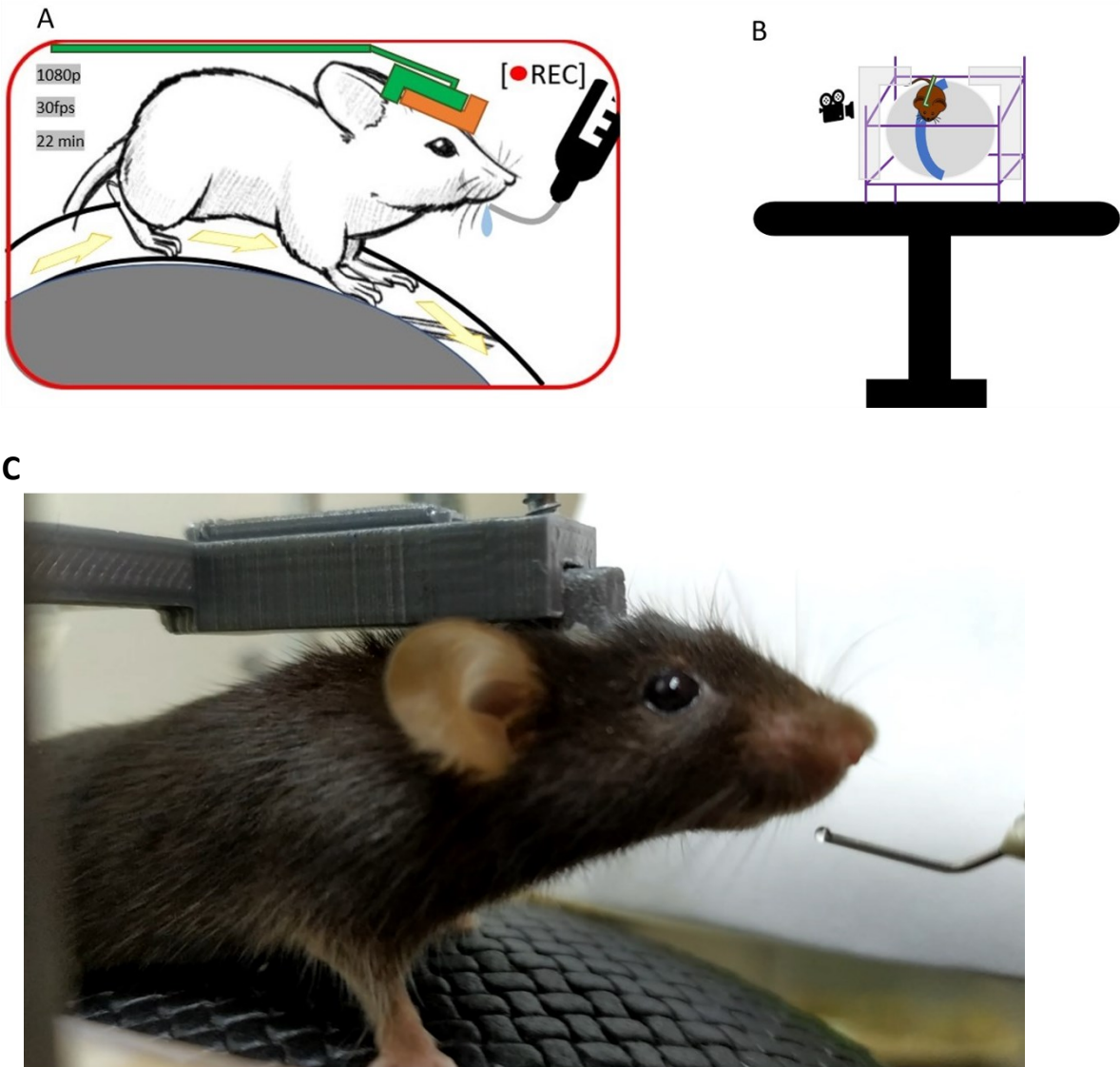


Fig. 4. Set de filmación. (A) Perspectiva del set de filmación desde la cámara de grabación. El ratón se apoya sobre una superficie móvil (esfera) que le permite movimiento en sus extremidades; de naranja un elemento adherido a su cráneo que permite la fijación al sistema de cabeza fija (color verde); del lado derecho la jeringa se manipula para la entrega de la gota de solución aleatoria cada 60 segundos; los videos fueron grabados en alta calidad a 30 cuadros por segundo y la duración de cada video fue de 22 minutos. **(B)** Perspectiva del set de filmación desde el operador. Sobre una mesa se encuentra el sistema de cabeza fija (verde) apoyado

de una estructura rígida (morado) que a su vez sostiene una esfera que permite la caminata del ratón (gris); la cámara se encuentra en el perfil derecho del ratón; se colocaron dos láminas de papel blanco en el fondo del ratón (gris claro) para disminuir la cantidad de objetos grabados. **(C)** Captura de pantalla de un fotograma del video.

Procesamiento de los videos

Una vez obtenidos, los videos se recortaron a la zona facial del ratón incluida la oreja, de esa manera el análisis por cambios en los pixeles de cada cuadro se centra en los movimientos faciales y no en todo el movimiento del ratón.

Los videos fueron grabados a 30 cuadros por segundo, lo que significa que en un segundo la cámara fue capaz de crear 30 imágenes. Además, se ajustó el dispositivo de grabación a 48 mega pixeles, es decir, que la imagen cuenta con 27,000 pixeles de largo por 18000 pixeles de ancho, lo que permite una comparación más precisa de cuando el ratón está en reposo y cuando está siendo estimulado, ya que es el cambio en los pixeles lo que genera el movimiento en un video.

De acuerdo con Nadine (et. al. 2020), las expresiones faciales más significantes de un ratón que ingiere soluciones tienen una duración de 0 a 5 segundos, siendo 0 la introducción de la gota a la cavidad oral y de 3 a 5 segundos la regresión a un estadio neutro, por lo tanto, en los videos a analizar se tomarán 2 segundos de grabación cuando se es entregada la solución, siendo 0 el momento en el que ingresa la gota de solución a la boca y 2 segundos el punto máximo de la expresión facial.

Las grabaciones faciales de todos los ratones fueron procesadas usando scripts en Matlab, que permitieron convertir cada imagen de los videos en un histograma de gradientes orientados (HOG). El HOG es un descriptor de características, en este caso, para describir una imagen (frame) generar un valor

estadístico por cada pixel de la imagen y finalmente de toda la imagen. Este método es usado por qué un cuadro por segundo lo representa en un solo vector de características.

Un detector de rostros HOG analiza pixel por pixel en una imagen, así como los pixeles próximos que lo rodean, de esa manera establece que tan oscuro es el pixel seleccionado con los pixeles adyacentes para así representar el gradiente de oscuridad con una línea que muestra en qué dirección los pixeles son más oscuros y la angulación de esa línea es personificada en grados, de esa manera los miles de pixeles contenidos en una imagen son reemplazados por una línea, a la que se denomina “gradiente”, entonces el rostro es representados por líneas que la inteligencia artificial es capaz de detectar por sí mismo, clasificar y comparar con los demás pixeles.

Recorte del área de registro

Para limitar el análisis a las áreas de importancia se utilizó la función recortar, delimitando la cabeza y orejas, así como la extensión de los bigotes.

Creación prototipos de estimulación

Los histogramas de gradientes orientados (HOG) de cada cuadro de video ya recortado fueron procesados para obtener los cuadros por segundo del video que corresponden a 4 segundos de línea base y 2 segundos de estimulación, de esa manera se lograron 180 cuadros o “frames” por segundo. Una vez obtenidos los 180 HOGs se muestran en matrices de similitud a partir del coeficiente de correlación de Pearson. De esa manera el estado basal fue comparado con los prototipos de estimulación para cada evento. Para todos los marcos obtenidos en cada estimulación dentro de un animal se hicieron matrices de similitud.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se procesaron para compararlos entre sí, la máquina se programó para realizar el análisis de correlación de Pearson que es una prueba que

mide la relación estadística entre dos variables continuas, que en este caso son los cuadros por segundo continuos del video.

Se construyeron matrices de discriminación de valores usando el Cálculo de Correlación de Pearson, que es una medida de dependencia lineal entre dos variables aleatorias cuantitativas, es independiente de la escala de medida de las variables, es decir, es un índice que puede utilizarse para medir el grado de relación de dos variables siempre y cuando ambas sean cuantitativas y continuas, en este caso, las variables continuas son los HOGs de los cuadros del video y su comparación consigo mismos y con los cuadros consecutivos.

Se programó a la máquina para agrupar a los datos por similitud basándose en la distancia euclidiana de los datos.

La distancia euclidiana es el resultado de un cálculo de distancias, en este caso, la primera distancia es la distribución de datos de manera horizontal, la segunda distancia es la distribución de los datos de manera vertical, de esta manera una tercera distancia es formada por el valor recorrido de los extremos de ambas distancias y un triángulo se forma. El valor de la tercera distancia es el que se toma en cuenta para la agrupación de datos con valores similares, en este caso, se obtuvieron dos agrupaciones, una para los datos de la etapa basal y otra para la etapa después de la estimulación.

Por otro lado, para asegurar de que el grupo de cuadros correspondientes al periodo basal y los cuadros del periodo de estimulación fueran correctamente discriminados por la inteligencia de la máquina, se buscó la manera de obtener una figura que mostrara la variedad de datos agrupados a su vez en los ya mencionados dos grupos; se solicitó a la computadora que mostrara estos datos en un Dendograma, que es un árbol de clúster jerárquico aglomerativo, dicho en otras palabras, es un cálculo matemático que agrupa los múltiples valores de los HOGs en dos grupos y los muestra en una imagen con ramificaciones parecidas a las ramas de un árbol y cada final de esas ramificaciones es un cuadro del video y el

principio de esas ramificaciones es un tronco principal dividido en dos troncos importante

Resultados

El algoritmo de machine visión fue capaz de detectar la etapa basal y la etapa de estimulación a partir de las expresiones faciales

Los ratones fueron privados de agua 12 horas antes de realizar el experimento, después manipulados con gentileza para ser colocados en el sistema de cabeza fija. Posteriormente se colocaron los fondos blancos y de manera paralela se ubicó la cámara de video con un enfoque en el rostro del animal. Primero se estimuló con sacarosa, quinina, etanol y agua en ese orden, con un intervalo de 60 segundos. Transcurridos 60 segundos se comenzó con el segundo grupo de estimulaciones con las mismas sustancias, pero en otro orden manteniendo el tiempo de intervalo entre cada estímulo, en total se realizaron 5 grupos de estimulaciones.

B	C	D	E	F	G	H	I	J
123		119	3570		125	3750		S
181		177	5310		183	5490		Q
243		239	7170		245	7350		E
297		293	8790		299	8970		A
359		355	10650		361	10830		S
417		413	12390		419	12570		A
476		472	14160		478	14340		Q
541		537	16110		543	16290		E
597		593	17790		599	17970		A
658		654	19620		660	19800		E
718		714	21420		720	21600		Q
781		777	23310		783	23490		S
838		834	25020		840	25200		S
897		893	26790		899	26970		A
959		955	28650		961	28830		Q
1019		1015	30450		1021	30630		E
1078		1074	32220		1080	32400		Q
1137		1133	33990		1139	34170		A
1200		1196	35880		1202	36060		E
1259		1255	37650		1261	37830		S

Fig. 5 Esquema de estimulaciones para primer ratón. En la columna B se encuentra el tiempo en segundos en la que se dieron las estimulaciones; en la columna D se encuentra el tiempo en segundos la línea base antes de la estimulación; en la columna E los cuadros que corresponden al tiempo en segundos del video; la columna G contiene el tiempo dos segundos después de la estimulación; a lado derecho, la columna H contiene los cuadros de los segundos correspondientes; al final, la columna J contiene las iniciales de las sustancias entregadas S para sacarosa, Q para quinina, E para etanol, A para agua. Los códigos de colores por filas muestran el orden en el que las sustancias fueron entregadas: amarillo de sacarosa, azul de quinina, verde de etanol y rojo para agua.

La visión de la computadora detectó más de 39000 cuadros en todo el video, y realizó 2520 descripciones de gradientes orientados (uno por cada pixel) representados con valores numéricos cada uno.

El experimento se efectuó con los 7 ratones durante 5 días, obteniendo un total de 35 videos de 22 minutos cada uno, haciendo una sumatoria de 46200 segundos de grabación, lo que a su vez contienen 1386000 cuadros por segundo, esta información es importante porque el programa de inteligencia analizó todos esos cuadros, en específico del área recortada del ratón, lo que equivale a miles de pixeles a comparar y obtener los datos en gradientes de cada uno; esta operación le llevó a la computadora alrededor de 280 horas en total.

39659x20520 single												
	20509	20510	20511	20512	20513	20514	20515	20516	20517	20518	20519	20520
39584	0.2619	0.0942	0.1100	0.1148	0.0977	0.1738	0.0664	0.3149	0.0939	0.2759	0.1145	0.1080
39585	0.2122	0.1119	0.1220	0.1458	0.0864	0.1775	0.0602	0.3239	0.1222	0.2849	0.1414	0.1493
39586	0.2508	0.1107	0.0819	0.1161	0.0616	0.1332	0.0564	0.3079	0.1325	0.3079	0.1731	0.1298
39587	0.2432	0.1114	0.0896	0.1306	0.0802	0.1723	0.0723	0.3002	0.1236	0.3002	0.1605	0.1455
39588	0.1936	0.0857	0.0740	0.1022	0.1141	0.3011	0.0625	0.3011	0.0683	0.2068	0.0999	0.1078
39589	0.2181	0.0943	0.0916	0.1283	0.1282	0.2599	0.1060	0.3229	0.1029	0.2542	0.1312	0.1183
39590	0.2993	0.1143	0.0825	0.0913	0.1102	0.2210	0.0808	0.2993	0.1046	0.2993	0.1578	0.0906
39591	0.2362	0.1014	0.1103	0.1156	0.1389	0.2743	0.0780	0.2845	0.1146	0.2845	0.1426	0.1155
39592	0.1630	0.0781	0.1111	0.1206	0.1073	0.2509	0.0865	0.3684	0.1110	0.2612	0.1281	0.1233
39593	0.1644	0.0827	0.1363	0.1261	0.1003	0.2451	0.0944	0.3520	0.1014	0.2344	0.1211	0.1323
39594	0.1517	0.0659	0.1037	0.1231	0.1425	0.3170	0.0761	0.3234	0.1028	0.2294	0.1130	0.1216
39595	0.2816	0.0936	0.0899	0.1212	0.1100	0.2239	0.0632	0.3066	0.0773	0.3066	0.1411	0.1171
39596	0.2541	0.0840	0.0800	0.1007	0.0962	0.2124	0.0612	0.3184	0.0846	0.3184	0.1291	0.1007
39597	0.2316	0.0757	0.0720	0.1018	0.1179	0.2358	0.0661	0.3240	0.0984	0.2770	0.1064	0.0998
39598	0.2873	0.1423	0.0824	0.0719	0.0664	0.2008	0.0347	0.3074	0.0754	0.2842	0.1188	0.0821
39599	0.2783	0.1463	0.1013	0.0880	0.0659	0.1902	0.0707	0.3081	0.0885	0.2693	0.1068	0.0954
39600	0.2913	0.1497	0.0885	0.0785	0.0866	0.2025	0.1112	0.2913	0.1064	0.2913	0.1228	0.0784

Fig. 6 Visualización del video a través de HOGs. La inteligencia artificial de la máquina detectó en total 39659 cuadros por segundo del primer video y los presenta en filas, las columnas son los caracteres por pixeles en los cuáles se encuentran los gradientes orientados y su valor numérico. En otras palabras, se obtuvieron 39659 cuadros por segundo con 20520 valores para cada uno.

El algoritmo fue capaz de organizar los HOGs por similitud entre sí y agruparlos de forma eficiente en la etapa basal y de estimulación

Una vez que se obtuvieron los valores de los cuadros por segundo se definieron los datos de interés: 4 segundos antes de la estimulación como línea base y 2 segundos posteriores a la estimulación para estudiar si el cambio lo podía detectar la máquina. A esos tiempos en el video se le extrajeron los cuadros por segundo correspondientes (Fig. 3).

El cálculo de Pearson permitió obtener la dinámica del movimiento facial del ratón cuatro segundos antes y dos segundos después de la estimulación, sin embargo, para detallar una expresión facial y representar sus rasgos característicos se requirió de un cálculo que nos permitiera agrupar los datos por similitud, es decir, obtener los cuadros que más se parecieran puesto que son esos lo que pertenecen a una expresión facial; para esto se requirió la asistencia de una matemática que indica la distancia entre dos puntos en un espacio en donde se cumplen los axiomas y teoremas de la geometría de Euclides.

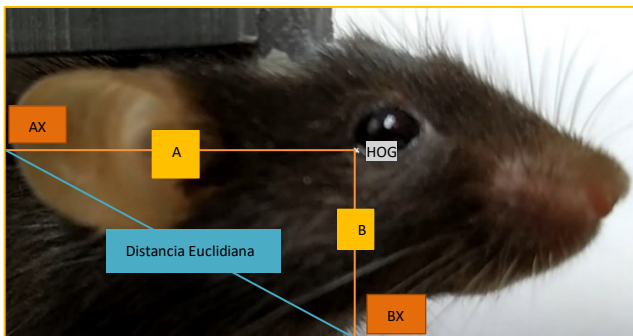


fig. 7 En este caso el punto “A” es denominado por la distancia horizontal del punto de un HOG a una distancia X en un plano cartesiano, por lo que el punto “B” es la distancia X vertical del mismo HOG en el mismo plano, de esa manera el cálculo de la distancia

euclidiana es la hipotenusa de los catetos formados por los puntos AX y BX.

De esa manera se obtuvo una imagen que muestra la similitud de los cuadros por segundo del rostro del ratón en un estado neutro y durante la estimulación; asimismo, se observa la dinámica de una expresión pues el movimiento facial del ratón hace que los datos sean variables y forman diversos grupos por similitud.

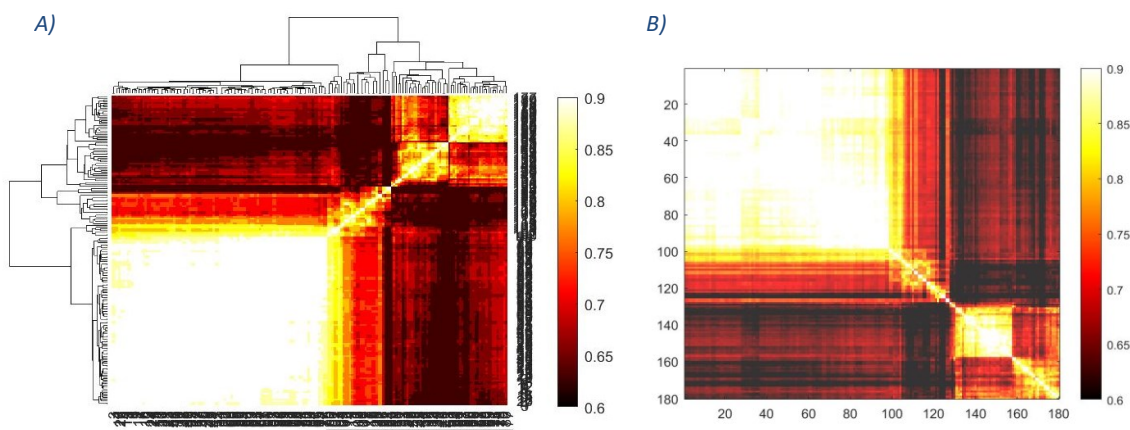


Fig.8 Mapa de correlación de Pearson para estimulación con agua y mapa de agrupación por similitud.

La imagen A muestra el Mapa de Calor (Heatmap) hecho a partir del coeficiente de correlación de Pearson para los fotogramas correspondientes a la estimulación con agua (4 segundos antes, 2 segundos después). En la parte superior e izquierda se ubican dendrogramas de grupos de cuadros correspondientes a dos estadios, uno mayor (basal) y otro menor (estimulación). Las regiones de color oscuro demuestran una correlación baja mientras las regiones claras una alta correlación. La barra lateral representa la mayoría de agrupación de los datos. La imagen B muestra el Mapa de Calor hecho a partir del coeficiente de similitud por distancia euclidiana. En la región inferior e izquierda los números de 20 a 180 enumeran a los cuadros. Las regiones de color oscuro demuestran una correlación baja mientras las regiones claras una alta correlación. La barra lateral representa la mayoría de agrupación de los datos.

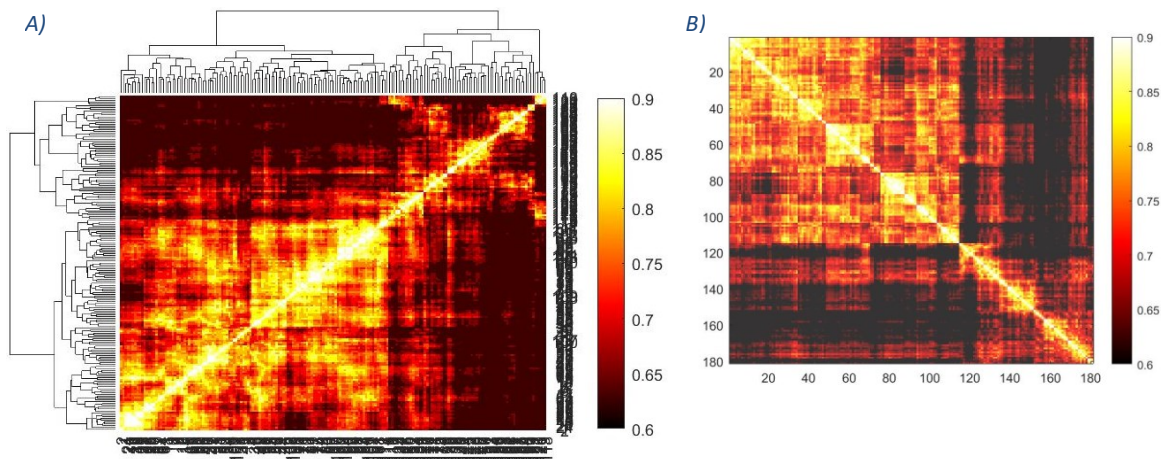


Fig.9 Mapa de correlación de Pearson para estimulación con sacarosa y mapa de agrupación por similitud

La imagen A muestra el Mapa de Calor (Heatmap) hecho a partir del coeficiente de correlación de Pearson para los fotogramas correspondientes a la estimulación con sacarosa (4 segundos antes, 2 segundos después). En la parte superior e izquierda se ubican dendrogramas de grupos de cuadros correspondientes a dos estadios, uno mayor (basal) y otro menor (estimulación). Las regiones de color oscuro demuestran una correlación baja mientras las regiones claras una alta correlación. La barra lateral representa la mayoría de agrupación de los datos. La imagen B muestra el Mapa de Calor hecho a partir del coeficiente de similitud por distancia euclidiana. En la región inferior e izquierda los números de 20 a 180 enumeran a los cuadros. Las regiones de color oscuro demuestran una correlación baja mientras las regiones claras una alta correlación. La barra lateral representa la mayoría de agrupación de los datos.

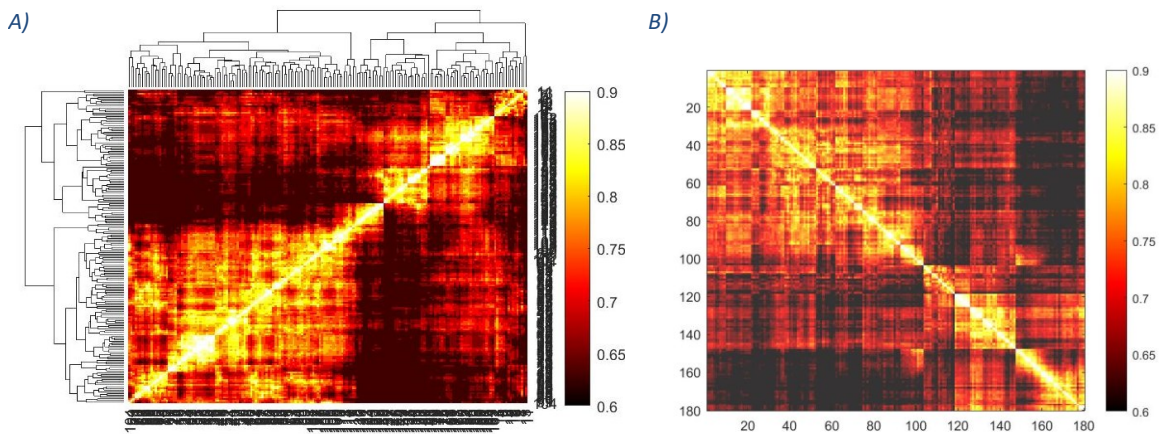


Fig.10 Mapa de correlación de Pearson para estimulación con quinina y mapa de agrupación por similitud

La imagen A muestra el Mapa de Calor (Heatmap) hecho a partir del coeficiente de correlación de Pearson para los fotogramas correspondientes a la estimulación con quinina (4 segundos antes, 2 segundos después). En la parte superior e izquierda se ubican dendrogramas de grupos de cuadros correspondientes a dos estadios, uno mayor (basal) y otro menor (estimulación). Las regiones de color oscuro demuestran una correlación baja mientras que las regiones claras una alta correlación. La barra lateral representa la mayoría de agrupación de los datos. La imagen B muestra el Mapa de Calor hecho a partir del coeficiente de similitud por distancia euclidiana. En la región inferior e izquierda los números de 20 a 180 enumeran a los cuadros. Las regiones de color oscuro demuestran una correlación baja mientras que las regiones claras una alta correlación. La barra lateral representa la mayoría de agrupación de los datos.

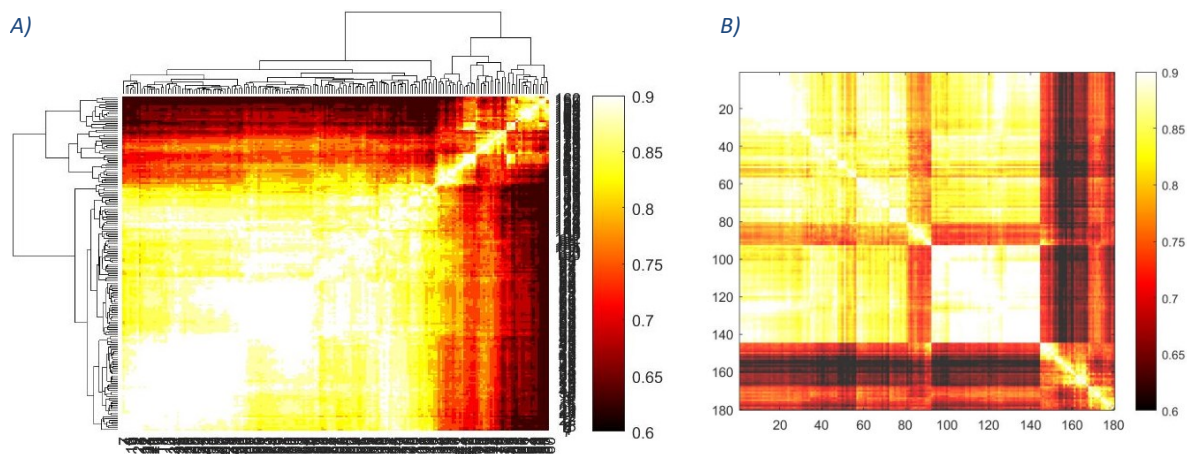


Fig. 11 Mapa de correlación de Pearson para estimulación con etanol y mapa de agrupación por similitud

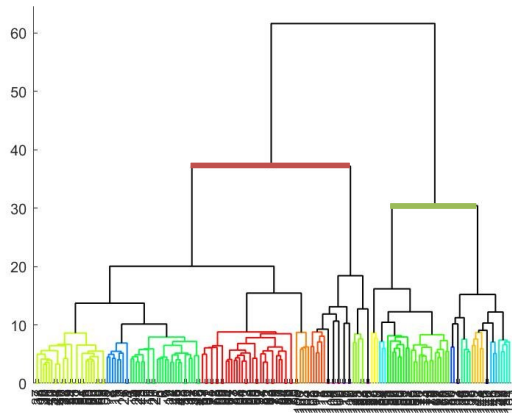
La imagen A muestra el Mapa de Calor (Heatmap) hecho a partir del coeficiente de correlación de Pearson para los fotogramas correspondientes a la estimulación con etanol (4 segundos antes, 2 segundos después). En la parte superior e izquierda se ubican dendrogramas de grupos de cuadros correspondientes a dos estadios, uno mayor (basal) y otro menor (estimulación). Las regiones de color oscuro demuestran una correlación baja mientras las regiones claras una alta correlación. La barra lateral representa la mayoría de agrupación de los datos. La imagen B muestra el Mapa de Calor hecho a partir del coeficiente de similitud por distancia euclidiana. En la región inferior e izquierda los números de 20 a 180 enumeran a los cuadros. Las regiones de color oscuro demuestran una correlación baja mientras las regiones claras una alta correlación. La barra lateral representa la mayoría de agrupación de los datos.

El algoritmo discriminó aquellas variables que pertenecen a las dos etapas conductuales: la etapa basal y la etapa de estimulación y sus valores únicos de las cuatro soluciones.

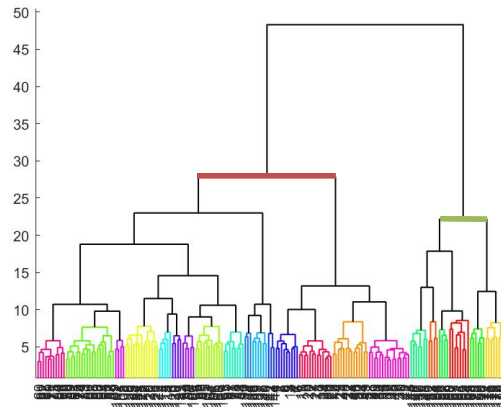
Para asegurarnos de que el grupo de cuadros correspondientes al periodo basal y los cuadros del periodo de estimulación fueran correctamente discriminados por la inteligencia de la máquina, se solicitó a la computadora que mostrara estos datos en un Dendograma; cada final de esas ramificaciones es un cuadro del video y el

principio de esas ramificaciones es un tronco principal dividido en dos troncos importantes: periodo basal y periodo de estimulación.

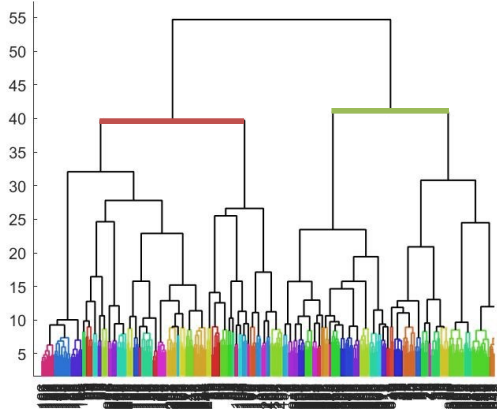
A)



B)



C)



D)

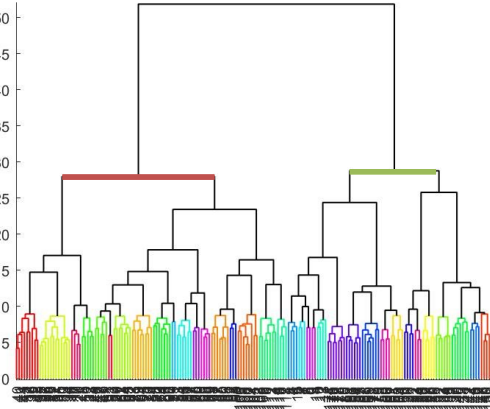


Fig.12 Dendrogramas construidos a partir de aglomeración de grupos por jerarquía de valores. En la figura A se muestran los datos del estado basal (línea roja) y la estimulación con agua (línea verde). La imagen B concierne al estado basal y a la estimulación con etanol. La imagen C corresponde al estado basal y estimulación con quinina y finalmente la imagen D pertenece al periodo basal y estimulación con sacarosa.

Discusión

El experimento y el procesamiento de los datos se hicieron con la finalidad de usar una inteligencia artificial para saber si reconoce el cambio en la expresión del ratón

cuando se le daba cuatro diversas soluciones. Una inteligencia artificial es una máquina con reproducción de la inteligencia humana, utilizada para realizar tareas complicadas, difíciles o prolongadas que representan un desafío de tiempo, dinero y dedicación, pero, para una máquina es sencillo de realizar en un tiempo, costo y dedicación menor; la información que recompilan les confiere de mejoras iterativas y de una mejor interacción con el usuario.

Guiado por el principio que se menciona en el párrafo anterior y la historia del estudio de las emociones y su expresión a través de musculatura facial es que se llegan a encontrar datos y gráficos interesantes. En este caso, el estudio se centra en la evocación de una expresión facial a través de las estimulaciones orales y su discriminación a través de una máquina con el objetivo de generar datos numéricos de imágenes.

En lo tangente a las sustancias ocupadas para la estimulación, el agua fue una de las sustancias que más cambios generó en la expresión del ratón, esto debido a que los animales fueron privados de esta sustancia 12 horas antes de iniciar el experimento lo que nos aseguró una ventaja de disposición a consumir la sustancia (Toth, L. A., & Gardiner, T. W., 2000).

Las características físicas del agua, tales como textura, o viscosidad, temperatura, olor y sabor, que, si bien interactúan con los receptores gustativos también lo hacen con receptores del nervio trigémino (Zeigler, H. P., Jacquin, M. F., & Miller, M. G., 1984, ZOTTERMAN, YNGVE, (1959). En la periferia de las ramas terminales del nervio trigémino, específicamente en la bucal y mandibular que inervan la lengua y boca del ratón, se encuentran células con receptores de tipo térmicos y sensibles al tacto que en conjunto interaccionan con sus propiedades térmicas y con su textura líquida, a manera de que sus señales son dirigidas al Núcleo de Tracto Solitario, en el tallo cerebral y después llevadas al Tálamo y Corteza Insular; provocando la actividad neural de estas regiones las sensaciones se perciben placenteras y necesarias para la supervivencia (de Araujo, I. E., & Simon, S. A., 2009).

Lo anterior hace referencia a que el “sabor” del agua es una sensación (más allá de una ingesta) específica, única y suficiente para desencadenar la actividad de regiones cerebrales que la reconocen como un líquido recompensante pero vital (et. al. de Araujo, I. E., & Simon, S. A., 2009). Por lo que al ser privados los animales de esta sustancia y después percibir su sensación en la boca resulta recompensante.

Por otro lado, la solución de sacarosa, que por sus características moleculares es una sustancia altamente adictiva en ratones (CAMPBELL B. A., 1958). En este trabajo se utilizó una solución al 0.5 M que al ser ingerida por los ratones puede estar siendo reconocida por los receptores bucales del nervio trigémino (ya que sigue siendo un soluto líquido), mientras la molécula de sacarosa *per se* es reconocida por las células dentro de los botones gustativos distribuidos en la extensión de la lengua y boca.

Los receptores en las células gustativas, conocidos como “TAS1R2” y “TAS2R3” por sus siglas en inglés (TASTE RECEPTOR) reconocen a la molécula de sacarosa activando a las proteínas G, que a su vez induce la entrada de calcio hacia dentro de la célula y de esa manera generar un potencial de acción. Este potencial de acción es conducido hasta la corteza gustativa y distribuido principalmente con la Ínsula en donde la actividad neuronal traduce al estímulo como recompensante (Töle, J. C., Behrens, M., & Meyerhof, W., 2019).

Lo interesante del consumo de sustancia dulces es de que su reconocimiento tiene un trasfondo evolutivo importante asociado a su contenido energético (DiNicolantonio, J. J., & Berger, A., 2016). Sin embargo, la sacarosa es capaz de provocar intensa actividad en cortezas somatosensoriales y de discriminación de estímulos y de comportamiento, como la corteza prefrontal (Beecher Kate, 2021), convirtiéndola en una sustancia adictiva, capaz de alterar el comportamiento de los animales y otorgando una búsqueda compulsiva y un vínculo emocional que, puede ser distinguido a través de una expresión facial detectada por la inteligencia artificial.

Por otro lado, cuando se administró quinina al 10% observamos que el movimiento facial fue apenas perceptible y los datos fueron dispersos en este caso; probablemente porque al ser una sustancia amarga los ratones pueden evitar su consumo a través de la olfacción. El epitelio que recubre a las fosas nasales del ratón contiene receptores al sabor amargo llamados TAS2R y que son mucho más sensibles que las del humano les otorgan información fina de las sustancias a su alrededor (Finger, T. E., 2003). El sentido del olfato es de gran importancia para los mamíferos, pues confiere de información sobre el ambiente que se habita, principalmente si contiene tóxicos (et. al. Töle, J. C., Behrens, M., & Meyerhof, W., 2019).

Por lo que es posible que los datos sean poco perceptibles en los mapas de calor para la estimulación con quinina se podría deber a que el ratón ya podía percibir su olor y por lo tanto asumir que se trataba de una sustancia amarga, algo que se reflejaba en su expresión facial desde la etapa basal, pero que fue reforzada en la etapa de estimulación; esto a su vez, fue detectado por la “visión” de la computadora y reflejada en los datos obtenidos.

Finalmente, la estimulación con etanol, una sustancia de la que se tenía la expectativa que generara un cambio radical en la estimulación con respecto al estado basal, no solo por el sabor amargo del que es característico, sino que también, al ser una solución en agua, un líquido, que el ratón sediento iba a estar motivado a consumir (Bulwa, Z. B., 2011), arrojó resultados prometedores.

Se sabe que el etanol interactúa con los receptores al sabor amargo de la boca (TASTE 2 RECEPTOR: TAS2R), pero también con los receptores del nervio trigémino que responden a la irritación por calor; esto es importante pues, ahora la cualidad del sabor a etanol involucra a la sensación que provoca, la irritación de los receptores térmicos induce la experiencia de calor (Gibson Mark, 2018).

Estudios que rastrean los trazos de la actividad neuronal cuando se consume etanol concluyen que el principal centro integrador es la corteza prefrontal, que es

la porción anterior de los lóbulos frontales y se propone como una de las estructuras anatómicas y funcionales más complejas del cerebro de los mamíferos. La corteza prefrontal integra e interpreta las entradas de las estructuras corticales y subcorticales y utiliza la información para desarrollar respuestas con propósito, incluyendo las secuencias que conducen a la obtención de recompensas, a la inhibición de conductas que suponen un riesgo o daño para el individuo (Abernathy, K., 2010).

En nuestros resultados encontramos que durante el consumo de etanol, nuestro sistema de inteligencia artificial detectó cambios importantes en la musculatura facial en comparación con la fase basal, lo que indica que el software es capaz de detectar los cambios que ocurren durante las estimulaciones, sin embargo, falta información sobre la cualidad de esas expresiones faciales, pues, a pesar de que están arraigadas a la emoción, hasta este momento sólo podemos asumir que existen cambios en la expresión facial.

Es importante que estudios posteriores tomen en consideración el estudio integral, la propuesta directa se enfocará en el estudio de las emociones y las expresiones faciales a nivel cerebral ya que esto nos puede proporcionar información del estado del animal, además de que permitiría el estudio a través del tiempo priorizando el consumo de etanol, ya que su consumo sigue persistiendo y sigue siendo un problema de salud pública ya que provoca adicción y enfermedades mortíferas.

A pesar de ser una conducta común, la ingesta de alimentos y soluciones ha sido poco explorada, en especial cuando se buscan aquellas razones por las que se originan dependencias a sustancias porque las limitaciones en modelos animales proveen de información fina y detallada de un mecanismo aislado en los vastos cambios fisiológicos y anatómicos que ocurren durante una adicción, pero, las investigaciones se esfuerzan en replicar este tipo de enfermedad compulsiva en modelos animales que reflejen una verdadera extrapolación de la condición humana a un animal experimental (Spanagel R., 2017)

Sin embargo, este estudio centra las bases para estudiar los cambios que ocurren en las facciones de un animal, cuyas estimulaciones ocurren en la cavidad oral y su procesamiento e integración ocurre principalmente en la corteza cerebral, entonces esta observación del “todo” a través de las expresiones faciales complementa un método de comprobación más para estudiar aquellos sustratos que podrían ser recompensantes para un individuo.

En los estudios complementarios del texto de Nadine relata como invita a participantes en la Universidad Ludwig Maximilian de Munich, en Alemania, a ser espectadores de las videograbaciones de ratones siendo sometidos a una variedad de estímulos y proponer qué tipo de emoción reflejaban sus expresiones faciales, las propuestas fueron erradas en su mayoría; a los espectadores se les dificultaba reconocer cada expresión facial o inclusive detectar algún tipo de movimiento.

Entonces, tenemos una gran variable para tener en cuenta: la dificultad de reconocer expresiones faciales entre especies, algo que mediante un diseño experimental y la implementación de un sistema de inteligencia artificial nos permite estudiar las cuantificaciones de un gesto facial, directamente ligado al proceso emocional.

Es importante recalcar que las señales sensoriales percibidas mediante el sentido del gusto han evolucionado para proveer de información sobre la composición de los alimentos consumidos, ya sea de composición dulce (para procurar su consumo), amarga (para evitar su consumo), salada (que promete el consumo de iones, minerales y aminoácidos), umami (que imita concentraciones del sodio, importante para el balance homeostático), ácidas (que previene de una sustancia dañina e irritante) (Payne, T., 2021). En conjunto, las señales gustativas de la ingesta modifican el comportamiento para procurar consumir alimentos variados y estimulantes para el sistema, pero, cuando una adicción se sobrepone, una serie de alteraciones y daños celulares provocan la aberración de la conducta, por ello, se debe entender la fisiología del ligado emocional con las sustancias consumidas.

Más adelante, usando estos sistemas de asistencia tecnológica y el verdadero registro de la actividad celular en el cerebro de un animal con una disposición a presentar una adicción a sustancias nos proveerá de información útil del estado celular en el cerebro que regula la ingesta o rechazo, de esa manera proponer tratamientos a enfermedades que atienden a la medicina odontológica.

De igual manera, la optimización de estos sistemas computacionales es importante y extrapolable a otras áreas de investigación, ya que, al tratarse de una inteligencia de discriminación de variables a través de los datos proporcionados por una cámara de videograbación, las aplicaciones podrían ser modificadas para mostrar una discriminación de dos o más variables y busca similitudes, que puede ser útil para el diagnóstico.

Conclusiones

El diseño experimental desarrollado permite la distinción de cualidades finas de una expresión facial, así como la interpretación del proceso emocional por la que un animal experimenta al ser sometido a la ingesta de sustancias; por otro lado, establece un complemento certero para estudiar los procesos neuronales que suceden cuando se ingieren sustancias adictivas.

La visión inteligente de una máquina es capaz de detectar movimientos finos en un video y establecer valores cuantitativos (números) de variables cualitativas, lo cual ayuda a caracterizar expresiones faciales propias de un estado emocional.

Los algoritmos computacionales son capaces de reconocer la etapa de cuando el animal se encuentra en una posición neutral y cuando se encuentra en una etapa estimulante, de igual manera establece cuatro diferentes valencias para las estimulaciones con agua, sacarosa, etanol y quinina, que a su vez permite admirar mejor las cualidades de una expresión facial única de cada emoción evocada.

Recursos citados

- Abernathy, K., Chandler, L. J., & Woodward, J. J. (2010). Alcohol and the prefrontal cortex. *International review of neurobiology*, 91, 289–320. [https://doi.org/10.1016/S0074-7742\(10\)91009-X](https://doi.org/10.1016/S0074-7742(10)91009-X)
- de Araujo, I. E., & Simon, S. A. (2009). The gustatory cortex and multisensory integration. *International journal of obesity (2005)*, 33 Suppl 2(Suppl 2), S34–S43. <https://doi.org/10.1038/ijo.2009.70>
- Beecher Kate, (2021), Sucrose Consumption Alters Serotonin/Glutamate Colocalization Within the Prefrontal Cortex and Hippocampus of Mice, *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 14, pg.133, <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnmol.2021.678267>, DOI=10.3389/fnmol.2021.678267
- Bulwa, Z. B., Sharlin, J. A., Clark, P. J., Bhattacharya, T. K., Kilby, C. N., Wang, Y., & Rhodes, J. S. (2011). Increased consumption of ethanol and sugar water in mice lacking the dopamine D2 long receptor. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 45(7), 631–639. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2011.06.004>
- CAMPBELL B. A. (1958). Absolute and relative sucrose preference thresholds for hungry and satiated rats. *Journal of comparative and physiological psychology*, 51(6), 795–800. <https://doi.org/10.1037/h0039001>
- Darwin, Charles (1845), *Journal of researches into the natural history and geology of the countries visited during the voyage of H.M.S. Beagle round the world, under the Command of Capt. Fitz Roy, R.N. (Second edition)*, Londres: John Murray.
- Darwin C. (1998), *The expression of the emotions in man and animals*, 3rd edn (ed. Ekman P.). London: Harper Collins; New York: Oxford University Press [Google Scholar]

- DiNicolantonio, J. J., & Berger, A. (2016). Added sugars drive nutrient and energy deficit in obesity: a new paradigm. *Open heart*, 3(2), e000469. <https://doi.org/10.1136/openhrt-2016-000469>
- Dolensek, N., Gehrlach, D. A., Klein, A. S., & Gogolla, N. (2020). Facial expressions of emotion states and their neuronal correlates in mice. *Science* (New York, N.Y.), 368(6486), 89–94. <https://doi.org/10.1126/science.aaz9468>
- Duchenne de Boulogne, (1990), *The mechanism of human facial expression*, Edited and translated by R. Andrew Cuthbertson, Cambridge University Press, ISBN 0-521-36392-6
- Finger, T. E., Böttger, B., Hansen, A., Anderson, K. T., Alimohammadi, H., & Silver, W. L. (2003). Solitary chemoreceptor cells in the nasal cavity serve as sentinels of respiration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(15), 8981–8986. <https://doi.org/10.1073/pnas.1531172100>
- Gibson, Mark (2018). *Food Science and the Culinary Arts*, Academic Press, Published Date: 4th January 2018, Pg: 528, <https://doi.org/10.1016/C2016-0-01642-X>
- Gibson, Mark (2018). *Food Science and the Culinary Arts || Taste, Flavor and Aroma*. , (), 35–52. doi:10.1016/B978-0-12-811816-0.00003-8
- Miho Soma; Hidenori Aizawa; Yoshimasa Ito; Motoko Maekawa; Noriko Osumi; Eiko Nakahira; Hitoshi Okamoto; Kohichi Tanaka; Shigeki Yuasa (2009). Development of the mouse amygdala as revealed by enhanced green fluorescent protein gene transfer by means of in utero electroporation., 513(1), 113–128. doi:10.1002/cne.21945
- N. Dalal and B. Triggs, (2005), "Histograms of oriented gradients for human detection," 2005 IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR'05), pp. 886-893 vol. 1, doi: 10.1109/CVPR.2005.177.

- Toth, L. A., & Gardiner, T. W. (2000). Food and water restriction protocols: physiological and behavioral considerations. *Contemporary topics in laboratory animal science*, 39(6), 9–17.
- Töle, J. C., Behrens, M., & Meyerhof, W. (2019). Taste receptor function. *Handbook of clinical neurology*, 164, 173–185. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63855-7.00011-3>
- Payne, T., Kronenbuerger, M., & Wong, G. (2021). Gustatory Testing. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Platón, (reimpresión de 2014). *La apología de Sócrates*. Gredos 1° Edición.
- Spanagel R. (2017). Animal models of addiction. *Dialogues in clinical neuroscience*, 19(3), 247–258. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2017.19.3/rspanagel>
- Zeigler, H. P., Jacquin, M. F., & Miller, M. G. (1984). Trigeminal sensorimotor mechanisms and ingestive behavior. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 8(3), 415–423. [https://doi.org/10.1016/0149-7634\(84\)90061-7](https://doi.org/10.1016/0149-7634(84)90061-7)
- ZOTTERMAN, YNGVE; DIAMANT, HERMAN (1959). Has Water a Specific Taste?. *Nature*, 183(4655), 191–192. doi:10.1038/183191a0
- Wang, L., Gillis-Smith, S., Peng, Y., Zhang, J., Chen, X., Salzman, C. D., Ryba, N., & Zuker, C. S. (2018). The coding of valence and identity in the mammalian taste system. *Nature*, 558(7708), 127–131. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0165-4>
- <https://www.gob.mx/salud/conadic/acciones-y-programas/15-de-noviembre-dia-nacional-contra-el-uso-nocivo-del-alcohol>

fibras nerviosas por el núcleo del tracto solitario hasta la corteza gustativa, en donde se encuentra la ínsula.

Imagen A tomada del artículo:

Yarmolinsky, D. A., Zuker, C. S., & Ryba, N. J. (2009). Common sense about taste: from mammals to insects. *Cell*, 139(2), 234–244. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.10.001>

Imagen B tomada del artículo:

Drareni, K., Dougkas, A., Giboreau, A., Laville, M., Souquet, P. J., & Bensafi, M. (2019). Relationship between food behavior and taste and smell alterations in cancer patients undergoing chemotherapy: A structured review. *Seminars in oncology*, 46(2), 160–172. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2019.05.002>

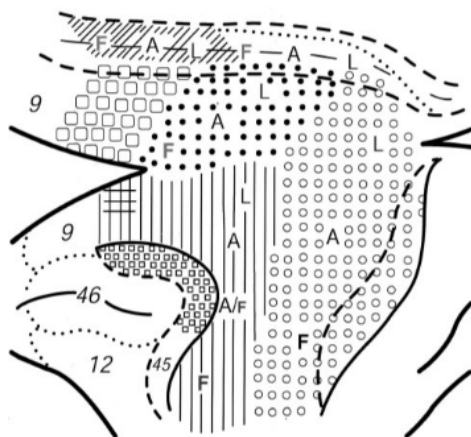


Fig. 2 Corteza motora del ratón. En este esquema de la región motora del cerebro del animal se ejemplifica la distribución de los haces nerviosos eferentes (letras F mayúsculas), llevados hasta la cara por el nervio facial.

Imagen editada, tomada del artículo: Morecraft, R. J., Stilwell-Morecraft, K. S., & Rossing, W. R. (2004). The motor cortex and facial expression: new insights from neuroscience. *The neurologist*, 10(5), 235–249. <https://doi.org/10.1097/01.nrl.0000138734.45742.8d>