



**UNIVERSIDAD DE CONCEPCION**  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



# **EVALUACION DE LA MICROESTRUCTURA DE INGESTA HEDÓNICA EN MODELO TRANSGÉNICO DE ENFERMEDAD DE ALZHEIMER**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Concepción para optar al grado académico de Magíster en Neurobiología

Por: Gerson Rubén Ramos Flores  
Profesor Guía: Luis Gerardo Aguayo Hernández  
Profesor Co-guía: Esteban Javier Pino Quiroga

Concepción, Chile 2025

Facultad de Ciencias Biológicas, Laboratorio de Neurofisiología, Universidad de Concepción.

Profesores integrantes Comisión Evaluadora:

---

Dr. Luis G. Aguayo H.  
Profesor Guía  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad de Concepción

---

Dr. Esteban J. Pino Quiroga  
Profesor Co-Guía  
Facultad de Ingeniería  
Universidad de Concepción

---

Dr. Leonardo Guzmán G.  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad de Concepción

---

Dra. Antonia Recabal B.  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad de Concepción

---

Dr. Mario Rivera M.  
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas  
Universidad de Chile

---

Dr. Patricio Castro M.  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad de Concepción

## INDICE GENERAL

|  |      |
|--|------|
| GLOSARIO .....   | VIII |
| RESUMEN.....   | IX   |
| ABSTRACT.....  | X    |
| RESUMEN GRÁFICO .....  | XI   |
| 1. INTRODUCCIÓN .....  | 1    |
| 1.1 Enfermedad de Alzheimer.....   | 1    |
| 1.2 Síntomas no cognitivos de la Enfermedad de Alzheimer .....                               | 4    |
| 1.3 Sistema de Recompensa.....   | 5    |
| 1.4 Modelos animales de estudio de Alzheimer.....  | 8    |
| 1.5 Técnicas de estudio para comportamiento de consumo.....                                  | 10   |
| 2. PROBLEMA E HIPÓTESIS.....   | 15   |
| 2.1 Hipótesis.....   | 15   |
| 2.2 Objetivo General .....   | 15   |
| 2.3 Objetivos Específicos.....   | 15   |
| • Desarrollar y estandarizar un lickometro para monitorear el consumo de líquidos.....       | 15   |
| • Caracterizar la microestructura de consumo hedónico en el modelo APP/PS1.                  | 15   |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS.....   | 16   |
| 3.1 Animales .....   | 16   |
| 3.2 Modificaciones físicas e impresión 3D.....   | 16   |
| 3.3 Modificación código de programación .....  | 17   |
| 3.4 Creación de script para procesar los datos y generar gráficas de patrón de consumo ..... | 17   |
| 3.5 Validación de la funcionalidad del modelo generado .....                                 | 18   |
| 3.6 Estudio con solución de chocolate líquido preparado.....                                 | 18   |
| 3.7 Validar la funcionalidad del lickometro capacitivo.....                                  | 19   |

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 3.8 | Identificación de la microestructura de consumo hedónico en el modelo APP/PS1 .....                          | 19 |
| 3.9 | Análisis de los datos.....   | 20 |
| 4.  | RESULTADOS .....   | 22 |
|     | • Objetivo Especifico 1: Desarrollo de un equipamiento para monitoreo de consumo .....                       | 22 |
|     | • Objetivo específico 2: Caracterización de la microestructura de consumo hedónico en el modelo APP/PS1..... | 31 |
| 5.  | DISCUSIÓN .....  | 52 |
| 6.  | CONCLUSIÓN.....  | 63 |
| 7.  | AGRADECIMIENTOS .....  | 67 |
| 8.  | BIBLIOGRAFÍA .....   | 69 |
| 9.  | ANEXOS .....   | 81 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Figura 1. Vista general del dispositivo impreso en 3D. ....</b>  | <b>23</b> |
| <b>Figura 2. Vista detallada del sistema sensor. ....</b>   | <b>24</b> |
| <b>Figura 3. Lickómetro fotoeléctrico montado en jaula. ....</b>  | <b>25</b> |
| <b>Figura 4. Esquema general del funcionamiento del lickómetro fotoeléctrico. ....</b>  | <b>26</b> |
| <b>Figura 5. Microestructura de consumo de agua en 6 animales control. ....</b>   | <b>27</b> |
| <b>Figura 6. Eventos de consumo a una escala temporal mayor.....</b>  | <b>28</b> |
| <b>Figura 7. Patrón de consumo total para sacarosa y agua en 6 animales control. ....</b>   | <b>29</b> |
| <b>Figura 8. Validación del lickómetro fotoeléctrico en 6 animales control. ....</b>  | <b>30</b> |
| <b>Figura 9. Validación de consumo solución de chocolate en relación con agua en animales controles. ....</b>                         | <b>31</b> |
| <b>Figura 10. Patrón de consumo de agua de animales WT y APP/PS1. ....</b>  | <b>33</b> |
| <b>Figura 11. Patrón de consumo chocolate en animales WT y APP/PS1.....</b>   | <b>33</b> |
| <b>Figura 12. Análisis de regresión entre el consumo total vs tiempo de consumo .....</b>   | <b>35</b> |
| <b>Figura 13. Consumo total de agua y chocolate de animales WT y APP/PS1. ....</b>  | <b>36</b> |
| <b>Figura 14. Eventos totales de consumo de agua y chocolate en animales WT y APP/PS1. ....</b>                                       | <b>38</b> |
| <b>Figura 15. Tiempo total de consumo de agua y chocolate en animales WT y APP/PS1. ....</b>  | <b>38</b> |
| <b>Figura 16. Eventos de consumo de agua en segmentos de 30 minutos de animales WT y APP/PS1.....</b>                                 | <b>39</b> |
| <b>Figura 17. Eventos de consumo de chocolate en segmentos de 30 minutos de animales WT y APP/PS1.....</b>                            | <b>41</b> |
| <b>Figura 18. Área bajo la curva de los eventos de consumo de chocolate en segmentos de 30 minutos de animales WT y APP/PS1. ....</b> | <b>41</b> |
| <b>Figura 19. Tiempo de consumo de agua en segmentos de 30 minutos de animales WT y APP/PS1.....</b>                                  | <b>42</b> |
| <b>Figura 20. Tiempo de consumo de chocolate en segmentos de 30 minutos de animales WT y APP/PS1.....</b>                             | <b>43</b> |
| <b>Figura 21. Área bajo la curva del tiempo de consumo de chocolate en segmentos de 30 minutos de animales WT y APP/PS1.....</b>      | <b>44</b> |
| <b>Figura 22. Intervalo inter-evento del consumo de chocolate en animales WT y APP/PS1. ....</b>                                      | <b>45</b> |
| <b>Figura 23. Distribución de intervalos inter-evento de consumo de chocolate en animales WT y APP/PS1.....</b>                       | <b>46</b> |
| <b>Figura 24. Tiempo promedio de consumo de chocolate en animales WT y APP/PS1. ....</b>  | <b>47</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Figura 25. Lickometro capacitivo.....</b>  | <b>48</b> |
| <b>Figura 26. Lickometro capacitivo instalado en jaula.....</b>   | <b>49</b> |
| <b>Figura 27. Animal interactuando con la boquilla del lickometro capacitivo.....</b>   | <b>49</b> |
| <b>Figura 28. Registro de lamidas y eventos de consumo obtenidos con el lickometro capacitivo en prueba piloto. ....</b>                    | <b>50</b> |
| <b>Figura 29. Esquema de las alteraciones sinápticas observadas en el modelo APP/PS1 que modularían la microestructura de consumo. ....</b> | <b>66</b> |

## **ÍNDICE DE TABLAS**

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Tabla 1: lista de componentes Lickometro Fotoeléctrico .....</b>                            | <b>20</b> |
| <b>Tabla 2: Lista de componentes Lickometro Capacitivo .....</b>                               | <b>21</b> |
| <b>Tabla 3. Detalle de los episodios de consumo registrados durante la prueba piloto. ....</b> | <b>51</b> |

## **GLOSARIO**

AD: Enfermedad de Alzheimer (del inglés: Alzheimer Disease)

A $\beta$ : péptido beta amiloide

PSEN1: presenilina-1

PSEN2: presenilina-2

APP: Proteína Precursora Amiloide (del inglés: Amyloid Precursor Protein)

ApoE: Apolipoproteína E

$\alpha$ 7nAChRs: Receptor Nicotínico de Acetilcolina  $\alpha$ 7

NMDAR: Receptor N-metil-D-aspartato

mGluR5: Receptor Metabotrópico de Glutamato 5

VTA: Área Ventral Tegmental (del inglés: Ventral Tegmental Area)

nAc: Núcleo Accumbens

MSN: Neurona Espinosa Mediana (del inglés: Medium Spiny Neuron)

AMPC: Adenosín Monofosfato Cíclico

PKA: Proteína Quinasa A

LTP: Potenciación a Largo Plazo (del inglés: Long-Term Potenciation)

GlyR: Receptor Ionotrópico de Glicina

CPP: Condicionamiento de Preferencia de Lugar (del inglés: Conditioned Place Preference)

DID: Consumo en la Oscuridad (del inglés: Drinking in the Dark)

## RESUMEN

Basado en estudios previos que mostraron la existencia de alteraciones del sistema de recompensa en modelos de neurodegeneración, esta tesis explora el impacto de las alteraciones en el sistema de recompensa en la microestructura del consumo de líquidos en un modelo transgénico de la Enfermedad de Alzheimer. Para este fin, fueron desarrollados y validados dos dispositivos: un lickometro fotoeléctrico y otro capacitivo, diseñados para medir parámetros como la frecuencia y duración de eventos de consumo (bouts). Estas herramientas permitieron caracterizar el patrón temporal de ingesta de sustancias hedónicas, como chocolate líquido, en ratones transgénicos APP/PS1.

El análisis de la microestructura se llevó a cabo mediante scripts personalizados en Python, los cuales establecieron el patrón de consumo y segmentaron los datos en intervalos de 30 minutos para calcular métricas relacionadas con la motivación y persistencia de la conducta de ingesta. Los resultados mostraron diferencias significativas en la frecuencia de los eventos de consumo y en el tiempo promedio de duración de estos eventos, entre los grupos experimentales, lo que podría estar relacionado con alteraciones en los circuitos de recompensa, mediadas por cambios en los receptores de glicina previamente descritos en este modelo animal.

Este estudio proporciona una aproximación detallada para analizar la conducta de consumo en modelos animales de la Enfermedad de Alzheimer, resaltando su potencial como herramienta para la detección temprana de síntomas no cognitivos asociados a la Enfermedad de Alzheimer en animales de laboratorio.

## **ABSTRACT**

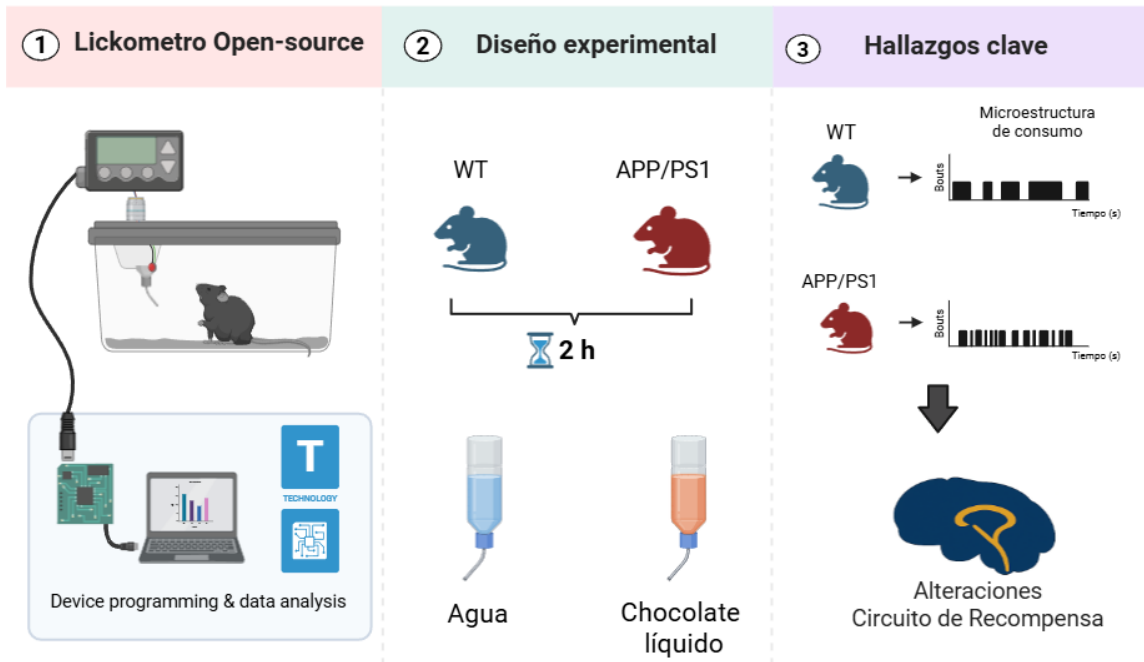
Based on previous studies that showed the existence of alterations in the reward system in neurodegeneration models this thesis explores the impact of alterations in the reward system on the microstructure of liquid consumption in transgenic models of Alzheimer's Disease. To this end, two electronic devices were developed and validated: a photoelectric lickometer and a capacitive lickometer, designed to measure parameters such as frequency and duration of consumption events (bouts). These tools enabled the characterization of the temporal consumption patterns of hedonic substances, such as liquid chocolate, in APP/PS1 transgenic mice.

The microstructural analysis was conducted using custom Python scripts, which established the consumption pattern and segmented the data into 30-minute intervals to calculate metrics related to the motivation and persistence of ingestive behavior. The results revealed significant differences in the frequency of bouts and average bout time, between experimental groups, suggesting alterations in reward circuits, mediated by changes in glycine receptors previously described in this animal model.

This study provides a detailed approach to analyzing consumption behavior in animal models of Alzheimer's Disease, highlighting its potential as a tool for the early detection of non-cognitive symptoms associated with Alzheimer's Disease in laboratory animals.

# RESUMEN GRÁFICO

## Microestructura del consumo hedónico en el modelo APP/PS1



# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Enfermedad de Alzheimer

La Enfermedad de Alzheimer (AD) es una enfermedad neurodegenerativa que afecta al sistema nervioso central y es la principal causa de demencia en adultos mayores. Se caracteriza por pérdida de memoria y deterioro cognitivo (Alzheimer's Disease International, 2024; Perrin et al., 2009). Esta patología es progresiva, teniendo impacto en la rutina diaria de los pacientes, aumentando el grado de dependencia en realizar actividades diarias, con lo que afecta no solo a quien la padece, sino que también a su entorno familiar y social. Los casos de demencia en el mundo se estiman que serán alrededor de 139 millones para el año 2050, de los cuales, aproximadamente 60-70% corresponderán a pacientes con AD (World Health Organization, 2017).

Pese a que las causas de esta enfermedad no están del todo claras, estudios *post mortem* indican una acumulación de placas seniles y ovillos fibrilares, formados por formas insolubles del péptido beta amiloide ( $A\beta$ ) y proteína hiperfosforilada tau, una proteína vinculada a la unión de los microtúbulos, los que se asocian a tubulina para estabilizar el citoesqueleto neuronal, lo que provoca estrés oxidativo y neuroinflamación (Ittner & Götz, 2011). Aun cuando el curso temporal de estas dos formas de agregación permanece en discusión, estudios indican que la agregación de oligómeros solubles de

$A\beta$  preceden a la hiperfosforilación de tau (Bilousova et al., 2016; Long & Holtzman, 2019).

AD ha sido clasificado en dos formas: esporádica, de origen desconocido y familiar, de origen hereditario, siendo este último el responsable del 5% de los casos (Andrade-Guerrero et al., 2023; Wu et al., 2012). Las mutaciones asociadas se radican en genes que codifican para presenilina 1 (PSEN1), presenilina 2 (PSEN2), proteína precursora amiloide (APP) y Apolipoproteína E (ApoE), entre otras (Andrade-Guerrero et al., 2023).

La fisiopatología de AD comienza con el proceso de agregación de  $A\beta$  dado por la escisión de la proteína precursora amiloide (APP) mediada por  $\beta$ -secretasa y  $\gamma$ -secretasa, las que generan péptidos con una longitud de 39 a 42 aminoácidos (Bai et al., 2021). La agregación de monómeros de  $A\beta$  en oligómeros generan neurotoxicidad, derivando eventualmente en extensa muerte neuronal. Un proceso crítico en la agregación y toxicidad de  $A\beta$  es la interacción de oligómeros solubles con la bicapa lipídica y proteínas presentes en ella tales como el receptor nicotínico de acetilcolina  $\alpha 7$  ( $\alpha 7nAChRs$ ), receptores de N-metil-D-aspartato (NMDAR) y receptor metabotrópico de Glutamato (5 mGluR5) (Babaei, 2021; Renner et al., 2010; Tu et al., 2014). Estudios en modelos celulares indican que esta interacción induce el ingreso de calcio al citosol y consecuentemente un aumento en especies reactivas de oxígeno (Evangelisti et al., 2012; Fani et al., 2022; Sepúlveda et al., 2014), dado por el incremento en la producción de ATP mediante el metabolismo oxidativo requerido, con el fin de reestablecer las concentraciones elevadas de calcio en el citosol. Esto ha sido evidenciado *in vivo* en

modelos animales transgénicos que sobre expresan APP debido a que presentan mutaciones encontradas en humanos que presentan AD, siendo interesante notar que el estrés oxidativo precede a la acumulación de A $\beta$  (Praticò et al., 2001). Además, se ha demostrado que existen alteraciones propias de los mecanismos regulatorios de calcio intracelular por efectos de A $\beta$  intracelular. Por ejemplo, la calmodulina, una proteína sensible a los niveles de calcio intracelular y que regula mecanismos de señalización intracelular, ha sido involucrada con alteraciones en la excitabilidad neuronal y plasticidad. Así, se ha demostrado que un incremento del complejo calcio calmodulina estimula a BACE1, la beta secretasa que cliva a la proteína precursora amiloide, generando oligómeros A $\beta$  (O'Day et al., 2015). En modelos celulares tratados con oligómeros solubles de A $\beta$  se ha detectado un incremento en la expresión y actividad de BACE1 (Giliberto et al., 2009). Por lo tanto, existiría retroalimentación positiva tendiente a incrementar la producción de A $\beta$ , dado por oligómeros A $\beta$ . Además, se ha descrito que el complejo calcio calmodulina se une a oligómeros de A $\beta$ , lo que podría estar relacionado con la regulación intracelular de oligómeros A $\beta$  (Poejo et al., 2021). El incremento en los niveles de A $\beta$  intracelular, causa la activación de cascadas de señalización que hiperfosforilan tau, el que a su vez pierde afinidad por los microtúbulos desensamblándolos, lo que interfiere en el transporte axonal y la sinapsis llevando a muerte celular (Long & Holtzman, 2019).

A nivel intracelular, se postula que A $\beta$  ingresa vía endocitosis y que otra fracción originada del fragmento C99 de APP sufre escisión via  $\gamma$ -secretasa en membranas del complejo proteico sintético, donde el A $\beta$  resultante se retiene intra neuronalmente

(Volloch & Rits-Volloch, 2023) y su acumulación es debido al desbalance que existe entre la producción de A $\beta$ , la importación extracelular de A $\beta$  y su clearance (Gallego Villarejo et al., 2022). Los efectos tóxicos reportados de esta acumulación incluyen desregulación calcio, inhibición del sistema ubiquitina proteosoma, disfunción mitocondrial, activación de respuestas inflamatorias y desregulación en el balance inhibitorio excitatorio neuronal (Volloch & Rits-Volloch, 2023).

## **1.2 Síntomas no cognitivos de la Enfermedad de Alzheimer**

El deterioro cognitivo representa un estadio irreversible y tardío de AD, por eso, es indispensable generar estudios respecto a su detección temprana. En el último tiempo ha sido reconocido la asociación que posee AD en etapas tempranas con el desarrollo de síntomas no cognitivos tales como apatía, irritabilidad alteraciones del ritmo circadiano, depresión y ansiedad (Chen et al., 2024; Masters et al., 2015). Tanto la irritabilidad, como ansiedad y fatiga han sido correlacionados con la presencia de biomarcadores cerebrospinales de A $\beta$  y tau (Babulal et al., 2022). Entre otros síntomas, toma relevancia para esta tesis aquellos relacionados con el consumo de sustancias hedónicas.

La anhedonia, definida como la disminución o ausencia de placer en actividades previamente disfrutables, es un síntoma neuropsiquiátrico que tiene un impacto profundo en el bienestar emocional de los pacientes (Vaquero-Puyuelo et al., 2021). Tiene relación con constructos relacionados a: valoración de la recompensa, anticipación y la toma de

decisiones, motivación dirigida a objetos y afecto negativo. Profundizando en lo neurobiológico, se relaciona con alteraciones en los circuitos del sistema de recompensa, como el estriado ventral y la corteza prefrontal medial (Der-Avakian & Markou, 2012).

Por otro lado, las alteraciones del olfato y el gusto, y la asociada ingesta de sustancias o alimentos, son manifestaciones tempranas y prominentes de AD (Schmicker et al., 2023). La anosmia y la hipogeusia están vinculadas con la neurodegeneración en el bulbo olfatorio y las áreas corticales relacionadas, como la corteza entorrinal. Estas alteraciones pueden preceder al deterioro cognitivo, actuando como posibles biomarcadores tempranos de la enfermedad (Aliani et al., 2013; Marin et al., 2018).

### **1.3 Sistema de Recompensa**

El sistema mesolímbico, también denominado Sistema de Recompensa, conecta el mesencéfalo con el sistema límbico y juega un papel crucial en la motivación, el aprendizaje basado en recompensa y la modulación de experiencias placenteras o aversivas y su función principal radica en dirigir la atención hacia estímulos recompensantes, incentivando la ejecución de acciones que generan satisfacción y aprendizaje. Incluye el Área Ventral Tegmental (VTA), el núcleo accumbens (nAc), la amígdala, la sustancia negra, la corteza prefrontal y el hipocampo (Kelley & Berridge, 2002; Koob & Volkow, 2016).

El VTA es un grupo heterogéneo de neuronas ubicado en la región ventral del mesencéfalo, medial al núcleo rojo y próximo al fascículo medial del cerebro. Este núcleo está compuesto predominantemente por neuronas dopaminérgicas (Root et al., 2016) que proyectan hacia otras regiones del cerebro, como la corteza prefrontal, la amígdala, el hipocampo y el nAc, donde liberan dopamina para regular funciones asociadas a la recompensa, la motivación y memoria (Dafny & Rosenfeld, 2017; Russo & Nestler, 2013).

La corteza prefrontal constituye la porción más anterior del lóbulo frontal y se subdivide en tres regiones principales: dorsolateral, medial y orbital. Esta región es responsable de funciones cognitivas superiores, como la planificación compleja, la toma de decisiones, el control de emociones, la autoconciencia y la ejecución de conductas motivadas. Además, desempeña un papel esencial en la integración de información emocional y contextual para guiar el comportamiento (Valdés G & Torrealba L, 2006).

El nAc, localizado en el estriado ventral, se encuentra anteriormente al borde posterior de la comisura anterior y paralelo a la línea media (Salgado & Kaplitt, 2015). Está compuesto principalmente por neuronas de proyección espinosas medianas (MSN), de tipo GABAérgicas, que se subdividen en dos tipos según los receptores de dopamina que expresan: D1-MSN y D2-MSN (Russo & Nestler, 2013). Las neuronas D1-MSN están asociadas a la vía directa y sus receptores D1 están acoplados a proteínas  $G_{\alpha s}$ , lo que estimula la producción de AMPc y la actividad de la proteína quinasa A (PKA), aumentando la excitabilidad neuronal. Por otro lado, las D2-MSN forman parte de la vía indirecta, y sus receptores D2 están acoplados a proteínas  $G_{\alpha i}$ , que inhiben la producción

de AMPc y reducen la actividad de la PKA (Beaulieu & Gainetdinov, 2011). Recibe aferencias glutamatérgicas desde la corteza prefrontal, el hipocampo y la amígdala basolateral, así como aferencias dopaminérgicas provenientes del VTA. Las proyecciones del nAc, principalmente GABAérgicas, se dirigen hacia estructuras como el área tegmental ventral, la sustancia negra pars reticulata, el núcleo pálido ventral y el hipotálamo lateral (Russo & Nestler, 2013). La vía directa, mediada por las D1-MSN, proyecta hacia el VTA y la sustancia negra pars reticulata, mientras que la vía indirecta, asociada a las D2-MSN, modula la actividad del núcleo pálido ventral (Nakanishi et al., 2014; Russo & Nestler, 2013). La vía directa está asociada al aprendizaje basado en recompensa y la adicción, mientras que la vía indirecta se relaciona con comportamientos aversivos y el control de respuestas emocionales negativas (Hikida et al., 2013).

Cuando un estímulo recompensante, como alimento o una droga adictiva es ingerido o administrado, la sensación de satisfacción ocurre por la liberación de dopamina desde los terminales sinápticos del VTA al hipocampo, corteza prefrontal y nAc, lo que genera placer y también facilita la plasticidad sináptica en estas regiones (Di Chiara & Imperato, 1988). La dopamina modula las aferencias glutamatérgicas hacia el núcleo accumbens, favoreciendo la potenciación a largo plazo (LTP). Este proceso incrementa la eficacia sináptica y refuerza las asociaciones entre estímulos y conductas recompensantes, consolidando el aprendizaje basado en recompensa y promoviendo la generación de memoria asociativa (Nakanishi et al., 2014).

Este circuito se ve alterado en la enfermedad de Alzheimer. Estudios post mortem de pacientes diagnosticados con AD en etapas tardías han reportado la presencia de placas seniles en el cuerpo estriado (Wolf et al., 1999), amígdala (Scott et al., 1991). Además, estudios in vivo mostraron atrofia del nAc (Nie et al., 2017), amígdala (Poulin et al., 2011) y un patrón de conectividad disminuido del VTA (Serra et al., 2021)

#### **1.4 Modelos animales de estudio de Alzheimer**

El modelo transgénico APP/PS1, expresa una doble mutación las cuales han sido reportadas en humanos que cursan con AD (APP<sup>swe</sup> y PSEN1) (Iwatsubo et al., 1994; Kelleher & Shen, 2017), por lo que exhibe una alta producción y acumulación de A $\beta$  (Lok et al., 2013) desde 12 semanas de edad (Zhu et al., 2017), aunque el deterioro de la memoria y aprendizaje es evidente en animales de 10 meses (Minkeviciene et al., 2008). De manera notable, se ha reportado que ratones APP/PS1 de 6 meses, presentaron una disminución en la expresión de GlyR en nAc (Fernández-Pérez et al., 2020), junto a una disminución en consumo de sacarosa y etanol (Armijo-Weingart et al., 2024) y un aumento significativo en el consumo de chocolate sólido (Armijo-Weingart et al., datos no publicados). Por lo tanto, como en esta tesis se examinará el consumo de chocolate líquido, uno esperaría un comportamiento similar, justificando la hipótesis

Otro modelo animal interesante en términos de consumo alterado es el ratón Tg2576, el que presenta una mutación en el gen AP que favorece la expresión de la proteína APP695, una de las isoformas de APP que su acumulación forma placas seniles en el cerebro (Hsiao et al., 1996). Usando inmunohistoquímica en cortes coronales de cerebro de este modelo, se identificó una pérdida significativa del número de neuronas dopaminérgicas específicamente en el VTA desde las 12 semanas de edad, disminución de las corrientes evocadas por dopamina en el nAc shell a las 24 semanas y una disminución en el consumo de chocolate solido usando Condicionamiento por Preferencia de lugar (CPP) (Nobili et al., 2017). La interpretación es que la disminución del consumo de esta sustancia estaría causada por una menor recompensa cerebral producto de la alteración del sistema de recompensa. Esta particularidad resulta interesante de estudiar en el modelo APP/PS1.

Cabe notar que los estudios de consumo mencionados, tanto en el modelo APP/PS1, como en Tg2576, presentan diferencias en cuanto a la metodología de administración. En el caso de los animales APP/PS1 se usó la técnica Drinking in the Dark (DID) (Thiele et al., 2014), que mide consumo de líquidos, mientras que en el modelo Tg2576, se estudió el consumo de alimento sólido. Sin embargo, ambos comparten el hecho que la medición fue basada en la cantidad total consumida, dejando de lado otras variables que inciden en la conducta de ingesta, dada la variedad de circuitos neuronales implicados (Hernández Ruiz de Eguilaz et al., 2018). Así, la caracterización de la actividad de modelos animales APP/PS1 durante estos estudios de consumo, entregaría

más detalles acerca de la evaluación motivacional y hedónica de la solución siendo consumida (Naneix et al., 2020).

### **1.5 Técnicas de estudio para comportamiento de consumo**

El estudio de la conducta de consumo en animales de laboratorio se denomina Microestructura del Consumo de líquidos (Davis, 1989), la cual caracteriza el patrón temporal de los eventos cuando se realiza la acción de beber, denominado ‘Eventos de Consumo’ (Bout) (Sibly et al., 1990), a través de la frecuencia (Bout Number) y duración (Bout Length) de ellos, los cuales son realizados mediante dispositivos electrónicos llamados Lickómetros (Wall et al., 1972) (Lickometer o Drinkometer en inglés). Estos se componen de un detector de las lamidas del animal cuando se encuentra bebiendo a través de sensores altamente sensibles que envían la señal a un dispositivo electrónico procesador y que finalmente reporta datos al experimentador para un posterior análisis, con lo que es posible obtener el patrón temporal de consumo durante estudios de ingesta líquida (Davis, 1999). Preliminarmente, diversos sistemas de detección han sido reportados (Czech, 1982; Davis & Smith, 1992; Hayar et al., 2006; Higgins et al., 1992), además de aquellos disponibles comercialmente, con la desventaja que son de alto costo, limitando el acceso a realizar pruebas de este tipo.

El primero en estudiar la microestructura del consumo de líquidos fue Davis y Keehn (Davis & Keehn, 1959), quien, basado en los estudios de Keneth Spence sobre la influencia motivacional del estímulo que condiciona la magnitud de la respuesta

desencadenada (Spence et al., 1950), identificó diferencias en el patrón de lamidas en ratas según el consumo de distintas soluciones como Sacarosa, Cloruro de Sodio y distintas concentraciones de Sacarina. Así incorporó el concepto de ‘Vigor’ al comportamiento de consumo, como una medida del esfuerzo que se ejerce durante la respuesta y que esta se caracteriza por poseer una intención, ritmo y persistencia (Davis & Keehn, 1959).

Los datos obtenidos que usan estos instrumentos han permitido relacionar características del patrón de consumo con ciertos eventos fisiológicos que ocurren antes, durante y después de la ingesta de líquidos, algunos tales como la potencia de la estimulación orosensorial dada la palatabilidad de la sustancia antes y durante la ingesta o inhibición del estímulo por el control gastrointestinal luego de consumir (Johnson, 2018; Smith, 2001).

Por otro lado, ha sido reportado que animales APP/PS1 de 12 a 14 meses, presentan una disminuida aversión al consumo de quinina, dada por una mayor tasa de lamidas cuando se evaluó la microestructura de consumo (Wood et al., 2020). Sin embargo, no ha sido descrito en animales de 6 meses, considerados en estadio temprano para AD. Por ello, y sumado a los resultados obtenidos por nuestro laboratorio, donde se ha encontrado una serie de desregulaciones del nAc y datos preliminares donde el consumo de chocolate sólido aumenta, **evaluar cambios en la microestructura del consumo hedónico de líquidos, entendido como un consumo apetitoso** (esto es, que excita o estimula el apetito, según la definición de la RAE), **en el modelo APP/PS1** a esta edad permitiría

evidenciar cómo las alteraciones sinápticas presentes en este modelo podrían incidir en la conducta de consumo.

Para satisfacer las limitantes en el acceso a realizar estudios de microestructura del consumo, los avances tecnológicos actuales en el campo de la neurociencia han sido significativamente impulsados por el desarrollo de Proyectos de Código Abierto (White et al., 2019). Este enfoque se basa en hacer público tanto el código fuente, elementos utilizados, instrucciones de construcción y cualquier otra información acerca de softwares o dispositivos altamente sensibles y de bajo costo (Pearce, 2020), para el análisis y monitoreo, por ejemplo, de la ingesta hedónica, como los lickómetros. Diversos sistemas han sido publicados, con distintas formas de detección y funcionamiento, cada uno con características particulares que solucionan aquellas necesidades que los propios desarrolladores han detectado (Godynyuk et al., 2019; Hayar et al., 2006; Melo et al., 2022; Williams et al., 2018).

Actualmente y bajo el concepto de Proyectos de Código Abierto, en el Laboratorio de Neurofisiología, Departamento de Fisiología de la Universidad de Concepción se han construido y testados 6 lickómetros fotoeléctricos, los que son capaces de detectar y reportar, tanto la frecuencia como duración de los eventos de consumo (Bouts) realizados por animales C57BL/6J de 2 a 4 meses cuando bebían agua y solución de sacarosa. El principio de detección se basa en un fotointerruptor transmisivo GP1A57HR, compuesto por un diodo emisor infrarrojo ( $\lambda \approx 940$  nm) y un fototransistor, enfrentados a través de una ranura de 10 mm. Cuando la cabeza del ratón atraviesa la ranura para lamer la boquilla, interrumpe el haz infrarrojo; esta

interrupción provoca que el fototransistor cambie su estado lógico de alto a bajo y el dispositivo adquiere la señal digital mediante el microcontrolador Adafruit Feather m0 Adalogger, registrando cada interrupción como el inicio de un evento de consumo y el tiempo que permanece interrumpido como la duración del evento de consumo. De este modo se mide la frecuencia y la duración de cada evento sin contacto mecánico del animal experimental.

Por otro lado, el proyecto LIQ HD (Petersen et al., 2023) es un equipo capaz de monitorear la conducta de ingesta en tiempo real de hasta 18 jaulas al mismo tiempo en estudios de consumo de dos botellas, usando sensores de tipo capacitivo, un sensor táctil que se ha descrito poseer una alta resolución para detectar las lamidas de un animal bebiendo y que ocurren en intervalos de fracciones de segundos (Melo et al., 2022). Por lo tanto, en esta tesis también se plantea el desarrollo de una nueva herramienta, llamada lickometro capacitivo, para establecer la microestructura del consumo hedónico en modelos animales. Este lickometro capacitivo emplea el controlador MPR121 (sensor capacitivo), un convertidor táctil de 12 canales que cuantifica cambios de capacitancia. La boquilla metálica se conecta a un electrodo del sensor capacitivo, formando un condensador con referencia a tierra. Cuando la lengua del animal, rica en electrolitos, contacta la boquilla, aumenta la capacitancia ( $\Delta C$ ). El sensor MPR121 integra esta señal y la digitaliza para ser enviada al microcontrolador Arduino Mega 2560, que se encarga de procesarlas y reportarlas en un archivo .csv (separado por comas) para su posterior análisis. Si la señal supera un umbral programado previamente por el operador, se registra como una lamida. El sensor

muestra cada canal secuencialmente (100 Hz), lo que permite una detección fiable incluso de contactos breves (~5 ms) y de muy baja fuerza como las lamidas de un ratón, sin falsos positivos por ruido ambiental. De esta manera, el lickometro capacitivo entrega una mayor resolución para detectar lamidas reales que ocurren cuando el animal experimental está bebiendo y que ocurren en intervalos de milisegundos.

Se considera que las alteraciones en la vía glicinérgica que presenta el modelo animal utilizado APP/PS1 afectarían su comportamiento durante de ingesta de sustancias hedónicas, como chocolate líquido, con alto grado de detalle, similar a lo visto con alcohol y sacarosa (Armijo-Weingart et al., 2024). Además, dada la alta resolución que poseen sus sensores táctiles, los cuales son capaces de detectar señales provenientes de las lamidas de un animal bebiendo, este equipo podría ser integrado posteriormente en otros estudios altamente sensibles como fotometría in vivo y optogenética (Yu et al., 2023), lo que permitiría ahondar con alto grado de detalle, en tiempo real y de forma conjunta, la actividad neuronal que ocurre en modelos animales, mientras se ejecuta la conducta de ingesta.

Esta tesis plantea implementar el uso de Lickómetros, disponibles como open source, una novedosa herramienta altamente resolutive, para el monitoreo en tiempo real de la microestructura del consumo de líquidos. Esto profundizará el entendimiento de los mecanismos neurobiológicos subyacentes a la ingesta de sustancias hedónicas y su relación con AD, utilizando modelos animales genéticamente modificados APP/PS1 de 6 meses.

## **2. PROBLEMA E HIPÓTESIS**

### **2.1 Hipótesis**

Animales APP/PS1 presentan un aumento en el número de eventos de consumo (bouts) y en el tiempo de consumo (total y duración promedio del evento de consumo) durante la ingesta de chocolate líquido, en comparación con animales control (Wild Type).

### **2.2 Objetivo General**

Evaluar la microestructura del comportamiento de ingesta en animales transgénicos APP/PS1 de 6 meses, en el contexto de consumo de sustancias hedónicas.

### **2.3 Objetivos Específicos**

- Desarrollar y estandarizar un lickometro para monitorear el consumo de líquidos.
- Caracterizar la microestructura de consumo hedónico en el modelo APP/PS1.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Animales**

Se utilizaron ratones WT y APP/PS1 (B6.Cg-Tg(APP<sup>swe</sup>,PSEN1<sup>dE9</sup>)85Dbo/Mmjax) procedentes de colonias derivadas de Jackson Laboratories (Stock Number 005864; Bar Harbor, ME) y mantenidas en el Bioterio del Centro Regional de Estudios Avanzados para la Vida (CREAV) de la Universidad de Concepción. Los grupos experimentales se denominarán WT (wild type: sin mutación) y APP/PS1 (con doble mutación). Las mutaciones que presenta el animal APP/PS1 son aquellas reportadas en seres humanos con AD y consisten en una variante mutante de la proteína APP (Swedish mutation) y la delección del exón 9 del gen que expresa presenilina 1 (DeltaE9) (Jankowsky et al., 2004). Estudios previos han sido realizados en el Laboratorio de Neurofisiología UdeC usando este modelo a los 6 meses de edad (Armijo-Weingart et al., 2024).

#### **3.2 Modificaciones físicas e impresión 3D**

Basado en el modelo desarrollado anteriormente de un prototipo de lickometro fotoeléctrico en una tesis de pregrado y sus conclusiones (Ramos, 2021), se utilizó el software Autodesk Inventor Professional 2025, instalado en un PC Lenovo ThinkPad P16s Gen 2 con sistema operativo Windows 11 para realizar las modificaciones al soporte que aloja el sistema electrónico y al sistema detector de señales. Estas

modificaciones incluyeron ajustes en el diseño del soporte para disminuir su tamaño, ocultar los cables, y permitir que el animal mantuviera una postura fija al beber.

Para la fabricación de las piezas, se utilizó una impresora Creality Ender 3 empleando filamento PLA Creality de 1.75mm y una boquilla de latón con un diámetro de 0.4mm. Las condiciones de impresión se ajustaron según las especificaciones del fabricante establecidas en el software de impresión UltiMaker Cura versión 5.8.1.

Considerando sus características técnicas y adecuación al diseño preliminarmente construido del lickometro fotoeléctrico, se reemplazó el sensor Infrarrojo TCRT5000 Seguidor De Líneas por sensor fotoeléctrico GP1A57HR junto con tarjeta SparkFun Photo Interrupter Breakout Board - GP1A57HRJ00F.

### **3.3 Modificación código de programación**

Se realizó modificación del código Arduino que controla el microcontrolador Adafruit Feather m0 Adalogger en la línea 59 del archivo a header.h para ajustar las instrucciones relacionadas con el intervalo de muestreo.

### **3.4 Creación de script para procesar los datos y generar gráficas de patrón de consumo**

Por medio de Python (versión 3.11.9) se desarrollaron tres scripts para filtrado y procesamiento de los datos obtenidos por el dispositivo y determinar el número de

acercamientos y la duración de cada evento de consumo. Los datos también fueron segmentados en intervalos de 30 minutos y analizados para identificar diferencias en la microestructura del consumo en los grupos experimentales.

### **3.5 Validación de la funcionalidad del modelo generado**

6 animales C57Bl/6J fueron dispuestos individualmente. Luego de 2 horas comenzado el ciclo de oscuridad se evaluó el consumo de agua y solución de sacarosa 5% durante 2 horas con el dispositivo. En cada prueba fue dispuesta una cámara de video junto con una jaula seleccionada aleatoriamente y se grabó el experimento. Posteriormente, los datos generados por el dispositivo fueron contrastados con el video, cronometrando cada evento de consumo.

### **3.6 Estudio con solución de chocolate líquido preparado**

Se preparó una solución de chocolate líquido utilizando 5 gramos de Cacao Orgánico en polvo PACARI, 200 mL de leche semidescremada COLUN y 15 gramos de sacarosa para análisis (A.C.S) Winkler. Para verificar la palatabilidad de la solución fueron dispuestos 8 animales C57BL/6J a consumir la solución preparada durante 2 horas en el ciclo de oscuridad. El consumo de la solución se midió registrando la diferencia en el peso de las botellas antes y después de la prueba. Como control, se utilizó agua ofrecida bajo las mismas condiciones experimentales a los mismos animales.

### **3.7 Validar la funcionalidad del lickometro capacitivo**

Para esta prueba piloto, se seleccionó un animal disponible en el Bioterio del Departamento de Fisiología, que fue mantenido en condiciones de comida y agua ad libitum en un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas. Durante el ciclo de luz se restringió de comida y agua por 2 horas y luego fue evaluado el consumo de solución de sacarosa 5% por 5 minutos usando el lickometro capacitivo conectado a la boquilla metálica de la botella y se registrará la cantidad de veces que el lickometro capacitivo fue capaz de registrar una señal proveniente del animal cuando hace contacto con la lengua cada vez que se acerque a beber. El reporte indicará la cantidad de señales detectadas por evento de consumo (lamidas), la duración del evento y el tiempo promedio del intervalo entre cada lamida realizada por evento.

### **3.8 Identificación de la microestructura de consumo hedónico en el modelo APP/PS1**

Un total de 6 animales APP/PS1 y 6 WT de 6 meses fueron puestos a prueba de consumo de chocolate líquido con el dispositivo puesto en sus jaulas. 2 horas luego de iniciado el ciclo de oscuridad fue reemplazada la botella de agua por una que contenía la solución de chocolate líquido y se les permitió beber de ella por 2 horas. El

procesamiento de los datos reportados por el lickometro fotoeléctrico se realizó utilizando los scripts desarrollados en Python.

### 3.9 Análisis de los datos

Para el análisis estadístico de los datos de microestructura se utilizó el software GraphPad Prism versión 10.4.1 empleando una prueba t-student de dos colas, no pareada y ANOVA dos vías, seguida de una prueba post hoc de Bonferroni. Un nivel de probabilidad (p) menor a 0.05 fue considerado estadísticamente significativo.

**Tabla 1: lista de componentes Lickometro Fotoeléctrico**

| Nombre   | Cantidad | Link  |
|--|----------|---|
| Adafruit M0 Feather Adalogger                            | 1        | <a href="#">Adafruit Feather M0 Adalogger : ID 2796 : Adafruit Industries, Unique &amp; fun DIY electronics and kits</a>                              |
| Pin corto hembra header set                              | 1        | <a href="#">Pin Header Hembra 40P SMT 2mm</a>   |
| Adafruit Feather OLED wing                               | 1        | <a href="#">Adafruit FeatherWing OLED - 128x32 OLED Add-on For Feather : ID 2900 : Adafruit Industries, Unique &amp; fun DIY electronics and kits</a> |
| SparkFun Photo Interrupter Breakout Board - GP1A57HRJ00F | 1        | <a href="#">SparkFun Photo Interrupter Breakout Board - GP1A57HRJ00F</a>  |
| Resistencia 1K Ohm 1/4th Watt                            | 1        | <a href="#">resistencia,1kohm,0.25watt</a>  |
| Sensor Fotoelectrico - GP1A57HRJ00F                      | 1        | <a href="#">Photo Interrupter - GP1A57HRJ00F</a>  |
| Tarjeta microSD  | 1        | <a href="#">SanDisk Memoria 32GB microSDHC (130MB/s) A1 UHS-1 U3 V30 Extreme Action Cam   pc Factory</a>  |
| Filamento PLA Negro 1kg Creality                         | 1        | <a href="#">FILAMENTOS FILAMENTOS PLA NEGRO 1KG CREALITY   FILAMENTOS</a>   |
| Bateria 18650  | 2        | <a href="#">Pilas Bateria 18650 Recargable Zhv 7800mah 3.7v / Chinatek   Cuotas sin interés</a>   |

**Tabla 2: Lista de componentes Lickometro Capacitivo**

| <b>Nombre</b>                              | <b>Cantidad</b> | <b>Link</b>  |
|--|-----------------|--|
| Arduino Mega 2560                          | 1               | <a href="#">Arduino Mega 2560 R3 – MCI Electronics</a>   |
| 2.8” Capacitive Touch Shield               | 1               | <a href="#">2.8 TFT Touch Shield for Arduino with Resistive Touch Screen v2 [STEMMA QT / Qwiic] : ID 1651 : Adafruit Industries, Unique &amp; fun DIY electronics and kits</a> |
| Adafruit Data Logging Shield               | 1               | <a href="#">Adafruit Assembled Data Logging shield for Arduino : ID 1141 : Adafruit Industries, Unique &amp; fun DIY electronics and kits</a>                                  |
| Pines Shield Stacking Headers para Arduino | 1               | <a href="#">Shield stacking headers for Arduino (R3 Compatible) : ID 85 : Adafruit Industries, Unique &amp; fun DIY electronics and kits</a>                                   |
| Bateria de litio 12.5mm 3V CR1220          | 1               | <a href="#">Pilas Maxell Cr1220 3v Litio Tipo Botón Japonesa Pack 5 Uds.   Cuotas sin interés</a>  |
| Tarjeta microSD                            | 1               | <a href="#">SanDisk Memoria 32GB microSDHC (130MB/s) A1 UHS-1 U3 V30 Extreme Action Cam   pc Factory</a>   |
| Sensor Capacitivo MPR121 12-Key            | 3               | <a href="#">Adafruit 12-Key Capacitive Touch Sensor Breakout - MPR121 [STEMMA QT] : ID 1982 : Adafruit Industries, Unique &amp; fun DIY electronics and kits</a>               |
| Fuente de poder 12V 5A para Arduino        | 1               | <a href="#">Fuente De Poder Transformador Cargador 9v 1a Arduino Uno   Cuotas sin interés</a>  |
| Conector Qwiic Multiport                   | 1               | <a href="#">SparkFun Qwiic Multiport (Works with Stemma QT) : ID 4861 : Adafruit Industries, Unique &amp; fun DIY electronics and kits</a>                                     |
| Cable Qwiic Breadboard Jumper              | 1               | <a href="#">Qwiic Cable - Breadboard Jumper (4-pin)</a>  |
| Flexible Qwiic Cable – 500mm               | 1               | <a href="#">Flexible Qwiic Cable - 500mm</a>   |
| Cable 22AWG                                | 18 metros       | <a href="#">Cable Para Protoboard Blanco 22awg De 15m   Cuotas sin interés</a>   |
| Cinta de cobre adhesiva ¼”                 | 1               | <a href="#">Cinta Adhesiva De Cobre Conductiva Para Blindaje De Guitarra   Cuotas sin interés</a>  |
| Filamento PETG Transparente 1kg Creality   | 1               | <a href="#">FILAMENTOS PETG TRANSPARENTE 1KG CREALITY   FILAMENTOS</a>   |

## 4. RESULTADOS

- Objetivo Especifico 1: Desarrollo de un equipamiento para monitoreo de consumo

Dado el carácter innovador de esta tesis, fue necesario construir un lickometro de tipo fotoeléctrico y otro capacitivo. Los materiales utilizados, junto el link donde fueron adquiridos mayoritariamente en Amazon se describen en la Tablas 1 y 2.

El diseño del lickometro fotoeléctrico, debía cumplir con características que le permitieran monitorear la conducta de ingesta de los animales de manera óptima y que fuera de fácil manejo para el operador. De esta manera, el diseño final impreso en 3D que se muestra en la Figura 1, integra componentes como una pantalla con botones que permiten controlar el funcionamiento del dispositivo, baterías que lo hacen portátil, cables ocultos para evitar que los animales los dañen. Además, el soporte para las botellas asegura una postura estable durante las pruebas de consumo, con lo que se asegura un funcionamiento adecuado del dispositivo



*Figura 1. Vista general del dispositivo impreso en 3D.*

Con el fin de garantizar la detección precisa de cada evento de consumo, el diseño de la pieza que aloja el sensor GP1A57HR se optimizó para inducir una postura adecuada del animal durante la ingesta. La estructura posee una forma cilíndrica que cubre la boquilla de la botella, obligando al animal a introducir su nariz en el interior cada vez que se disponga a beber. Esto no solo asegura que el sensor registre únicamente eventos reales de consumo, sino que también minimiza posibles errores causados por movimientos no relacionados con el acto de beber.



***Figura 2. Vista detallada del sistema sensor.***

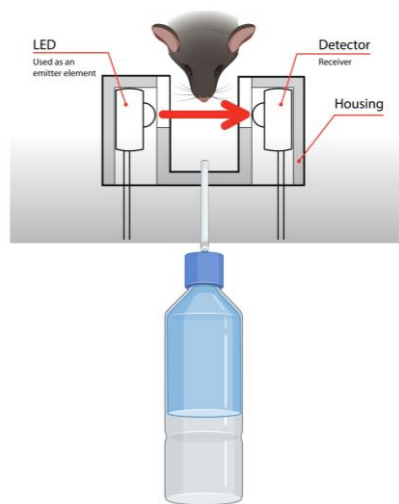
Pieza del lickometro fotoeléctrico donde se encuentra la boquilla para que el ratón beba y en el que se aloja el sistema detector de señales con el sensor fotoeléctrico GP1A57HR.

El lickometro fotoeléctrico fue diseñado específicamente para integrarse en jaulas estándar utilizadas comúnmente en el alojamiento de animales de laboratorio, sin necesidad de adicionar elementos externos que pudieran alterar su comportamiento natural de ingesta. Este diseño permite que el dispositivo sea mínimamente invasivo y no interfiera con el entorno habitual de los animales, garantizando así condiciones experimentales óptimas y resultados más representativos de la microestructura del consumo de líquidos.



*Figura 3. Lickometro fotoeléctrico montado en jaula.*

El sensor GP1A57HR que posee el lickometro fotoeléctrico se compone de un LED emisor de luz infrarroja y un LED receptor, funciona mediante la interrupción de este haz de luz emitido desde el LED emisor hacia el receptor. En el caso del lickometro fotoeléctrico, cuando el animal introduce su cabeza en la pieza cilíndrica para alcanzar la boquilla, su movimiento interrumpe el haz de luz, lo que genera una señal eléctrica. Esta señal es procesada por el microcontrolador, que registra cada acercamiento en la tarjeta SD. Este mecanismo de detección altamente sensible permite capturar la duración y frecuencia de los eventos de consumo.

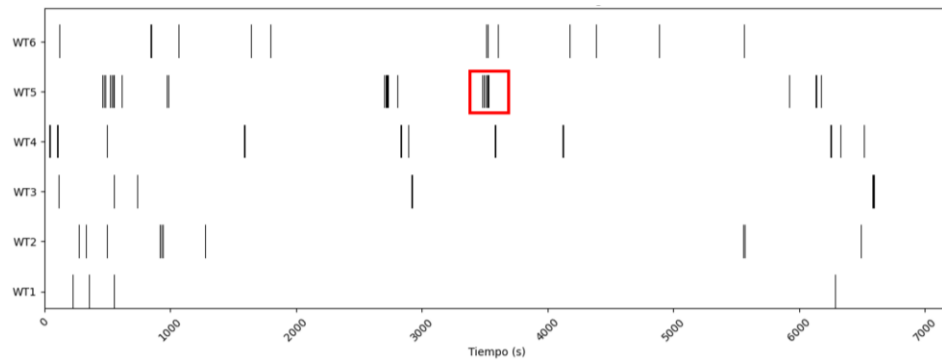


***Figura 4. Esquema general del funcionamiento del lickometro fotoeléctrico.***

Esquema ilustrativo de la forma en que el sensor capta la presencia del animal cuando se dispone a beber.

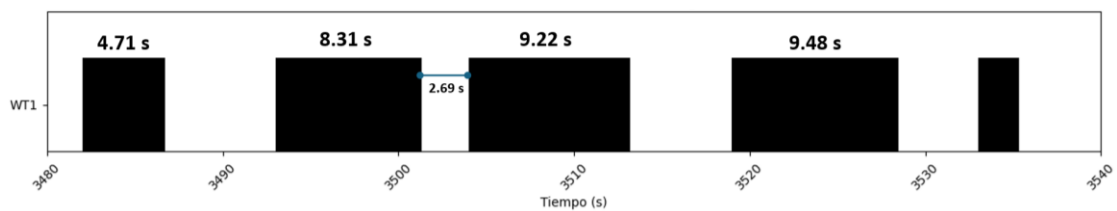
La Figura 5 presenta el patrón de consumo de agua registrado en 6 animales C57BL/6J durante un periodo de 2 horas. Cada barra representa un evento de acercamiento al lickometro fotoeléctrico, mientras que el ancho de las barras refleja la duración de cada evento. Gracias a los scripts desarrollados en Python, que procesaron los datos generados por el dispositivo, fue posible construir este patrón de consumo detallado.

La Figura 6 amplía esta información al mostrar en detalle los eventos encerrados en el cuadro rojo de la Figura 5, permitiendo observar con mayor precisión la duración de cada evento, haciendo posible también determinar el intervalo de tiempo entre cada evento. Esta visualización detallada facilita la comprensión de la dinámica de ingesta, lo que resulta esencial para caracterizar la microestructura del consumo.



***Figura 5. Microestructura de consumo de agua en 6 animales control.***

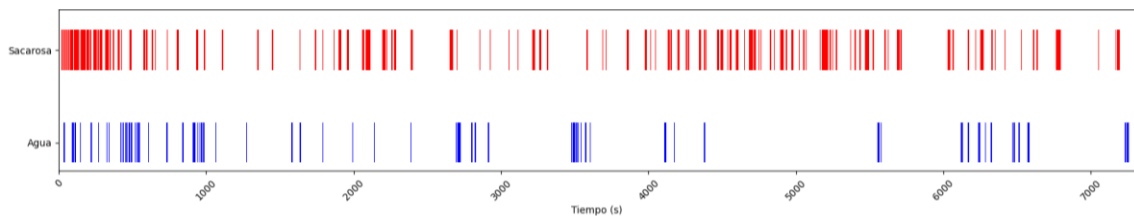
Cada una de las líneas en la fila representa un evento de acercamiento, definido como bout o evento de consumo. El recuadro en rojo esta expandido en la próxima figura.



***Figura 6. Eventos de consumo a una escala temporal mayor.***

Eventos derivados de Fig. 5 para mostrar resolución temporal y características.

En la primera parte del proceso de validación del lickometro fotoeléctrico, se registró el patrón de consumo de agua y solución de sacarosa al 5% en 6 animales C57BL/6J durante un periodo de 2 horas utilizando el lickometro fotoeléctrico. Al unificar y superponer los patrones de consumo individuales de cada animal en un solo registro, se observaron diferencias en la frecuencia y duración de los eventos de consumo entre ambas condiciones experimentales. Estos datos muestran un patrón característico que refleja la mayor persistencia en el consumo de sacarosa en comparación con el agua.

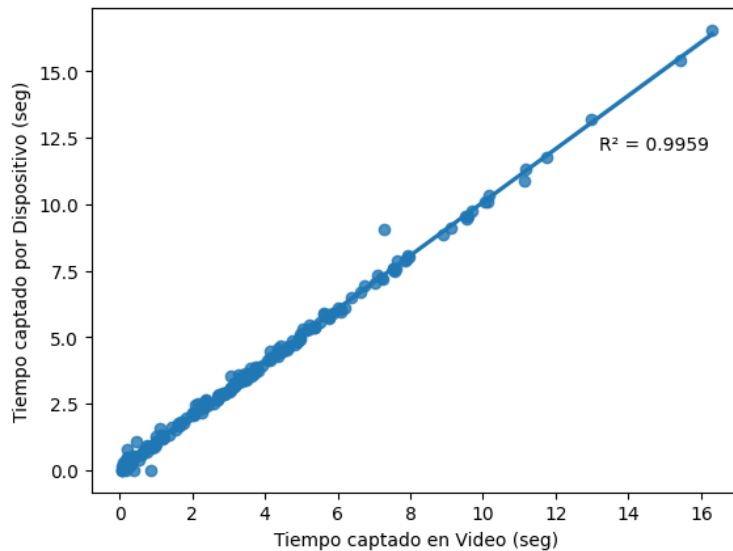


**Figura 7. Patrón de consumo total para sacarosa y agua en 6 animales control.**

Patrón de consumo promedio de agua y solución de sacarosa 5% de 6 animales C57BL/6j durante 2 horas. Cada barra representa un evento de consumo al dispositivo y el ancho de estas barras representa el tiempo de permanencia. Notar el aumento de eventos promedio en la condición de consumo de sacarosa.

### Validación manual del lickometro fotoeléctrico.

Como segunda parte del proceso de validación del lickometro fotoeléctrico, los datos obtenidos de las pruebas de consumo de agua y sacarosa mostradas anteriormente en la Figura 7 se compararon con el registro visual de la prueba que se realizó con una cámara de video que grabó el experimento, con lo que fue posible construir una regresión lineal que comparó la duración de cada evento reportada por el dispositivo con el tiempo cronometrado a partir de las grabaciones. Los resultados muestran una correlación alta y significativa ( $R^2 = 0.9959$ ), lo que confirma la precisión del dispositivo en la detección y registro de eventos reales de consumo.

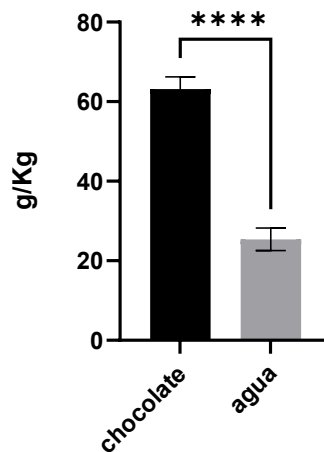


**Figura 8. Validación del lickometro fotoeléctrico en 6 animales control.**

Relación entre el tiempo medido por el lickometro fotoeléctrico y el video del experimento de consumo de agua. Cada punto representa una medición obtenida de 6 animales. La regresión fue realizada mediante script de Python (versión 3.11.9) y se muestra una alta correlación, lo que valida la aplicabilidad del instrumento para detectar eventos de consumo de líquidos.

- Objetivo específico 2: Caracterización de la microestructura de consumo hedónico en el modelo APP/PS1

Para validar la palatabilidad (característica hedónica que posee la sustancia) del chocolate líquido, fue realizada una prueba de consumo por dos horas durante dos días, donde el primer día fue presentada una botella con agua y al segundo día una botella con la solución de chocolate líquido. Los datos muestran un consumo significativamente mayor de la solución de chocolate líquido en comparación con agua.

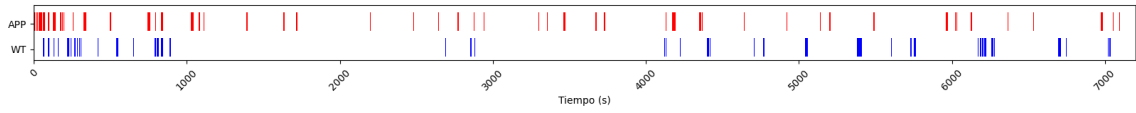


**Figura 9. Validación de consumo solución de chocolate en relación con agua en animales controles.**

Consumo total de agua y chocolate preparado durante 2 horas. Los datos representan el promedio  $\pm$  SEM, (n = 8 C57BL/6J). \*\*\*\* p<0.0001, Prueba de t de Student pareada.

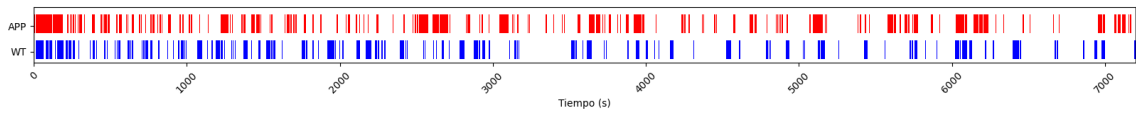
Una vez validado el uso de chocolate líquido preparado como estímulo recompensante, se utilizó para evaluar la microestructura del consumo en animales APP/PS1. Este experimento consistió en medir el consumo de agua y chocolate líquido en dos días durante la fase oscura del ciclo diurno, que es donde los animales están más activos. El primer día, se les permitió beber de una botella con agua y el segundo día una botella con la solución de chocolate líquido por dos horas. Ambas botellas fueron pesadas antes y después de la prueba y se cuantificaron los gramos totales de líquido consumido por kilogramo de peso de cada ratón, expresada en g/kg.

Para representar visualmente la dinámica de comportamiento de consumo en animales WT y APP/PS1 durante el transcurso de las pruebas utilizando agua y chocolate, se construyeron patrones de consumo con los datos proporcionados por el lickometro fotoeléctrico. Esta visualización permite comparar las diferencias en la frecuencia y duración de los eventos de consumo de ambos grupos experimentales en las pruebas frente un estímulo neutro, como lo es agua y un estímulo recompensante como lo es el chocolate líquido. La figura 10 muestra el patrón de consumo de agua en animales APP/PS1 y WT durante 2 horas y la figura 11 muestra el patrón de consumo de chocolate líquido de los mismos animales durante 2 horas. Para ambas figuras, cada barra representa un evento de consumo y el ancho de estas barras representa el tiempo de consumo.



**Figura 10. Patrón de consumo de agua de animales WT y APP/PS1.**

Cada línea representa un evento de consumo (bout). El trazo es la suma de eventos de 7 animales.



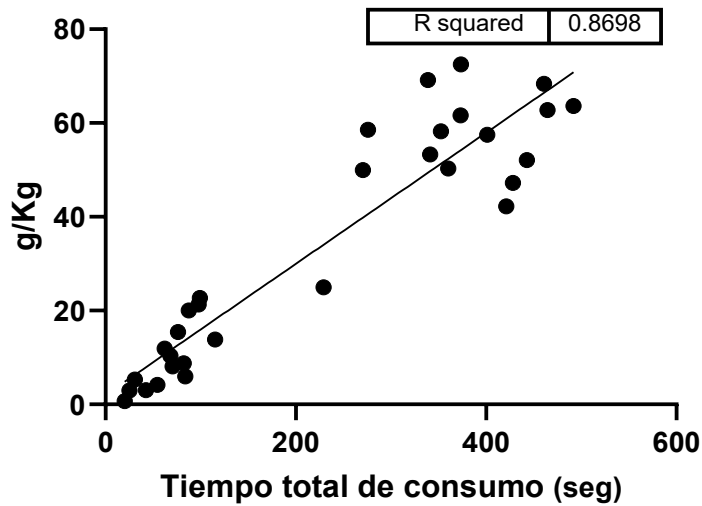
**Figura 11. Patrón de consumo chocolate en animales WT y APP/PS1.**

Cada línea representa un evento de consumo (bout). El trazo es la suma de eventos de 7 animales.

Se evaluó la relación entre el tiempo total de consumo registrado mediante el lickometro fotoeléctrico y la cantidad total de líquido ingerido (agua y chocolate) mediante el peso de las botellas antes y después de las pruebas de consumo. El análisis de regresión lineal reveló una asociación positiva significativa entre ambas variables, con un coeficiente de determinación  $R^2=0.8698$ , lo que indica que aproximadamente el 87% de la variabilidad en la cantidad total ingerida puede explicarse por el tiempo total de consumo registrado.

Dado que la variable g/kg no se distribuyó normalmente según la prueba de Shapiro-Wilk ( $W = 0.8760$ ,  $p = 0.0019$ ), se utilizó un análisis de correlación no paramétrico. El coeficiente de correlación de Spearman fue  $r=0.8859$  (IC 95%: 0.7703 a 0.9451), con un valor de  $p<0.0001$ , lo que indica una correlación positiva y estadísticamente significativa entre el tiempo total de consumo y la cantidad ingerida.

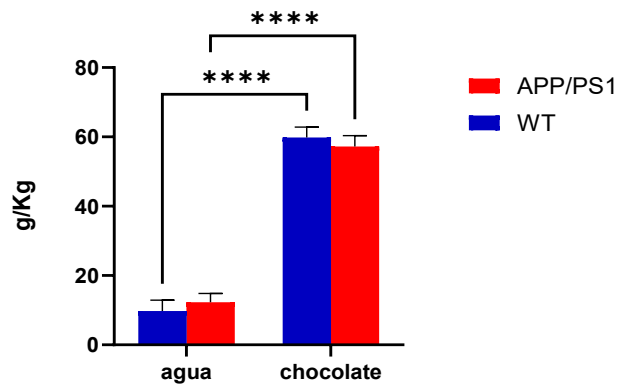
Estos resultados validan el uso del lickometro fotoeléctrico como una herramienta para estimar de manera confiable el curso temporal del consumo hedónico de sustancias en modelos animales. La alta correlación encontrada respalda la aplicabilidad del sistema como método sustituto de cuantificación manual del consumo, ofreciendo ventajas en términos de eficiencia, precisión y automatización del registro.



*Figura 12. Análisis de regresión entre el consumo total vs tiempo de consumo*

Correlación entre el tiempo total de consumo (segundos) registrado por el lickometro fotoeléctrico y el consumo total de chocolate y agua expresado en g/kg de peso corporal. Se observa una correlación positiva ( $R^2=0.8698$ ), indicando que el tiempo de consumo predice de forma robusta la cantidad ingerida. Debido a que los datos de consumo no siguen una distribución normal (Shapiro-Wilk test,  $p=0.0019$ ), se utilizó una correlación de Spearman, la cual resultó altamente significativa ( $r=0.8859$ ,  $p<0.0001$ ,  $n=31$ )

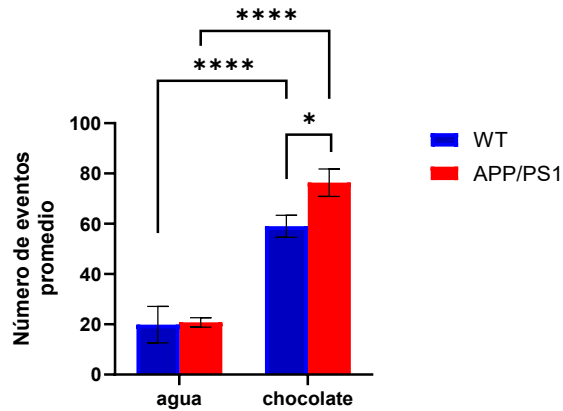
En la Figura 13 se observa que el consumo total de chocolate es mayor que el de agua en ambos grupos experimentales ( $p < 0.0001$ , Two-way ANOVA y Bonferroni post hoc test), sin diferencias significativas entre ambos grupos (agua:  $p = 0.5352$  y chocolate:  $p = 0.5622$ , Prueba de t de Student pareada)



**Figura 13. Consumo total de agua y chocolate de animales WT y APP/PS1.**

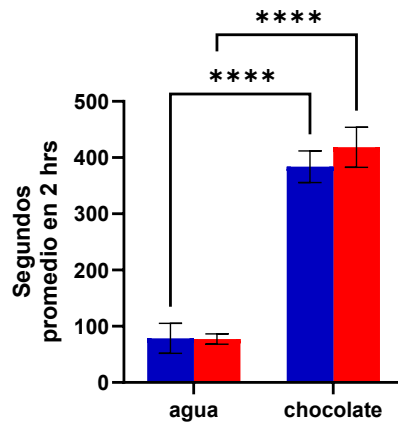
Consumo total de agua y chocolate durante 2 horas representados como gramos de sustancia consumida por kilo de peso corporal. Los datos representan el promedio  $\pm$  SEM, ( $n = 7$  WT y  $n = 9$  APP/PS1). \*\*\*\*  $p < 0.0001$ , Two-way ANOVA y Bonferroni post hoc test, ns  $p > 0.05$ , prueba de t de Student no pareada.

Con el lickometro fotoeléctrico se cuantificó la frecuencia y duración de los eventos de consumo en animales WT y APP/PS1. La Figura 14 presenta el número total promedio de eventos de consumo registrados para ambos grupos durante las 2 horas de duración de las pruebas. Los resultados muestran una mayor cantidad de acercamientos durante la prueba con chocolate líquido en comparación con la prueba de agua ( $p < 0.0001$ , Two-way ANOVA y Bonferroni post hoc test). Asimismo, en la prueba de chocolate líquido, los animales APP/PS1 exhibieron un número significativamente mayor de acercamientos en comparación con los WT ( $p = 0.0336$ , Prueba de t de Student no pareada), pero no se observaron diferencias significativas en la prueba de agua ( $p = 0.8922$ , Prueba de t de Student no pareada). La Figura 15 muestra el tiempo de duración total de los eventos de consumo registrados para ambos grupos, WT y APP/PS1. Los resultados indican que el tiempo invertido en consumir durante las dos horas es mayor en la prueba de chocolate que la de agua ( $p < 0.0001$ , Two-way ANOVA y Bonferroni post hoc test). Sin embargo, no existen diferencias significativas entre los grupos, tanto en la prueba de agua como en la de chocolate (prueba de agua,  $p = 0.6228$ , prueba de t de Student no pareada. Prueba de chocolate,  $p = 0.4574$ , prueba de t de Student no pareada).



**Figura 14. Eventos totales de consumo de agua y chocolate en animales WT y APP/PS1.**

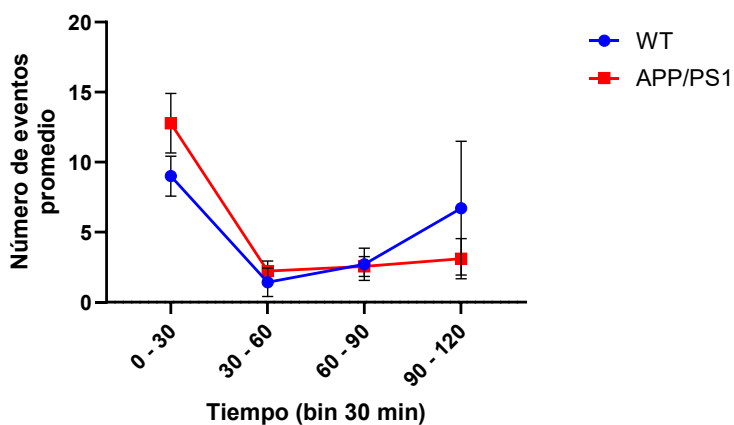
Numero de eventos promedio de consumo de agua y chocolate durante 2 horas. Los datos representan el promedio  $\pm$  SEM, (n=7 WT y n=9 APP/PS1). \*  $p < 0.05$ , \*\*\*\*  $p < 0.0001$ , Two-way ANOVA y Bonferroni post hoc test. ns  $p > 0.05$ , prueba de t de Student no pareada.



**Figura 15. Tiempo total de consumo de agua y chocolate en animales WT y APP/PS1.**

Tiempo total de consumo de agua y chocolate durante 2 horas. Los datos representan el promedio  $\pm$  SEM, (n=7 WT y n=9 APP/PS1). ns  $p > 0.05$ , \*\*\*\*  $p < 0.0001$ , Two-way ANOVA y Bonferroni post hoc test. El cálculo se realizó sumando la duración de todos los eventos realizados por cada animal durante las pruebas de consumo.

Los datos reportados por el lickometro fotoeléctrico permitieron también seguir el curso temporal del comportamiento de consumo de los animales durante las pruebas. Para conocer cómo un estímulo palatable modula la conducta de consumo en ambos grupos experimentales durante el transcurso del experimento, se calculó la frecuencia y duración de los eventos de consumo que ocurrieron en las pruebas de agua y chocolate líquido en segmentos de 30 minutos. La figura 16 muestra el número promedio de acercamientos ocurridos en la prueba de consumo de agua en intervalos de 30 minutos sin diferencias significativas entre ambos grupos (0 – 30 min:  $p=0.5112$ , 30 – 60 min:  $p=0.5112$ , 60 – 90 min:  $p>0.9999$  y 90 – 120 min:  $p=0.9340$ , Two-way ANOVA y Bonferroni post hoc test).

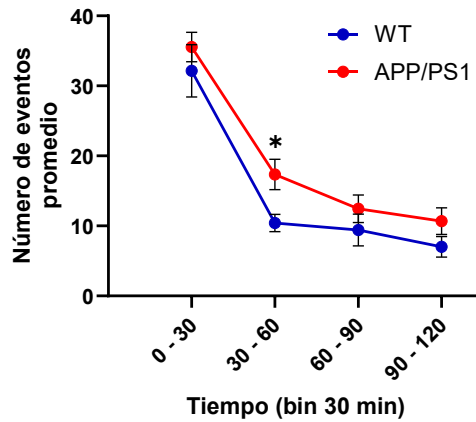


**Figura 16. Eventos de consumo de agua en segmentos de 30 minutos de animales WT y APP/PS1.**

Número de eventos de consumo de agua durante 2 horas, segmentados en intervalos de 30 minutos. Los datos representan el promedio  $\pm$  SEM, (n=7 WT y n=9 APP/PS1). ns  $p>0.05$ , Two-way ANOVA y Bonferroni post hoc test.

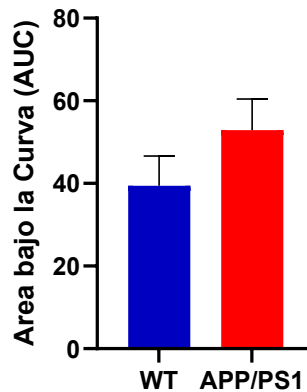
La Figura 17 muestra la cantidad promedio de acercamientos ocurridos en la prueba de consumo de chocolate líquido en intervalos de 30 minutos, observándose que los animales APP/PS1 presentaron un aumento en los acercamientos ocurridos durante los 30 y 60 minutos transcurridos de la prueba, en comparación con los animales WT ( $p=0.0231$ , Prueba de t de Student no pareada).

Se determinó el área bajo la curva de la cantidad de eventos promedio durante la prueba de consumo de chocolate líquido para así evaluar las diferencias acumulativas en los eventos de consumo de chocolate entre los grupos WT y APP/PS1, proporcionando una medida global del comportamiento a lo largo del tiempo. La Figura 18 muestra este análisis sin diferencias significativas entre ambos grupos. El área bajo la curva (AUC) fue calculada mediante el método trapezoidal usando el software GraphPad Prism (versión 10.4.1). Los resultados mostraron un AUC promedio de  $39.43 \pm 7.199$  (SEM) eventos por minuto para el grupo WT y de  $52.89 \pm 7.530$  (SEM) eventos por minuto para el grupo APP/PS1. A pesar de observarse una tendencia hacia una mayor área en el grupo APP/PS1, el análisis estadístico no evidenció diferencias significativas ( $p=0.2240$ , Prueba de t de Student no pareada). Este resultado sugiere que ambos grupos presentan patrones globales similares de comportamiento al estímulo chocolate líquido.



**Figura 17. Eventos de consumo de chocolate en segmentos de 30 minutos de animales WT y APP/PS1**

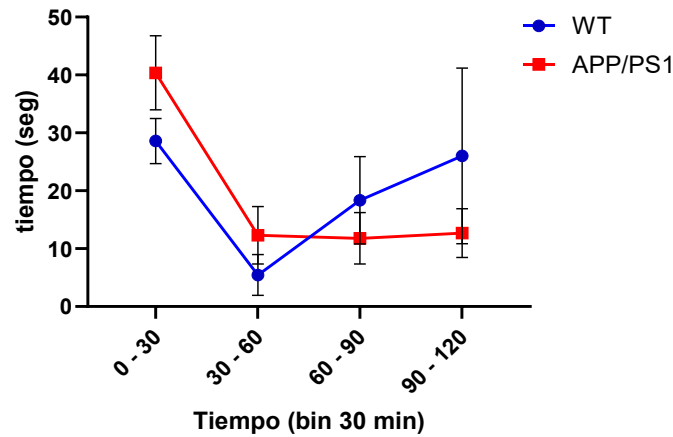
Número de eventos de consumo de chocolate durante 2 horas, segmentados en intervalos de 30 minutos. Los datos representan el promedio  $\pm$  SEM, (n=7 WT y n=9 APP/PS1). \*p<0.05, prueba de t de Student no pareada.



**Figura 18. Área bajo la curva de los eventos de consumo de chocolate en segmentos de 30 minutos de animales WT y APP/PS1.**

Análisis del área bajo la curva de la Figura 17, que representa el área delimitada de la cantidad de eventos de consumo de chocolate en segmentos de 30 minutos. Los datos representan el promedio  $\pm$  SEM, (n=7 WT y n=9 APP/PS1). ns p>0.05, Prueba de t de Student no pareada.

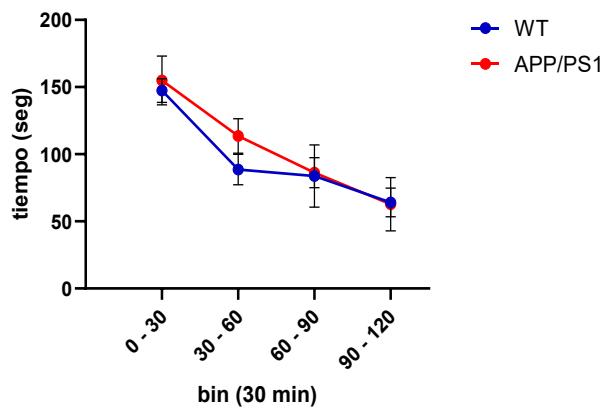
La Figura 19 muestra la duración total de los acercamientos ocurridos en intervalos de 30 minutos durante la prueba de consumo de agua, sin diferencias significativas entre ambos grupos (0 – 30 min:  $p= 0.4538$ , 30 – 60 min:  $p= 0.7291$ , 60 – 90 min:  $p=0.9214$  y 90 – 120 min:  $p= 0.8911$ , Two-way ANOVA y Bonferroni post hoc test).



**Figura 19.** Tiempo de consumo de agua en segmentos de 30 minutos de animales WT y APP/PS1.

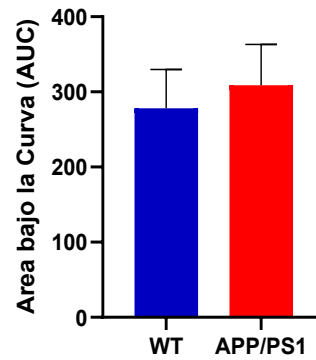
Tiempo de consumo de agua durante 2 horas, segmentados en intervalos de 30 minutos. Los datos representan el promedio  $\pm$  SEM, ( $n=7$  WT y  $n=9$  APP/PS1). ns  $p>0.05$ , Two-way ANOVA y Bonferroni post hoc test. El cálculo se realizó sumando la duración de todos los eventos que ocurrieron en los segmentos de 30 minutos.

La Figura 20 muestra la duración total de los acercamientos ocurridos en intervalos de 30 minutos durante la prueba de consumo de chocolate líquido, sin diferencias significativas entre ambos grupos (0 – 30 min:  $p= 0.4538$ , 30 – 60 min:  $p= 0.7291$ , 60 – 90 min:  $p=0.9214$  y 90 – 120 min:  $p= 0.8911$ , Two-way ANOVA y Bonferroni post hoc test). En este caso también se evaluó la existencia de diferencias acumulativas mediante el análisis del área bajo la curva. La Figura 21 muestra el área bajo la curva del tiempo de consumo en la prueba de consumo de chocolate líquido, calculado mediante el método trapezoidal usando el software GraphPad Prism (versión 10.4.1). Los resultados mostraron un AUC promedio de  $278.1 \pm 51.59$  (SEM) segundos por minuto para el grupo WT y de  $308.7 \pm 54.30$  (SEM) segundos por minuto para el grupo APP/PS1, no evidenciando diferencias significativas ( $p= 0.6958$ , Prueba de t de Student no pareada).



**Figura 20. Tiempo de consumo de chocolate en segmentos de 30 minutos de animales WT y APP/PS1.**

Tiempo de consumo de chocolate durante 2 horas, segmentados en intervalos de 30 minutos. Los datos representan el promedio  $\pm$  SEM, ( $n=7$  WT y  $n=9$  APP/PS1).  $ns$   $p>0.05$ , Two-way ANOVA y Bonferroni post hoc test. El cálculo se realizó sumando la duración de todos los eventos que ocurrieron en los segmentos de 30 minutos.

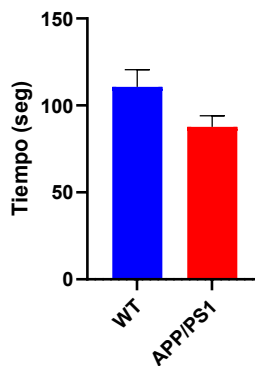


***Figura 21. Área bajo la curva del tiempo de consumo de chocolate en segmentos de 30 minutos de animales WT y APP/PS1.***

Análisis del área bajo la curva de la Figura 20, que representa el área delimitada del tiempo de consumo de chocolate líquido en segmentos de 30 minutos. Los datos representan el promedio  $\pm$  SEM, (n=7 WT y n=9 APP/PS1). ns  $p > 0.05$ , Prueba de t de Student no pareada.

### Descripción temporal de las características del consumo de chocolate.

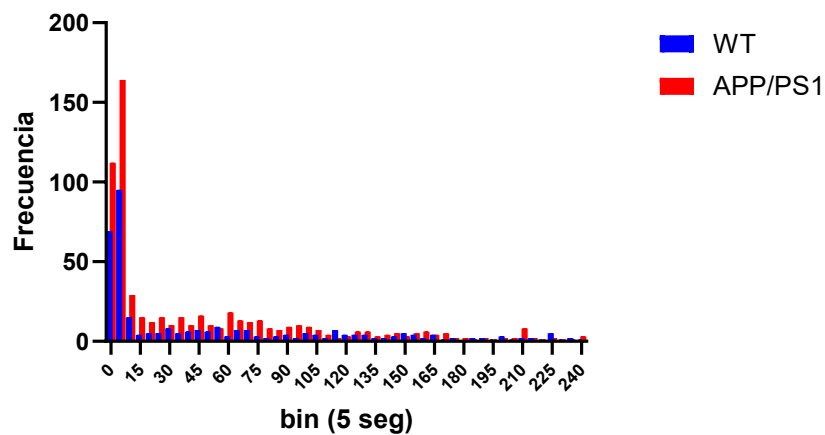
El grado de continuidad de la conducta de consumo viene dado por el análisis del intervalo inter-evento (pausas), que es el tiempo transcurrido entre el fin de un evento de consumo y el inicio del siguiente, lo que aporta información acerca de la motivación, saciedad o el control de impulsos, por lo tanto, complementa la información de los análisis de número de eventos o la duración total del consumo. Con los datos reportados por el lickómetro fotoeléctrico se compararon los intervalos inter-evento durante la prueba de consumo de chocolate, el cual, mostró que los animales APP/PS1 presentaron un tiempo promedio de 87.66 segundos, mientras que los animales WT presentaron un promedio de 110.7 segundos, sin diferencias significativas ( $p=0.0518$ , Prueba de t de Student no pareada)



**Figura 22.** *Intervalo inter-evento del consumo de chocolate en animales WT y APP/PS1.*

Tiempo promedio del intervalo inter-evento durante la prueba de consumo de chocolate. Los datos representan el promedio  $\pm$  SEM, (n=7 WT y n=9 APP/PS1). ns  $p>0.05$ , Prueba de t de Student no pareada.

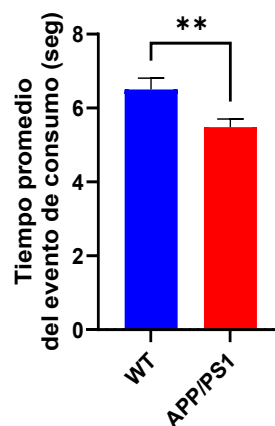
Para analizar la frecuencia de los diferentes intervalos inter-evento de la prueba de chocolate, se construyó un histograma agrupando estos intervalos en bins de 5 segundos, con el objetivo de describir la distribución de las distintas duraciones de pausas entre eventos de consumo de animales WT y APP/PS1. Este análisis permite identificar cuántas pausas ocurren en cada rango de duración y, de este modo, evaluar posibles diferencias entre grupos, como un indicador de la organización temporal de su comportamiento ingestivo. Se incluyeron únicamente los intervalos con una duración igual o menor a 240 segundos, debido a que los intervalos más largos fueron poco frecuentes y altamente variables.



**Figura 23. Distribución de intervalos inter-evento de consumo de chocolate en animales WT y APP/PS1.**

Histograma que muestra la frecuencia de los intervalos inter-evento agrupados en bins de 5 segundos para ratones WT y APP/PS1. El eje x representa la duración de los intervalos inter-evento en rangos de 5 segundos, mientras que el eje y indica la frecuencia de ocurrencia de dichos intervalos en cada rango. Para este análisis, se incluyeron únicamente los intervalos inter-evento con duración igual o menor a 240 segundos debido a la alta variabilidad y baja frecuencia de intervalos más prolongados. Se observa que la mayoría de los intervalos se concentran en los primeros rangos ( $\leq 30$  s), disminuyendo progresivamente su frecuencia conforme aumenta la duración del intervalo.

Para evaluar posibles diferencias en la duración de los eventos de consumo entre los animales WT y APP/PS1, se calculó el tiempo promedio de los eventos de consumo registrados durante la prueba con chocolate. En ella, los animales WT realizaron en total 413 eventos de consumo y los animales APP/PS1 realizaron 687. La Figura 24 muestra que la duración promedio de los eventos de consumo en los animales WT fue 6.505 segundos y en APP/PS1 5.482 segundos, existiendo diferencias significativas ( $p=0.0074$ , Prueba de t de Student no pareada).



**Figura 24. Tiempo promedio de consumo de chocolate en animales WT y APP/PS1.**

Tiempo promedio de duración de los eventos de consumo en las pruebas de agua y chocolate durante 2 horas. Los datos representan el promedio  $\pm$  SEM, ( $n=7$  WT, 413 eventos y  $n=9$  APP/PS1, 687 eventos). \*\*  $p<0.005$ , prueba de t de Student no pareada.

La construcción del lickometro capacitivo, obtenido de literatura (Petersen et al., 2023), fue llevada a cabo parcialmente según las instrucciones dadas. Se modificó la forma en que el sensor se adosa a la jaula en contacto con la botella, asegurando aislamiento para evitar señales erróneas provenientes de cualquier área que no sea el contacto de la lengua del animal con la botella. Dado que este sensor capacitivo mpr121 es de tipo táctil, la rejilla metálica de la jaula podría actuar como superficie detectora si no se aísla adecuadamente. La pieza diseñada e impresa con filamento PETG proporciona el aislamiento necesario y es mínimamente invasiva.



***Figura 25. Lickometro capacitivo***

Fotografía del lickometro capacitivo ensamblado. El sistema cuenta con una unidad central que alberga una pantalla táctil para controlar su funcionamiento, el módulo que graba los datos en una tarjeta de memoria SD y el microcontrolador Arduino Mega, encargado de recibir las señales provenientes de tres módulos sensores MPR121 (uno en la caja superior, uno en la caja inferior y uno integrado dentro del módulo principal). Cada sensor está conectado a seis cables individuales, los cuales se enlazan mediante extensores a las piezas que se instalan en las jaulas experimentales. En total, el sistema permite registrar la actividad de hasta 18 botellas independientes de forma simultánea.



***Figura 26. Lickometro capacitivo instalado en jaula.***

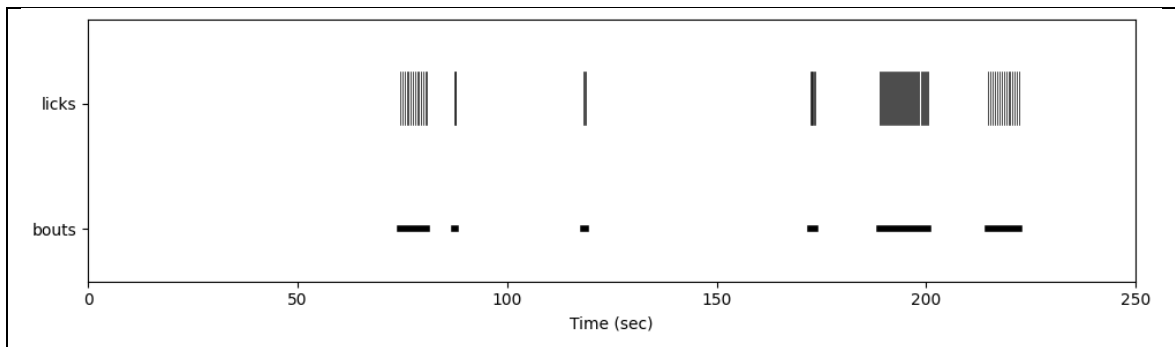
Fotografía que muestra la disposición del lickometro capacitivo dentro de una jaula estándar, conectado al sensor capacitivo mediante cable extensor provenientes del sensor MPR121. El sistema cuenta con una boquilla metálica a la cual se conecta el sistema de medición, permitiendo detectar las lamidas. Esta configuración permite implementar el sistema sin alterar significativamente la disposición interna de la jaula, asegurando un monitoreo confiable del consumo de líquidos de los animales.



***Figura 27. Animal interactuando con la boquilla del lickometro capacitivo.***

Fotografía que muestra a un ratón realizando la acción de beber, lamiendo la boquilla metálica conectada al sistema de detección capacitiva. Se aprecia que la pieza utilizada para la medición es de tamaño reducido y mínimamente invasiva, sin generar cambios relevantes en el ambiente de la jaula ni constituir un elemento de enriquecimiento ambiental, manteniendo su eficacia en la detección de lamidas durante las pruebas de consumo.

Para evaluar el funcionamiento del lickómetro capacitivo en la detección de las lamidas realizadas por los animales, se llevó a cabo una prueba piloto. Los datos obtenidos por el sistema fueron analizados mediante un script en Python para construir el patrón de consumo. La Figura 28 muestra dicho patrón, representando las señales detectadas como lamidas individuales (licks) y su agrupación en episodios de consumo (bouts). En esta prueba, un ratón C57BL/6J tuvo acceso a una solución de sacarosa al 5% durante 5 minutos, registrándose un total de 6 bouts. El detalle de cada uno de ellos se muestra en la Tabla 3 a continuación.



**Figura 28. Registro de lamidas y eventos de consumo obtenidos con el lickómetro capacitivo en prueba piloto.**

Gráfico generado mediante Python a partir de los datos recolectados por el lickómetro capacitivo durante una prueba piloto con un ratón control. El animal tuvo acceso a una solución de sacarosa, y se registraron tanto las lamidas o licks (líneas finas en la fila superior) como los eventos de consumo o bouts (barras negras en la fila inferior). Este resultado demuestra la capacidad del sistema para registrar y discriminar con precisión la microestructura del comportamiento ingestivo de los animales.

*Tabla 3. Detalle de los episodios de consumo registrados durante la prueba piloto.*

| Episodio (bout) | Número de lamidas | Duración total (s) | Intervalo promedio entre lamidas (ms) |
|-----------------|-------------------|--------------------|---------------------------------------|
| 1               | 14                | 6.325              | 402.5                                 |
| 2               | 3                 | 0.203              | 025.67                                |
| 3               | 3                 | 0.638              | 161.67                                |
| 4               | 6                 | 1.274              | 174.33                                |
| 5               | 42                | 11.601             | 240.26                                |
| 6               | 15                | 7.421              | 436.87                                |

## 5. DISCUSIÓN

En esta tesis, se implementó un dispositivo que permite estudiar cómo la enfermedad de Alzheimer afecta la regulación hedónica de la ingesta en modelos transgénicos APP/PS1, proporcionando una oportunidad para entender la interacción entre los circuitos de recompensa y el deterioro cognitivo.

El dispositivo electrónico fotoeléctrico desarrollado para este estudio presenta varias características innovadoras que lo hacen especialmente adecuado para estudios conductuales en modelos animales y lo diferencian de otros dispositivos reportados en la literatura. Su diseño fue optimizado para integrarse en jaulas estándar utilizadas habitualmente en el alojamiento de los animales de laboratorio, eliminando la necesidad de equipos adicionales (Figura 1). Esto facilita su implementación en entornos experimentales convencionales, asegurando el bienestar del animal y la recolección de datos en condiciones naturales. Además, fue impreso en 3D usando filamento PLA, un termoplástico biodegradable, que lo convierte en un material apropiado para su uso en animales.

Se debe considerar que, aunque el filamento PLA sea biodegradable y no presente riesgos para su consumo en animales, el pigmento para darle color al filamento podría no ser inocuo para su consumo, considerando que los ratones tienden a roer superficies duras.

El lickometro fotoeléctrico utiliza un sensor fotoeléctrico GP1A57HR alojado en una estructura diseñada específicamente para garantizar una postura detectable del animal al

momento de beber. Esta configuración asegura que cada evento de consumo sea detectado con precisión, evitando artefactos. Adicionalmente, incluye una pantalla Adafruit Featherwing OLED, que proporciona información inmediata al usuario sobre el número de eventos registrados y el tiempo total de consumo, permitiendo una supervisión en tiempo real del experimento.

La arquitectura electrónica del lickometro fotoeléctrico está basada en el microcontrolador Adafruit Feather M0 Adalogger, que permitió almacenar los datos en una tarjeta de memoria SD en formato .csv, facilitando su manejo y análisis posterior. Para procesar los datos recolectados, se utilizó Python, una herramienta versátil que permitió realizar análisis detallados y personalizables de los patrones de ingesta.

Para que el sensor fotoeléctrico GP1A57HR detectara adecuadamente los eventos de consumo, la pieza que aloja al sensor fue diseñada con el fin de obligar al animal a adoptar una postura específica para beber, esto supondría una limitación para el animal de beber con la libertad que desee y que podrían afectar en la conducta de consumo y los resultados obtenidos.

Para incluir el lickometro fotoeléctrico a las jaulas estándar fue necesario realizarle aberturas a la jaula, lo que impide que estas sean usadas habitualmente sin el dispositivo electrónico fotoeléctrico.

El lickometro fotoeléctrico fue diseñado para detectar señales provenientes de un solo sensor, por lo que cada jaula contiene un dispositivo distinto, esto puede llegar a ser problemático para el operador al trabajar con un número de individuos alto, dada la gran cantidad de datos que se generan.

En el proceso de validación del lickómetro fotoeléctrico, los resultados presentados en la Figura 7, evidencian que los ratones mostraron un patrón de consumo con mayor número de eventos y una mayor duración frente al consumo de sacarosa sobre agua. Esto es consistente con lo reportado en la literatura, donde se describe que los ratones prefieren consumir sustancias dulces debido a su alta palatabilidad (Verharen et al., 2023). Así, se destaca la utilidad del lickómetro fotoeléctrico para diferenciar patrones de consumo bajo condiciones experimentales distintas.

La alta correlación observada en el segundo proceso de validación mostrados en la figura 8, junto con la relación entre el tiempo total de consumo registrado mediante el lickómetro fotoeléctrico y la cantidad total de líquido ingerido, tanto de agua como de chocolate mostrados en la Figura 12, respaldan la fiabilidad del lickómetro fotoeléctrico para ser usado en el estudio de la microestructura del consumo de líquidos. Este proceso de validación resultó esencial para garantizar que los datos recolectados están en concordancia con la microestructura de consumo y para minimizar posibles errores en la detección asociados artefactos o con otro tipo de conductas de los animales como acercamientos exploratorios y que no corresponden con eventos reales de consumo, el criterio de filtrado de los datos por el script de Python considera aquellas señales detectadas con una duración mayor a 0.5 segundos como eventos reales de consumo, según lo sugerido en literatura (Naneix et al., 2020). Así, este dispositivo funciona adecuadamente para el objetivo propuesto y refuerza su utilidad en investigaciones futuras.

La elección del estímulo palatable como una preparación líquida de leche con chocolate respondió a consideraciones operativas y metodológicas, ya que las opciones comerciales contenían aditivos saborizantes artificiales que podían interferir con los resultados. Aunque la literatura reporta el uso de chocolate sólido como estímulo palatable (p. ej., Milka) (Nobili et al., 2017), su manipulación para preparar soluciones líquidas presentó desafíos metodológicos que se resolvieron con la preparación de chocolate líquido. El mayor consumo de la solución de chocolate líquido en comparación con el agua de animales C57BL/6J que se muestran en la figura 9, evidencia la influencia hedónica de la sustancia preparada, acorde con lo descrito en la literatura (Miller & Leach, 2023), donde se destaca la preferencia natural de los ratones por estímulos dulces y ricos en calorías. Estos resultados validan la capacidad de la solución de chocolate líquido en provocar una respuesta recompensante en los animales que los motiva a consumir y, por tanto, es adecuado de utilizar como estímulo recompensante en las pruebas usando animales APP/PS1. Se destaca además que el consumo de agua es concordante con lo reportado en literatura en este modelo a los 6 meses de edad (Armijo-Weingart et al., 2024).

El consumo de chocolate por los ratones puede considerarse como una conducta situada entre lo voluntario (recompensante) y forzado (deprivación de agua durante la prueba). No obstante, la restricción de agua fue solamente durante el periodo de análisis (2 horas). Como punto de comparación, la técnica de consumo DID, se emplea una estrategia similar de sustitución de la botella de agua por una solución de interés (por ejemplo, etanol) por 4 días consecutivos (desde el primer día hasta el tercero, consumo

de etanol por 2 horas y el cuarto día por 4 horas). En este contexto, se ha argumentado que los ratones no se ven obligados a beber etanol durante este corto período de privación, porque los ratones pueden elegir no beber de la sustancia, lo que sugiere una prevalencia del consumo voluntario sobre el forzado (Thiele & Navarro, 2014). Dado que la duración de las pruebas de consumo realizadas en esta tesis fue de 2 horas durante dos días en total (primer día consumo de agua y segundo día consumo de chocolate), la conducta de consumo también seguiría esta sugerencia de ser voluntario.

Las diferencias calóricas no fueron consideradas en este estudio, ya que se utilizó agua, y no leche, como control, dado que la finalidad es evaluar la influencia hedónica de la solución en la conducta de consumo y no los efectos que provoca el cacao per se. Además, según lo reportado en literatura, dentro de los ingredientes que contiene el chocolate usado como estímulo palatable también se encuentra la leche (Biggs & Myers, 1998; Godynyuk et al., 2019; Gutiérrez-Martos et al., 2018; Nobili et al., 2017), por lo que la preparación de chocolate líquido usado en este estudio consideró leche como parte de los ingredientes de la solución.

El análisis del consumo total que se muestra en la Figura 13 indica que tanto los animales WT como los APP/PS1 presentan un consumo similar de agua y solución de chocolate líquido, lo que sugiere que en este estadio temprano del modelo APP/PS1 (6 meses), las alteraciones en la preferencia hedónica no son suficientemente marcadas para producir diferencias estadísticamente significativas en el consumo de líquidos. Este resultado es relevante, ya que estudios previos han reportado que las disfunciones en el sistema de recompensa y la percepción hedónica pueden manifestarse de manera más

evidente en etapas avanzadas de la enfermedad (Romano et al., 2015). Sin embargo, ha sido descrito que animales APP/PS1 de 6 meses presentan una disminución en el consumo de solución de sacarosa al tercer día y de alcohol al cuarto día utilizando la técnica Drinking in the Dark (DID) (Armijo-Weingart et al., 2024). Esta prueba consiste en reemplazar la botella de agua por una conteniendo el líquido de interés por 2 horas durante 3 días y por 4 horas en el cuarto día, indicando que la alteración frente al estímulo recompensante ocurre luego de sucesivas repeticiones. Estos datos subrayan la necesidad de un análisis más detallado del consumo para identificar posibles alteraciones sutiles que no son evidentes en el consumo total y por lo que es relevante de estudiar la microestructura del consumo hedónico. Además, la diferencia con el consumo de alcohol reportado se puede radicar en la presencia de diferentes mecanismos para producir la motivación y recompensa de ambas sustancias. Por ejemplo, el etanol atraviesa la barrera hematoencefálica y al unirse a los GlyR del nAc, incrementa la liberación de dopamina y refuerza la ingesta (Molander & Soderpalm, 2005). Por el contrario, la señal hedónica que provoca el chocolate se inicia en la periferia, ya que, en la células gustativas de la lengua, los receptores gustativos T1R2/T1R3 detectan azúcares (Chandrashekar et al., 2006), mientras que otros receptores como CD36 y GPR120 responden a lípidos (Gaillard et al., 2008; Yasumatsu et al., 2019) y sus aferencias viajan a través de los nervios facial y glossofaríngeo hasta el núcleo del tracto solitario, luego al tálamo ventroposteromedial y a la corteza insular, antes de incidir en los circuitos dopaminérgicos del nAc (Maffei et al., 2012; Roper, 2013). Aunque las metilxantinas del cacao, especialmente la teobromina, actúan como inhibidores de la enzima

fosfodiesterasa y como antagonistas en los receptores de adenosina (Martá-Nez-Pinilla et al., 2015), aún no se ha determinado cuál(es) de las poblaciones neuronales en el nAc traducen esos efectos moleculares en la conducta recompensante, lo que representa una línea abierta de investigación. En ese sentido, la combinación entre estudios de consumo de chocolate con fotometría o calcio-imaging en el nAc, podrían ayudar a dilucidarlo.

El análisis de microestructura mostró que existen diferencias significativas, en la frecuencia de eventos de consumo (Figura 13), siendo mayor en el modelo APP/PS1 ante el estímulo de chocolate líquido. Estudios previos en este modelo a la misma edad mostraron en el nAc una reducida expresión de GlyR $\alpha$ , reducida actividad sináptica glicinérgica y un aumento de la excitabilidad neuronal (Armijo-Weingart et al., 2024; Fernandez-Perez et al., 2020). Esta alteración podría facilitar respuestas amplificadas a estímulos hedónicos, influyendo en la conducta de búsqueda y repetición.

En contraste, los animales APP/PS1 muestran que los eventos de consumo realizados en la prueba de chocolate tuvieron una menor duración promedio que los animales WT, lo que, sumado a lo anterior, explica por qué la cantidad total de chocolate consumido sea similar en ambos grupos aun existiendo un mayor número de acercamientos (Figura 13). Esta disminución podría estar relacionada con mecanismos asociados a la saciedad y el control inhibitorio. Regiones como el hipotálamo lateral y núcleo de rafe, que modulan la percepción de saciedad (Aklan et al., 2023; Najam et al., 2019), podrían estar alterados en el modelo APP/PS1 a los 6 meses de edad. Esta diferencia particular en la frecuencia y duración de los eventos de consumo podría ser indicativo de la alteración

del circuito de recompensa ya reportado por nuestro laboratorio en estudios ex vivo, en edades tempranas del modelo APP/PS1,

Al segmentar los datos obtenidos en las pruebas de consumo en intervalos de 30 minutos, se pueden examinar dinámicas temporales influenciadas por factores adaptativos, como la estimulación orosensorial, la recompensa cerebral y la inhibición post-ingestiva. Este enfoque permitiría determinar si las alteraciones en el sistema de recompensa vistos en el modelo APP/PS1 afectan principalmente al inicio del consumo, cuando el estímulo es novedoso, o a la persistencia y motivación para repetir una conducta que genera recompensa. Los resultados indican una persistencia en el consumo de chocolate en los animales APP/PS1 entre los 30 y 60 minutos transcurridos (Figura 17). Sin embargo, el análisis del área bajo la curva para las pruebas de agua y chocolate no mostraron diferencias significativas entre ambos grupos. Esto podría deberse a que la metodología de análisis aumenta la sensibilidad a la variabilidad individual dentro de cada grupo, lo que disminuye el poder estadístico para detectar diferencias de este tipo. Lo anterior sugiere que sería necesario incrementar el tamaño muestral para obtener resultados más robustos y concluyentes.

Aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el intervalo inter-evento entre los grupos, se evidenció una tendencia a intervalos más cortos en los animales APP/PS1 en comparación con los WT. Biológicamente, un intervalo inter-evento de menor duración podría indicar una mayor continuidad en la conducta de consumo o una menor latencia para reanudar el consumo, lo cual puede interpretarse como un incremento en la motivación hedónica o un déficit en el control inhibitorio de

la ingesta. Estas alteraciones podrían estar asociadas a cambios en la neurotransmisión dopaminérgica mesocorticolímbica descritos en pacientes diagnosticados de Alzheimer (Zhang et al., 2025). Sin embargo, debido a que la diferencia no alcanzó significancia estadística, se requiere cautela en su interpretación y se sugiere aumentar el tamaño muestral en futuros estudios para confirmar esta tendencia. En relación con la distribución de estos intervalos inter-evento en la prueba de chocolate, se observó que ambos grupos experimentales presentaron una mayor frecuencia de pausas de corta duración, con una disminución progresiva en la frecuencia a medida que aumentaba la duración del intervalo (Figura 23), lo que va en línea con lo que se visualiza en el patrón de consumo generado con los datos del lickometro fotoeléctrico (Figura 11).

Los objetivos de esta tesis fueron diseñar y construir dos dispositivos electrónicos para monitorear el consumo de líquidos en roedores, un lickometro fotoeléctrico y un lickometro capacitivo. La utilidad y confiabilidad del lickometro fotoeléctrico se evidenció en su proceso de validación que permitió confirmar la capacidad para cuantificar con precisión la frecuencia y duración de los eventos de consumo, elementos clave para estudiar el comportamiento de ingesta hedónica en animales APP/PS1. Sin embargo, este diseño presentó limitaciones relacionadas con su resolución de detección, ya que se basa en el registro de los acercamientos del animal a la boquilla y no permite medir parámetros clave que definen la microestructura del consumo de líquidos, como la frecuencia de lamidas o el intervalo de tiempo entre lamidas consecutivas (Johnson, 2018). Dado que los acercamientos a la boquilla por el animal no siempre corresponden a eventos reales de consumo,

Dado que el parámetro más preciso y que refleja efectivamente la acción de beber son las lamidas que realiza el animal, se desarrolló el lickometro capacitivo como una solución que supera las limitaciones del lickometro fotoeléctrico. Su diseño, modificado de Petersen y colaboradores (Petersen et al., 2023), incorpora un sistema basado en sensores capacitivos MPR121, capaces de detectar con alta resolución los cambios de capacitancia asociados al contacto directo de la lengua del animal con la boquilla. Además, el diseño del lickometro capacitivo presenta ventajas tales como ser mínimamente invasivo, ya que la pieza detectora que se inserta en las jaulas de los animales, esta impresa en filamento PETG de grado alimenticio y solo cubre la boquilla, lo que permite al animal adoptar cualquier postura natural al beber. Su arquitectura electrónica, basada en un microcontrolador Arduino Mega, posee una velocidad máxima de lectura de aproximadamente 10000 puntos por segundo, es decir, se necesitan aproximadamente 100 microsegundos (0,0001s) para leer una entrada analógica proveniente de 3 sensores capacitivos MPR121. Cuenta además con un shield datalogger de escritura, lo que garantiza un manejo eficiente de grandes volúmenes de datos, que se almacenan en una memoria SD para análisis posteriores. Posee una pantalla táctil con una interfaz gráfica simplificada que facilita su uso, permitiendo configuraciones personalizables como ajustar fecha y hora, calibrar la sensibilidad de los sensores y selección de parámetros a registrar del experimento según las necesidades del usuario. Dado que cada sensor MPR121 permite la conexión de hasta 12 boquillas, Con sólo este dispositivo, es posible monitorear hasta 36 jaulas independientes al mismo tiempo en

experimentos de consumo que consideren el uso de una botella o hasta 18 jaulas independientes en caso de pruebas de consumo de dos botellas.

Luego de generado el patrón de consumo de la prueba piloto que se muestra en la Figura 28, al compararlo con el patrón de consumo que es posible generar con los datos del lickometro fotoeléctrico de la Figura 6, se da cuenta que los datos que reporta el lickometro capacitivo presentan mayor resolución, ya que ahora es posible establecer no solo la cantidad y duración de los eventos de consumo, sino que también la cantidad de lamidas y el tiempo del intervalo inter lamida (interlick interval) de cada uno de ellos, elementos que también se consideran para distinguir influencias estimulantes e inhibitorias en el comportamiento ingestivo (Johnson, 2018; Spector et al., 1998). Dado que el fin de esta prueba fue la de familiarizarse con el equipo y verificar la utilidad de los datos reportados para construir un patrón de consumo, es que no se realizó una calibración previa de los sensores para detectar efectivamente todas las lamidas que haya hecho el animal, razón por la cual los resultados de la prueba mostrados en la tabla no son similares a lo reportado en literatura, donde se indica que el interlick Interval de un ratón es de aproximadamente 0.250 milisegundos (Johnson et al., 2010) y por ello, se aprecia en la Figura 28 que las lamidas (licks) presenta líneas aparentemente gruesas y otras delgadas. Dado lo anterior, como proyecciones futuras se plantea estandarizar los valores adecuados de sensibilidad previo a su uso como herramienta definitiva para estudiar microestructura en animales de laboratorio.

## 6. CONCLUSIÓN

Esta tesis presentó el diseño, construcción y validación de dos dispositivos novedosos para el análisis del consumo hedónico en modelos animales: el lickometro fotoeléctrico y el lickometro capacitivo. Ambos dispositivos representan un avance significativo en el estudio de la microestructura del consumo de líquidos, proporcionando herramientas precisas para la caracterización de parámetros relacionados con la frecuencia y duración de los eventos de consumo de sustancias hedónicas.

El lickometro fotoeléctrico, como una primera aproximación, permitió cuantificar con precisión los eventos de consumo y su duración en animales APP/PS1, sentando las bases para evaluar las preferencias hedónicas y conductuales. Los resultados obtenidos destacan diferencias en los patrones de consumo que aportan al entendimiento de las alteraciones neurobiológicas asociadas al sistema de recompensa en estadios tempranos de la Enfermedad de Alzheimer. Además, estos hallazgos validan la importancia de la microestructura del consumo como una herramienta para explorar dinámicas conductuales y mecanismos neurofisiológicos relacionados.

El lickometro capacitivo, basado en sensores de alta precisión, al permitir la detección directa del contacto de la lengua del animal con la boquilla, abre nuevas posibilidades para medir con mayor resolución la conducta de ingesta de líquidos. Estas métricas aportan un alto nivel de detalle y permitirían interpretar de manera más robusta los resultados en estudios de consumo.

En términos metodológicos, este trabajo marca un precedente al proponer un enfoque interdisciplinario que integra el desarrollo de nuevas tecnologías con aspectos neurobiológicos que rigen la conducta.

La hipótesis de trabajo postuló que los animales APP/PS1 **(i)** presentarían un **aumento en el número de eventos de consumo (bouts)** y **(ii)** un **mayor tiempo de consumo** de chocolate líquido respecto de los animales WT. Lo anterior surge a raíz de estudios previos de consumo en el modelo APP/PS1 de 6 meses, donde se evidenció un aumento en el consumo total de chocolate sólido (Armijo-Weingart et al., datos no publicados).

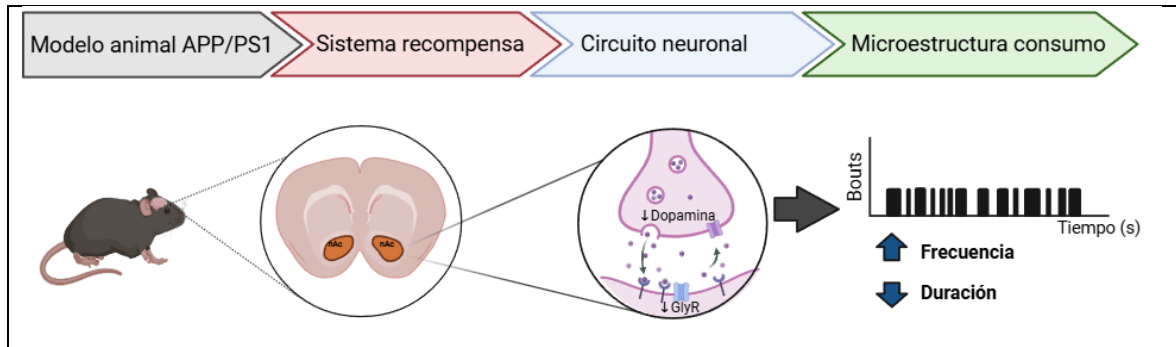
Los resultados obtenidos **avalan parcialmente** esta hipótesis. En efecto, el modelo animal APP/PS1 **mostró un incremento significativo en el número total de eventos de consumo** durante la prueba de chocolate (33 % más que los WT;  $p = 0,0336$ ), lo que confirma la primera predicción. No obstante, **el tiempo total dedicado a la ingesta no difirió entre ambos grupos** ( $p = 0,4574$ ) y la **duración promedio de cada evento fue incluso menor en el modelo APP/PS1** ( $p = 0,0074$ ). Estos hallazgos indican que, si bien el modelo APP/PS1 manifiesta una mayor frecuencia de acercamientos al estímulo hedónico, esta conducta no se traduce en una prolongación global del consumo y, por lo tanto, la cantidad total de líquido consumido no varía. Esto es interesante, ya que ha sido el estudio de la microestructura quien identificó diferencias conductuales que no habrían sido evidenciadas con los métodos tradicionales que evalúan solo la cantidad total de líquido consumido.

### **Conclusión respecto a la hipótesis inicial:**

- **Aceptación:** se confirma el incremento en la **frecuencia** de los eventos de consumo. Por otro lado, no se detectó cambios en el **tiempo total** ni en la **duración** individual promedio de los eventos.

Estos datos sugieren que, a esta edad (6 meses), las alteraciones en el sistema de recompensa del modelo APP/PS1 se manifiestan principalmente como un **patrón fragmentado de ingesta**, esto es, que reparte el consumo total de líquidos en una mayor cantidad de episodios breves, separados por pausas relativamente cortas, más que como un incremento sostenido del tiempo de consumo. Este comportamiento compulsivo podría reflejar un desequilibrio entre los circuitos motivacionales y los mecanismos de saciedad, aspecto que merece investigación futura con tamaños muestrales mayores y técnicas complementarias (p. ej., fotometría in vivo) para dilucidar los correlatos neurobiológicos subyacentes.

Finalmente, esta tesis establece una base para futuras investigaciones que busquen explorar la microestructura del consumo de líquidos en mayor profundidad, así como desarrollar nuevas herramientas que continúen perfeccionando la resolución y precisión en el análisis conductual. El enfoque aquí presentado refuerza la relevancia de integrar tecnologías innovadoras en el estudio de la biología del comportamiento, con miras a avanzar en la comprensión de los mecanismos que regulan la conducta hedónica y su relación con el sistema nervioso central.



**Figura 29. Esquema de las alteraciones sinápticas observadas en el modelo APP/PS1 que modularían la microestructura de consumo.**

Esquema que relaciona el modelo transgénico APP/PS1 de 6 meses, las disfunciones dopaminérgicas y glicinérgicas en el circuito de recompensa, y los efectos en la microestructura del consumo hedónico. Las flechas indican el aumento en la frecuencia de los eventos de consumo (↑) y la disminución de su duración (↓), lo que se traduce en un patrón de ingesta fragmentado y una mayor compulsividad.

## 7. AGRADECIMIENTOS

A lo largo de este camino, que tantas veces se sintió incierto, hubo luces que iluminaron mi andar. Quisiera agradecer, ante todo, al Dr. Luis Aguayo, mi profesor tutor, por su incansable motivación y por compartir sus enseñanzas con generosidad y paciencia. Su guía no solo forjó el rumbo de esta tesis, sino también mi mirada sobre la ciencia y la vida.

Asimismo, mi profunda gratitud al Dr. Esteban Pino Quiroga, co-guía de este trabajo. Sus conocimientos en electrónica, y la manera clara y entusiasta con que los compartió, fueron fundamentales para tender el puente entre esa disciplina y las neurociencias que hizo posible este proyecto. Gracias por las horas de conversación, los esquemas en la pizarra y la confianza que depositó en mí para aventurarme más allá de mi zona de confort.

Este trabajo fue financiado gracias al Proyecto Fondecyt N° 1221080, cuyo apoyo hizo posible la realización de esta investigación.

Agradezco profundamente al equipo del Laboratorio de Neurofisiología, donde hallé apoyo y conocimiento, especialmente a Nicolás Osiel Riffó Lepe, Cand. Doctor en Ciencias Biológicas, Área Biología Celular y Molecular, quien con su orientación y disposición facilitó el espacio y cada animal necesarios para dar vida a este proyecto.

Mi gratitud también para Paul Francisco Soto Ortega, MSc en Neurobiología y estudiante del Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas, Área Biología Celular y Molecular, por su creatividad y su tiempo en el diseño e impresión 3D de las piezas que

construyeron los lickómetros, sin los cuales esta investigación no habría encontrado forma tangible.

Inmensa gratitud a ti, Belén Betsabé Canteros Rivas, estudiante del Programa de Doctorado en Microbiología y mi pareja, por su amor, paciencia, palabras, silencios y abrazos, que supieron sostenerme cuando el cansancio pesaba más que la voluntad. Gracias por recordarme siempre el propósito que trasciende a la ciencia: ser mejor persona cada día.

Finalmente, a mi madre, **Carmen de la Cruz Flores Mella**: ningún agradecimiento será jamás proporcional a la magnitud de su entrega. Su generosidad fue, y sigue siendo, el suelo fértil sobre el cual he podido crecer. Hubo años en que sus propias necesidades se hicieron pequeñas para que las mías tuvieran cabida; con cada gesto silencioso me enseñó que el amor verdadero se escribe con renunciadas invisibles y voluntades indómitas.

Su fuerza, templada en medio de dificultades que parecían insuperables, me regaló la certeza de que incluso los días más adversos encierran la promesa de un mañana distinto. Sus palabras de aliento, su sabiduría callada y esa fe inquebrantable en mi capacidad de avanzar fueron la luz que me sostuvo cuando el camino se oscurecía.

Gracias, mamá, por cobijar mis sueños aun cuando decidiste que los tuyos debían esperar; por convertirme en prioridad sin pedir nada a cambio; por recordarme con tu ejemplo que la dignidad y la esperanza no se negocian. Todo lo que logre a partir de aquí llevará siempre tu nombre, porque tu amor constituye el pilar sobre el que se alza esta tesis y la persona que la firma.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Akhan, I., Sayar-Atasoy, N., Deng, F., Kim, H., Yavuz, Y., Rysted, J., Laule, C., Davis, D., Li, Y., & Atasoy, D. (2023). Dorsal raphe serotonergic neurons suppress feeding through redundant forebrain circuits. *Molecular Metabolism*, *69*, 101676.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.molmet.2023.101676>
- Aliani, M., Udenigwe, C. C., Girgih, A. T., Pownall, T. L., Bugera, J. L., & Eskin, M. N. A. (2013). Aroma and Taste Perceptions With Alzheimer Disease and Stroke. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *53*(7), 760-769.  
<https://doi.org/10.1080/10408398.2011.559557>
- Alzheimer's Disease International. (2024). *World Alzheimer Report*.
- Andrade-Guerrero, J., Santiago-Balmaseda, A., Jeronimo-Aguilar, P., Vargas-Rodríguez, I., Cadena-Suárez, A. R., Sánchez-Garibay, C., Pozo-Molina, G., Méndez-Catalá, C. F., Cardenas-Aguayo, M.-D.-C., Diaz-Cintra, S., Pacheco-Herrero, M., Luna-Muñoz, J., & Soto-Rojas, L. O. (2023). Alzheimer's Disease: An Updated Overview of Its Genetics. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(4), 3754. <https://doi.org/10.3390/ijms24043754>
- Armijo-Weingart, L., San Martin, L., Gallegos, S., Araya, A., Konar-Nie, M., Fernandez-Pérez, E., & Aguayo, L. G. (2024). Loss of glycine receptors in the nucleus accumbens and ethanol reward in an Alzheimer's Disease mouse model. *Prog Neurobiol*, *237*, 102616.  
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2024.102616>
- Babaei, P. (2021). NMDA and AMPA receptors dysregulation in Alzheimer's disease. *Eur J Pharmacol*, *908*, 174310.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174310>
- Babulal, G. M., Chen, L., Doherty, J. M., Murphy, S. A., Johnson, A. M., & Roe, C. M. (2022). Longitudinal Changes in Anger, Anxiety, and Fatigue Are Associated with Cerebrospinal Fluid Biomarkers of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*, *87*(1), 141-148.  
<https://doi.org/10.3233/jad-215708>
- Bai, B., Vanderwall, D., Li, Y., Wang, X., Poudel, S., Wang, H., Dey, K. K., Chen, P.-C., Yang, K., & Peng, J. (2021). Proteomic landscape of Alzheimer's Disease: novel insights into pathogenesis and biomarker

- discovery. *Molecular Neurodegeneration*, 16(1).  
<https://doi.org/10.1186/s13024-021-00474-z>
- Beaulieu, J. M., & Gainetdinov, R. R. (2011). The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev*, 63(1), 182-217. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002642>
- Biggs, T. A., & Myers, R. D. (1998). Naltrexone and amperozide modify chocolate and saccharin drinking in high alcohol-preferring P rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 60(2), 407-413.  
[https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(97\)00598-4](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(97)00598-4)
- Bilousova, T., Miller, C. A., Poon, W. W., Vinters, H. V., Corrada, M., Kawas, C., Hayden, E. Y., Teplow, D. B., Glabe, C., Albay, R., Cole, G. M., Teng, E., & Gyls, K. H. (2016). Synaptic Amyloid- $\beta$  Oligomers Precede p-Tau and Differentiate High Pathology Control Cases. *The American Journal of Pathology*, 186(1), 185-198.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.09.018>
- Chandrashekar, J., Hoon, M. A., Ryba, N. J. P., & Zuker, C. S. (2006). The receptors and cells for mammalian taste. *Nature*, 444(7117), 288-294.  
<https://doi.org/10.1038/nature05401>
- Chen, Y., Al-Nusaif, M., Li, S., Tan, X., Yang, H., Cai, H., & Le, W. (2024). Progress on early diagnosing Alzheimer's disease. *Frontiers of Medicine*, 18(3), 446-464. <https://doi.org/10.1007/s11684-023-1047-1>
- Czech, D. A. (1982). INTEGRATED-CIRCUIT DROP-SENSING DRINKOMETER. *Physiology & Behavior*, 29(6), 1179-1181.  
[https://doi.org/10.1016/0031-9384\(82\)90317-1](https://doi.org/10.1016/0031-9384(82)90317-1)
- Dafny, N., & Rosenfeld, G. C. (2017). Neurobiology of Drugs of Abuse. In P. M. Conn (Ed.), *Conn's Translational Neuroscience* (pp. 715-722). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-802381-5.00052-x>
- Davis, J. D. (1989). The microstructure of ingestive behavior. *Ann N Y Acad Sci*, 575(1 The Psychobio), 106-119; discussion 120-101.  
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1989.tb53236.x>
- Davis, J. D. (1999). Some new developments in the understanding of oropharyngeal and postingestional controls of meal size. *Nutrition*, 15(1), 32-39. [https://doi.org/10.1016/s0899-9007\(98\)00109-9](https://doi.org/10.1016/s0899-9007(98)00109-9)

- Davis, J. D., & Keehn, J. D. (1959). Magnitude of reinforcement and consummatory behavior. *Science*, *130*(3370), 269-271. <https://doi.org/10.1126/science.130.3370.269>
- Davis, J. D., & Smith, G. P. (1992). Analysis of the microstructure of the rhythmic tongue movements of rats ingesting maltose and sucrose solutions. *Behav Neurosci*, *106*(1), 217-228. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1554433>
- Der-Avakian, A., & Markou, A. (2012). The neurobiology of anhedonia and other reward-related deficits. *Trends in Neurosciences*, *35*(1), 68-77. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2011.11.005>
- Di Chiara, G., & Imperato, A. (1988). Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *85*(14), 5274-5278. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.14.5274>
- Evangelisti, E., Cecchi, C., Cascella, R., Sgromo, C., Becatti, M., Dobson, C. M., Chiti, F., & Stefani, M. (2012). Membrane lipid composition and its physicochemical properties define cell vulnerability to aberrant protein oligomers. *Journal of Cell Science*, *125*(10), 2416-2427. <https://doi.org/10.1242/jcs.098434>
- Fani, G., La Torre, C. E., Cascella, R., Cecchi, C., Vendruscolo, M., & Chiti, F. (2022). Misfolded protein oligomers induce an increase of intracellular Ca<sup>2+</sup> causing an escalation of reactive oxidative species. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *79*(9). <https://doi.org/10.1007/s00018-022-04513-w>
- Fernandez-Perez, E. J., Gallegos, S., Armijo-Weingart, L., Araya, A., Riffollepe, N. O., Cayuman, F., & Aguayo, L. G. (2020). Changes in neuronal excitability and synaptic transmission in nucleus accumbens in a transgenic Alzheimer's disease mouse model. *Sci Rep*, *10*(1), 19606. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76456-w>
- Fernández-Pérez, E. J., Gallegos, S., Armijo-Weingart, L., Araya, A., Riffollepe, N. O., Cayuman, F., & Aguayo, L. G. (2020). Changes in neuronal excitability and synaptic transmission in nucleus accumbens in a transgenic Alzheimer's disease mouse model. *Scientific Reports*, *10*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76456-w>
- Gaillard, D., Laugerette, F., Darcel, N., El-Yassimi, A., Passilly-Degrace, P., Hichami, A., Khan, N. A., Montmayeur, J. P., & Besnard, P. (2008). The gustatory pathway is involved in CD36-mediated orosensory

- perception of long-chain fatty acids in the mouse. *FASEB J*, 22(5), 1458-1468. <https://doi.org/10.1096/fj.07-8415com>
- Gallego Villarejo, L., Bachmann, L., Marks, D., Brachthäuser, M., Geidies, A., & Müller, T. (2022). Role of Intracellular Amyloid  $\beta$  as Pathway Modulator, Biomarker, and Therapy Target. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 4656. <https://doi.org/10.3390/ijms23094656>
- Gero, D., File, B., Justiz, J., Steinert, R. E., Frick, L., Spector, A. C., & Bueter, M. (2019). Drinking microstructure in humans: A proof of concept study of a novel drinkometer in healthy adults. *Appetite*, 133, 47-60. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2018.08.012>
- Giliberto, L., Borghi, R., Piccini, A., Mangerini, R., Sorbi, S., Cirmena, G., Garuti, A., Ghetti, B., Tagliavini, F., Mughal, M. R., Mattson, M. P., Zhu, X., Wang, X., Guglielmotto, M., Tamagno, E., & Tabaton, M. (2009). Mutant Presenilin 1 Increases the Expression and Activity of BACE1. *Journal of Biological Chemistry*, 284(14), 9027-9038. <https://doi.org/10.1074/jbc.m805685200>
- Godynyuk, E., Bluitt, M. N., Tooley, J. R., Kravitz, A. V., & Creed, M. C. (2019). An Open-Source, Automated Home-Cage Sipper Device for Monitoring Liquid Ingestive Behavior in Rodents. *eneuro*, 6(5), ENEURO.0292-0219. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0292-19.2019>
- Gutiérrez-Martos, M., Girard, B., Mendonça-Netto, S., Perroy, J., Valjent, E., Maldonado, R., & Martin, M. (2018). Cafeteria diet induces neuroplastic modifications in the nucleus accumbens mediated by microglia activation. *Addict Biol*, 23(2), 735-749. <https://doi.org/10.1111/adb.12541>
- Hayar, A., Bryant, J. L., Boughter, J. D., & Heck, D. H. (2006). A low-cost solution to measure mouse licking in an electrophysiological setup with a standard analog-to-digital converter. *J Neurosci Methods*, 153(2), 203-207. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2005.10.023>
- Hernández Ruiz de Eguilaz, M., Martínez de Morentin Aldabe, B., Almiron-Roig, E., Pérez-Diez, S., San Cristóbal Blanco, R., Navas-Carretero, S., & Martínez, J. A. (2018). Multisensory influence on eating behavior: Hedonic consumption [10.1016/j.endien.2018.03.003]. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición (English ed.)*, 65(2), 114-125. <https://doi.org/10.1016/j.endien.2018.03.003>

- Higgins, G. A., Tomkins, D. M., Fletcher, P. J., & Sellers, E. M. (1992). EFFECT OF DRUGS INFLUENCING 5-HT FUNCTION ON ETHANOL DRINKING AND FEEDING-BEHAVIOR IN RATS - STUDIES USING A DRINKOMETER SYSTEM. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *16*(4), 535-552.  
[https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(05\)80195-2](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(05)80195-2)
- Hikida, T., Yawata, S., Yamaguchi, T., Danjo, T., Sasaoka, T., Wang, Y., & Nakanishi, S. (2013). Pathway-specific modulation of nucleus accumbens in reward and aversive behavior via selective transmitter receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *110*(1), 342-347.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1220358110>
- Hsiao, K., Chapman, P., Nilsen, S., Eckman, C., Harigaya, Y., Younkin, S., Yang, F., & Cole, G. (1996). Correlative memory deficits, A $\beta$  elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science*, *274*(5284), 99-102. <https://doi.org/10.1126/science.274.5284.99>
- Ittner, L. M., & Götz, J. (2011). Amyloid- $\beta$  and tau — a toxic pas de deux in Alzheimer's disease. *Nature Reviews Neuroscience*, *12*(2), 67-72.  
<https://doi.org/10.1038/nrn2967>
- Iwatsubo, T., Odaka, A., Suzuki, N., Mizusawa, H., Nukina, N., & Ihara, Y. (1994). Visualization of A $\beta$ 42(43) and A $\beta$ 40 in senile plaques with end-specific A $\beta$  monoclonals: Evidence that an initially deposited species is A $\beta$ 42(43). *Neuron*, *13*(1), 45-53.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0896-6273\(94\)90458-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0896-6273(94)90458-8)
- Jankowsky, J. L., Fadale, D. J., Anderson, J., Xu, G. M., Gonzales, V., Jenkins, N. A., Copeland, N. G., Lee, M. K., Younkin, L. H., Wagner, S. L., Younkin, S. G., & Borchelt, D. R. (2004). Mutant presenilins specifically elevate the levels of the 42 residue  $\beta$ -amyloid peptide *in vivo*:: evidence for augmentation of a 42-specific  $\gamma$  secretase. *Human Molecular Genetics*, *13*(2), 159-170.  
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddh019>
- Johnson, A. W. (2018). Characterizing ingestive behavior through licking microstructure: Underlying neurobiology and its use in the study of obesity in animal models. *Int J Dev Neurosci*, *64*(1), 38-47.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2017.06.012>
- Johnson, A. W., Sherwood, A., Smith, D. R., Wosiski-Kuhn, M., Gallagher, M., & Holland, P. C. (2010). An analysis of licking microstructure in

- three strains of mice. *Appetite*, 54(2), 320-330.  
<https://doi.org/10.1016/j.appet.2009.12.007>
- Kelleher, R. J., & Shen, J. (2017). Presenilin-1 mutations and Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(4), 629-631. <https://doi.org/10.1073/pnas.1619574114>
- Kelley, A. E., & Berridge, K. C. (2002). The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs. *J Neurosci*, 22(9), 3306-3311. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-09-03306.2002>
- Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2016). Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. *Lancet Psychiatry*, 3(8), 760-773. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)00104-8](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)00104-8)
- Lok, K., Zhao, H., Shen, H., Wang, Z., Gao, X., Zhao, W., & Yin, M. (2013). Characterization of the APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease in senescence accelerated background. *Neuroscience Letters*, 557, 84-89. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.10.051>
- Long, J. M., & Holtzman, D. M. (2019). Alzheimer Disease: An Update on Pathobiology and Treatment Strategies. *Cell*, 179(2), 312-339. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.09.001>
- Maffei, A., Haley, M., & Fontanini, A. (2012). Neural processing of gustatory information in insular circuits. *Current Opinion in Neurobiology*, 22(4), 709-716. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2012.04.001>
- Marin, C., Vilas, D., Langdon, C., Alobid, I., López-Chacón, M., Haehner, A., Hummel, T., & Mullol, J. (2018). Olfactory Dysfunction in Neurodegenerative Diseases. *Current Allergy and Asthma Reports*, 18(8). <https://doi.org/10.1007/s11882-018-0796-4>
- Martã-Nez-Pinilla, E., Oã±Atibia-Astibia, A., & Franco, R. (2015). The relevance of theobromine for the beneficial effects of cocoa consumption. *Frontiers in Pharmacology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00030>
- Masters, M. C., Morris, J. C., & Roe, C. M. (2015). "Noncognitive" symptoms of early Alzheimer disease. *Neurology*, 84(6), 617-622. <https://doi.org/10.1212/wnl.0000000000001238>
- Melo, M. C., Alves, P. E., Cecyn, M. N., Eduardo, P. M. C., & Abrahao, K. P. (2022). Development of eight wireless automated cages system with two lick-o-meters each for rodents. *eneuro*, 9(4),

- ENEURO.0526-0521. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0526-21.2022>
- Miller, A. L., & Leach, M. C. (2023). Determining the preferred liquid reward in adult C57BL/6 mice. *Lab Anim*, 57(3), 332-335. <https://doi.org/10.1177/00236772221138628>
- Minkeviciene, R., Ihalainen, J., Malm, T., Matilainen, O., Keksa-Goldsteine, V., Goldsteins, G., Iivonen, H., Leguit, N., Glennon, J., Koistinaho, J., Banerjee, P., & Tanila, H. (2008). Age-related decrease in stimulated glutamate release and vesicular glutamate transporters in APP/PS1 transgenic and wild-type mice. *J Neurochem*, 105(3), 584-594. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.05147.x>
- Molander, A., & Soderpalm, B. (2005). Glycine receptors regulate dopamine release in the rat nucleus accumbens. *Alcohol Clin Exp Res*, 29(1), 17-26. <https://doi.org/10.1097/01.alc.0000150006.17168.f7>
- Najam, S. S., Zglinicki, B., Vinnikov, I. A., & Konopka, W. (2019). MicroRNAs in the hypothalamic control of energy homeostasis. *Cell and Tissue Research*, 375(1), 173-177. <https://doi.org/10.1007/s00441-018-2876-0>
- Nakanishi, S., Hikida, T., & Yawata, S. (2014). Distinct dopaminergic control of the direct and indirect pathways in reward-based and avoidance learning behaviors. *Neuroscience*, 282, 49-59. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.04.026>
- Naneix, F., Peters, K. Z., & Mccutcheon, J. E. (2020). Investigating the Effect of Physiological Need States on Palatability and Motivation Using Microstructural Analysis of Licking. *Neuroscience*, 447, 155-166. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.10.036>
- Nie, X., Sun, Y., Wan, S., Zhao, H., Liu, R., Li, X., Wu, S., Nedelska, Z., Hort, J., Qing, Z., Xu, Y., & Zhang, B. (2017). Subregional Structural Alterations in Hippocampus and Nucleus Accumbens Correlate with the Clinical Impairment in Patients with Alzheimer's Disease Clinical Spectrum: Parallel Combining Volume and Vertex-Based Approach. *Frontiers in Neurology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00399>
- Nobili, A., Latagliata, E. C., Viscomi, M. T., Cavallucci, V., Cutuli, D., Giacobazzo, G., Krashia, P., Rizzo, F. R., Marino, R., Federici, M., De Bartolo, P., Aversa, D., Dell'Acqua, M. C., Cordella, A.,

- Sancandi, M., Keller, F., Petrosini, L., Puglisi-Allegra, S., Mercuri, N. B.,...D'Amelio, M. (2017). Dopamine neuronal loss contributes to memory and reward dysfunction in a model of Alzheimer's disease. *Nature Communications*, 8(1), 14727. <https://doi.org/10.1038/ncomms14727>
- O'Day, D. H., Eshak, K., & Myre, M. A. (2015). Calmodulin Binding Proteins and Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 46(3), 553-569. <https://doi.org/10.3233/jad-142772>
- Pearce, J. M. (2020). Economic savings for scientific free and open source technology: A review. *HardwareX*, 8, e00139. <https://doi.org/10.1016/j.ohx.2020.e00139>
- Perrin, R. J., Fagan, A. M., & Holtzman, D. M. (2009). Multimodal techniques for diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease. *Nature*, 461(7266), 916-922. <https://doi.org/10.1038/nature08538>
- Petersen, N., Adank, D. N., Raghavan, R., Winder, D. G., & Doyle, M. A. (2023). LIQ HD (Lick Instance Quantifier Home Cage Device): An Open-Source Tool for Recording Undisturbed Two-Bottle Drinking Behavior in a Home Cage Environment. *eneuro*, 10(4), ENEURO.0506-0522. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0506-22.2023>
- Poejo, J., Salazar, J., Mata, A. M., & Gutierrez-Merino, C. (2021). The Relevance of Amyloid  $\beta$ -Calmodulin Complexation in Neurons and Brain Degeneration in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4976. <https://doi.org/10.3390/ijms22094976>
- Poulin, S. P., Dautoff, R., Morris, J. C., Barrett, L. F., & Dickerson, B. C. (2011). Amygdala atrophy is prominent in early Alzheimer's disease and relates to symptom severity. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 194(1), 7-13. <https://doi.org/10.1016/j.psychresns.2011.06.014>
- Praticò, D., Uryu, K., Leight, S., Trojanowski, J. Q., & Lee, V. M.-Y. (2001). Increased Lipid Peroxidation Precedes Amyloid Plaque Formation in an Animal Model of Alzheimer Amyloidosis. *The Journal of Neuroscience*, 21(12), 4183-4187. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.21-12-04183.2001>
- Ramos, G. (2021). *Diseño y Construcción de un Dispositivo Electrónico para Estudios Fisiológicos en Ratones* [Tesis de pregrado, Universidad de Concepción].

- Renner, M., Lacor, P. N., Velasco, P. T., Xu, J., Contractor, A., Klein, W. L., & Triller, A. (2010). Deleterious Effects of Amyloid  $\beta$  Oligomers Acting as an Extracellular Scaffold for mGluR5. *Neuron*, 66(5), 739-754. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.04.029>
- Romano, A., Pace, L., Tempesta, B., Lavecchia, A. M., Macheda, T., Bedse, G., Petrella, A., Cifani, C., Serviddio, G., Vendemiale, G., Gaetani, S., & Cassano, T. (2015). Depressive-Like Behavior Is Paired to Monoaminergic Alteration in a Murine Model of Alzheimer's Disease. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 18(4), pyu020-pyu020. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyu020>
- Root, D. H., Wang, H. L., Liu, B., Barker, D. J., Mod, L., Szocsics, P., Silva, A. C., Magloczky, Z., & Morales, M. (2016). Glutamate neurons are intermixed with midbrain dopamine neurons in nonhuman primates and humans. *Sci Rep*, 6(1), 30615. <https://doi.org/10.1038/srep30615>
- Roper, S. D. (2013). Taste buds as peripheral chemosensory processors. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 24(1), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2012.12.002>
- Russo, S. J., & Nestler, E. J. (2013). The brain reward circuitry in mood disorders. *Nat Rev Neurosci*, 14(9), 609-625. <https://doi.org/10.1038/nrn3381>
- Salgado, S., & Kaplitt, M. G. (2015). The Nucleus Accumbens: A Comprehensive Review. *Stereotact Funct Neurosurg*, 93(2), 75-93. <https://doi.org/10.1159/000368279>
- Schmicker, M., Frühling, I., Menze, I., Glanz, W., Müller, P., Noesselt, T., & Müller, N. G. (2023). The Potential Role of Gustatory Function as an Early Diagnostic Marker for the Risk of Alzheimer's Disease in Subjective Cognitive Decline. *Journal of Alzheimer's Disease Reports*, 7(1), 249-262. <https://doi.org/10.3233/adr220092>
- Scott, S. A., DeKosky, S. T., & Scheff, S. W. (1991). Volumetric atrophy of the amygdala in Alzheimer's disease: quantitative serial reconstruction. *Neurology*, 41(3), 351-356. <https://doi.org/10.1212/wnl.41.3.351>
- Sepúlveda, F. J., Fierro, H., Fernandez, E., Castillo, C., Peoples, R. W., Opazo, C., & Aguayo, L. G. (2014). Nature of the neurotoxic membrane actions of amyloid- $\beta$  on hippocampal neurons in

- Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 35(3), 472-481.  
<https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.08.035>
- Serra, L., D'Amelio, M., Esposito, S., Di Domenico, C., Koch, G., Marra, C., Mercuri, N. B., Caltagirone, C., Artusi, C. A., Lopiano, L., Cercignani, M., & Bozzali, M. (2021). Ventral Tegmental Area Disconnection Contributes Two Years Early to Correctly Classify Patients Converted to Alzheimer's Disease: Implications for Treatment. *Journal of Alzheimer's Disease*, 82(3), 985-1000.  
<https://doi.org/10.3233/jad-210171>
- Sibly, R. M., Nott, H. M. R., & Fletcher, D. J. (1990). Splitting behaviour into bouts. *Animal Behaviour*, 39(1), 63-69.  
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(05\)80726-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0003-3472(05)80726-2)
- Smith, G. P. (2001). John Davis and the meanings of licking. *Appetite*, 36(1), 84-92. <https://doi.org/10.1006/appe.2000.0371>
- Spector, A. C., Klumpp, P. A., & Kaplan, J. M. (1998). Analytical issues in the evaluation of food deprivation and sucrose concentration effects on the microstructure of licking behavior in the rat. *Behav Neurosci*, 112(3), 678-694. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.112.3.678>
- Spence, K. W., Bergmann, G., & Lippitt, R. (1950). A study of simple learning under irrelevant motivational-reward conditions. *J Exp Psychol*, 40(5), 539-551. <https://doi.org/10.1037/h0060543>
- Thiele, T. E., Crabbe, J. C., & Boehm, S. L., 2nd. (2014). "Drinking in the Dark" (DID): a simple mouse model of binge-like alcohol intake. *Curr Protoc Neurosci*, 68(1), 9 49 41-49 49 12.  
<https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0949s68>
- Thiele, T. E., & Navarro, M. (2014). "Drinking in the dark" (DID) procedures: A model of binge-like ethanol drinking in non-dependent mice. *Alcohol*, 48(3), 235-241.  
<https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2013.08.005>
- Tu, S., Okamoto, S.-I., Lipton, S. A., & Xu, H. (2014). Oligomeric A $\beta$ -induced synaptic dysfunction in Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 9(1), 48. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-9-48>
- Valdés G, J. L., & Torrealba L, F. (2006). La corteza prefrontal medial controla el alerta conductual y vegetativo: Implicancias en desórdenes de la conducta. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*, 44(3). <https://doi.org/10.4067/s0717-92272006000300005>

- Vaquero-Puyuelo, D., De-La-Cámara, C., Olaya, B., Gracia-García, P., Lobo, A., López-Antón, R., & Santabárbara, J. (2021). Anhedonia as a Potential Risk Factor of Alzheimer's Disease in a Community-Dwelling Elderly Sample: Results from the ZARADEMP Project. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(4), 1370. <https://doi.org/10.3390/ijerph18041370>
- Verharen, J. P. H., De Jong, J. W., Zhu, Y., & Lammel, S. (2023). A computational analysis of mouse behavior in the sucrose preference test. *Nature Communications*, *14*(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38028-0>
- Volloch, V., & Rits-Volloch, S. (2023). The Amyloid Cascade Hypothesis 2.0 for Alzheimer's Disease and Aging-Associated Cognitive Decline: From Molecular Basis to Effective Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(15), 12246. <https://doi.org/10.3390/ijms241512246>
- Wall, A. M., Walters, G. C., & England, R. S. (1972). The lickometer: A simple device for the analysis of licking as an operant. *Behavior Research Methods & Instrumentation*, *4*(6), 320-322. <https://doi.org/10.3758/bf03207315>
- White, S. R., Amarante, L. M., Kravitz, A. V., & Laubach, M. (2019). The Future Is Open: Open-Source Tools for Behavioral Neuroscience Research. *eneuro*, *6*(4), ENEURO.0223-0219. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0223-19.2019>
- Williams, B., Speed, A., & Haider, B. (2018). A novel device for real-time measurement and manipulation of licking behavior in head-fixed mice. *J Neurophysiol*, *120*(6), 2975-2987. <https://doi.org/10.1152/jn.00500.2018>
- Wolf, D. S., Gearing, M., Snowden, D. A., Mori, H., Markesbery, W. R., & Mirra, S. S. (1999). Progression of regional neuropathology in Alzheimer disease and normal elderly: findings from the Nun study. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, *13*(4), 226-231. <https://doi.org/10.1097/00002093-199910000-00009>
- Wood, R. M., Garcia, Z., Daniels, N., Landon, S. M., Humayun, S., Lee, H. G., & Macpherson, L. J. (2020). Selective Peripheral Taste Dysfunction in APP/PS1 Mutant Transgenic Mice. *J Alzheimers Dis*, *76*(2), 613-621. <https://doi.org/10.3233/jad-200376>

- World Health Organization. (2017). Global action plan on the public health response to dementia 2017 - 2025.
- Wu, L., Rosa-Neto, P., Hsiung, G.-Y. R., Sadovnick, A. D., Masellis, M., Black, S. E., Jia, J., & Gauthier, S. (2012). Early-Onset Familial Alzheimer's Disease (EOFAD). *Canadian Journal of Neurological Sciences / Journal Canadien des Sciences Neurologiques*, 39(4), 436-445. <https://doi.org/10.1017/s0317167100013949>
- Yasumatsu, K., Iwata, S., Inoue, M., & Ninomiya, Y. (2019). Fatty acid taste quality information via GPR120 in the anterior tongue of mice. *Acta Physiol (Oxf)*, 226(1), e13215. <https://doi.org/10.1111/apha.13215>
- Yu, H., Song, L., Duan, X., Zhu, D., Li, N., Pan, R., Xu, R., Yu, X., Ye, F., Jiang, X., Ye, H., Pan, Z., Wei, S., & Jiang, Z. (2023). Optogenetics in taste research: A decade of enlightenment. *Oral Diseases*. <https://doi.org/10.1111/odi.14498>
- Zhang, Y., Liang, Y., & Gu, Y. (2025). The dopaminergic system and Alzheimer's disease. *Neural Regeneration Research*, 20(9), 2495-2512. <https://doi.org/10.4103/nrr.Nrr-d-24-00230>
- Zhu, S., Wang, J., Zhang, Y., He, J., Kong, J., Wang, J. F., & Li, X. M. (2017). The role of neuroinflammation and amyloid in cognitive impairment in an <scp>APP</scp>/<scp>PS</scp>1 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 23(4), 310-320. <https://doi.org/10.1111/cns.12677>

## 9. ANEXOS

**Anexo A.** Script en Python para el procesamiento de los datos del lickometro fotoeléctrico.

Este script fue utilizado para importar y procesar los datos entregados por el lickometro fotoeléctrico. Se utilizó las librerías tkinter para crear la interfaz gráfica (GUI) donde se cargan los archivos de registro .csv y pandas para el procesamiento de los datos. Del archivo generado por este script, solo se usaron las columnas 'Event Start Time', 'Duration Increase' y 'InterBout Interval', para los análisis efectuados

```
import tkinter as tk
from tkinter import ttk
from tkinterdnd2 import DND_FILES, TkinterDnD
import pandas as pd
import os

did_time = 7200 # 2 horas: 7200 segundos

class App:
    def __init__(self, root):
        self.root = root
        self.setup_ui()
        self.files = [] # Lista para almacenar las rutas de los archivos a procesar

    def setup_ui(self):
        self.root.title('Arrastrar y Soltar Archivos')
        self.label = tk.Label(self.root, text='Arrastra todos los archivos y carpetas aquí',
                               bg='lightgrey', width=50, height=10)
```

```

self.label.pack(fill=tk.BOTH, expand=True)
self.label.drop_target_register(DND_FILES)
self.label.dnd_bind('<<Drop>>', self.drop)
self.submit_button = ttk.Button(self.root, text='Enviar',
command=self.process_files)
self.submit_button.pack(side=tk.BOTTOM, pady=5)

def drop(self, event):
    items = event.data.split()
    for item in items:
        if os.path.isdir(item):
            for root, dirs, files in os.walk(item):
                for file in files:
                    if file.lower().endswith('.csv'):
                        self.files.append(os.path.join(root, file))
        else:
            self.files.append(item)
    self.label.config(text=f"{len(self.files)} archivos listos para procesar")

def process_files(self):
    for file in self.files:
        print(f"Procesando archivo: (Gero et al.)")
        self.process_and_save_data(file)
    self.files = [] # Limpiar la lista de archivos después de procesar
    self.label.config(text='Arrastra todos los archivos y carpetas aquí')

def calculate_segments(self, data, segments_seconds, label_suffix):

```

```

    segments_minutes = [(start / 60, end / 60) for start, end in zip(segments_seconds[:-1], segments_seconds[1:])]
    bouts_sum = []
    time_per_bout_sum = []
    interbout_interval_segments = []
    event_frequency_per_segment = []
    time_segment_labels = []

    for (start_minute, end_minute), end_second in zip(segments_minutes, segments_seconds[1:] + [float('inf')]):
        mask = (data['Event Start Time'] >= start_minute * 60) & (data['Event Start Time'] < end_second)
        segment_bouts = data.loc[mask, 'Bout'].count()
        bouts_sum.append(segment_bouts)
        time_per_bout_sum.append(data.loc[mask, 'Duration Increase'].sum() / 60)
        interbout_interval_sum = data.loc[mask, 'InterBout Interval'].sum() / 60
        interbout_interval_segments.append(interbout_interval_sum)
        segment_duration_minutes = end_minute - start_minute
        frequency = segment_bouts / segment_duration_minutes if segment_duration_minutes > 0 else 0
        event_frequency_per_segment.append(frequency)
        time_segment_labels.append(f" {int(start_minute)} - {int(end_minute)} {label_suffix}")

    return pd.DataFrame({
        f'Time Segment {label_suffix}': time_segment_labels,
        f'Bouts {label_suffix}': bouts_sum,
        f'Time per Bout {label_suffix}': time_per_bout_sum,
    })

```

```

        f'InterBout Interval {label_suffix}': interbout_interval_segments,
        f'Event Frequency per Segment {label_suffix}': event_frequency_per_segment
    })

def process_and_save_data(self, filepath):
    # Cargar los datos
    data = pd.read_csv(filepath, encoding='ISO-8859-1')
    data.columns = data.columns.str.strip()

    # Calcular el incremento en 'LeftDuration'
    data['Duration Increase'] = data['LeftDuration'].diff().fillna(data['LeftDuration'])

    # Filtrar los datos para los cambios en 'LeftDuration'
    data = data[data['Duration Increase'] >= 0.5]

    # Calcular el tiempo de inicio de cada evento ANTES de ordenar
    data['Event Start Time'] = data['ElapsedSecs'] - data['Duration Increase']
    data['Bout'] = range(1, len(data) + 1)

    # Asegurarse de que los datos están ordenados por 'Event Start Time' DESPUÉS de
    calcularlo
    data = data.sort_values('Event Start Time')

    # Continuar con el cálculo de 'InterBout Interval'
    data['InterBout Interval'] = (data['Event Start Time'].diff() - data['Duration
Increase'].shift()).dropna()

```

```

# Calcular el total de eventos ('Bouts') y el tiempo total de los eventos ('Duration
Increase') para todo el archivo

total_bouts = len(data) # Total de eventos en el archivo

total_bout_time = data['Duration Increase'].sum() # Suma total del tiempo de
duración de todos los eventos

# Inicializar las columnas 'Total Bout' y 'Total Bout Time' con NaN para todas las
filas

data['Total Bout'] = pd.NA
data['Total Bout Time'] = pd.NA

# Restablece el índice del DataFrame para asegurar de que el índice comienza en 0
data.reset_index(drop=True, inplace=True)

# Asignar los valores calculados solo a la primera fila
data.at[0, 'Total Bout'] = total_bouts
data.at[0, 'Total Bout Time'] = total_bout_time

# Calcular la frecuencia de eventos por minuto para todo el conjunto de datos
data.at[0, 'Event Frequency per minute'] = total_bouts / (did_time / 60)

# Definir los segmentos de tiempo y calcular las sumas para 'Bouts' y 'Time per
Bout'
segments_seconds_10min = list(range(0, did_time + 1, 600))
segments_seconds_15min = list(range(0, did_time + 1, 900))
segments_seconds_30min = list(range(0, did_time + 1, 1800))
segments_seconds_60min = list(range(0, did_time + 1, 3600))

```

```

# Calcular los resultados para cada conjunto de segmentos y concatenarlos con el
DataFrame final

results_10min = self.calculate_segments(data, segments_seconds_10min, '10min')
results_15min = self.calculate_segments(data, segments_seconds_15min, '15min')
results_30min = self.calculate_segments(data, segments_seconds_30min, '30min')
results_60min = self.calculate_segments(data, segments_seconds_60min, '60min')

# Concatenar todos los DataFrames de resultados con data
final_data = pd.concat([data[['Event Start Time',
                               'Duration Increase',
                               'InterBout Interval',
                               'Total Bout',
                               'Total Bout Time',
                               'Event Frecuency per minute',
                               ]].reset_index(drop=True),
                        results_10min, results_15min, results_30min, results_60min],
axis=1)

# Guardar el DataFrame final
directory = os.path.dirname(filepath)
file_name = os.path.splitext(os.path.basename(filepath))[0]
final_file_path = os.path.join(directory, f'{file_name}_procesado.xlsx')
final_data.to_excel(final_file_path, index=False)
print(f'Archivo guardado en: {final_file_path}')

if __name__ == "__main__":

```

```
root = TkinterDnD.Tk()
app = App(root)
root.mainloop()
```

**Anexo B.** Script en Python para crear gráficas de patrón de consumo con el lickometro fotoeléctrico.

Este script fue utilizado para importar, filtrar y graficar los eventos de consumo registrados por el lickometro fotoeléctrico. Se utilizó la librería pandas para el manejo de datos y matplotlib para la visualización.

```
import pandas as pd
import matplotlib.pyplot as plt

def process_data(filepath):
    data = pd.read_csv(filepath)
    data.columns = data.columns.str.strip() # Eliminar espacios en blanco en los nombres
    de las columnas

    # Calcular el incremento en 'LeftDuration'
    data['Duration Increase'] = data['LeftDuration'].diff().fillna(data['LeftDuration'])

    # Filtrar los datos para los cambios en 'LeftDuration'
    data = data[data['Duration Increase'] >= 0.5]

    # Calcular el tiempo de inicio de cada evento
    data['Event Start Time'] = data['ElapsedSecs'] - data['Duration Increase']

    return data[['Event Start Time', 'Duration Increase']]

# Crear la figura y el eje
fig, ax = plt.subplots(figsize=(20, 1))

# Lista de archivos
filepaths_wt = [] # ruta de los archivos wt

filepaths_app = [] # ruta de los archivos app

# Altura de cada barra
bar_height = 0.1
```

```

# Procesar y agregar los eventos al gráfico para Wild Type
for filepath in filepaths_wt:
    data = process_data(filepath)
    bars = [(start, max(duration, 1)) for start, duration in zip(data['Event Start Time'],
data['Duration Increase'])]
    ax.broken_barh(bars, (0.02, bar_height), facecolors='blue') # Color azul para Wild
Type

# Procesar y agregar los eventos al gráfico para APP/PS1
for filepath in filepaths_app:
    data = process_data(filepath)
    bars = [(start, max(duration, 1)) for start, duration in zip(data['Event Start Time'],
data['Duration Increase'])]
    ax.broken_barh(bars, (0.06 + bar_height, bar_height), facecolors='red') # Color rojo
para APP/PS1

# Configuración de los ejes y título
ax.set_xlim(0, 7200)
ax.set_ylim(0, bar_height * 3)
ax.set_xlabel('Tiempo (s)')
ax.set_yticks([bar_height * 0.6, bar_height * 2])
ax.set_yticklabels(['APP/PS1', 'WT'])
ax.tick_params(axis='x', rotation=45)
ax.tick_params(axis='both', which='major', labelsize=10)
plt.show()

```

### **Anexo C.** Script en Python para el análisis de microestructura por segmentos

Este script fue utilizado para procesar los archivos registrados por el lickometro fotoelectrico y obtener la cantidad de eventos de consumo, tiempo de consumo e intervalo inter-evento en segmentos de 30 minutos. Se utilizó la librería pandas para el manejo de datos.

```
import pandas as pd

agua_wt = [] # ruta de los archivos wt

agua_app = [] # ruta de los archivos app

# Definición de constantes y parámetros
TIEMPO_TOTAL = 7200 # Total de segundos (2 horas = 7200 segundos)
SEGMENTO_DURACION = 1800 # Duración de cada segmento en segundos (30 minutos = 1800 segundos)
NUM_SEGMENTOS = TIEMPO_TOTAL // SEGMENTO_DURACION

def procesar_archivo(ruta):
    df = pd.read_excel(ruta)
    df.dropna(subset=['Event Start Time', 'Duration Increase'], inplace=True)
    df.reset_index(drop=True, inplace=True)
    df['Event End Time'] = df['Event Start Time'] + df['Duration Increase']
    return df[['Event Start Time', 'Event End Time', 'Duration Increase']]

def calcular_suma_intervalos(eventos):
    suma_intervalos = [0] * NUM_SEGMENTOS

    eventos.sort_values(by='Event Start Time', inplace=True)
    for i in range(len(eventos) - 1):
        tiempo_inicio = eventos.iloc[i]['Event End Time']
        tiempo_fin = eventos.iloc[i + 1]['Event Start Time']
        intervalo = tiempo_fin - tiempo_inicio
        segmento_inicio = tiempo_inicio // SEGMENTO_DURACION
```

```

segmento_fin = tiempo_fin // SEGMENTO_DURACION

if segmento_inicio == segmento_fin and segmento_inicio < NUM_SEGMENTOS:
    suma_intervalos[int(segmento_inicio)] += intervalo
else:
    if segmento_inicio < NUM_SEGMENTOS:
        suma_intervalos[int(segmento_inicio)] += (segmento_inicio + 1) *
SEGMENTO_DURACION - tiempo_inicio
        for j in range(int(segmento_inicio) + 1, min(int(segmento_fin),
NUM_SEGMENTOS)):
            suma_intervalos[j] += SEGMENTO_DURACION
    if segmento_fin < NUM_SEGMENTOS:
        suma_intervalos[int(segmento_fin)] += tiempo_fin - segmento_fin *
SEGMENTO_DURACION

return pd.DataFrame({
    'Suma Total de Intervalos': suma_intervalos
}, index=[f'{i*30}-{(i+1)*30} min' for i in range(NUM_SEGMENTOS)])

def contar_eventos_por_segmento(eventos):
    contador_eventos = [0] * NUM_SEGMENTOS
    eventos.sort_values(by='Event Start Time', inplace=True)

    for i in range(len(eventos)):
        segmento_inicio = eventos.iloc[i]['Event Start Time'] // SEGMENTO_DURACION
        if segmento_inicio < NUM_SEGMENTOS:
            contador_eventos[int(segmento_inicio)] += 1

return pd.DataFrame({
    'Cuento de Eventos': contador_eventos
}, index=[f'{i*30}-{(i+1)*30} min' for i in range(NUM_SEGMENTOS)])

#Suma de duracion no considerando eventos que cruzan un segmento
def sumar_duracion_por_segmento(eventos):
    suma_duraciones = [0] * NUM_SEGMENTOS # Lista para la suma de duraciones en
cada segmento

```

```

eventos.sort_values(by='Event Start Time', inplace=True)

for i in range(len(eventos)):
    tiempo_inicio = eventos.iloc[i]['Event Start Time']
    duracion = eventos.iloc[i]['Duration Increase']
    segmento_inicio = tiempo_inicio // SEGMENTO_DURACION

    if segmento_inicio < NUM_SEGMENTOS:
        suma_duraciones[int(segmento_inicio)] += duracion # Sumar duración al
segmento correspondiente

return pd.DataFrame({
    'Suma de Duraciones': suma_duraciones
}, index=[f'{i*30}-{(i+1)*30} min' for i in range(NUM_SEGMENTOS)])

resultados_intervalos = pd.DataFrame(index=[f'{i*30}-{(i+1)*30} min' for i in
range(NUM_SEGMENTOS)])
resultados_eventos = pd.DataFrame(index=[f'{i*30}-{(i+1)*30} min' for i in
range(NUM_SEGMENTOS)])
resultados_duraciones = pd.DataFrame(index=[f'{i*30}-{(i+1)*30} min' for i in
range(NUM_SEGMENTOS)])

for ruta in agua_wt: # cambiar agua_wt por la variable que sea analizar (agua_wt o
agua_app)
    eventos_df = procesar_archivo(ruta)
    suma_intervalos_df = calcular_suma_intervalos(eventos_df)
    eventos_contados_df = contar_eventos_por_segmento(eventos_df)
    duraciones_df = sumar_duracion_por_segmento(eventos_df)
    resultados_intervalos[ruta] = suma_intervalos_df['Suma Total de Intervalos']
    resultados_eventos[ruta] = eventos_contados_df['Conteo de Eventos']
    resultados_duraciones[ruta] = duraciones_df['Suma de Duraciones']

# Imprimir los resultados
print("Suma de Intervalos:")
print(resultados_intervalos.to_string(index=False, header=False))

```

```
print("\nConteo de Eventos:")
print(resultados_eventos.to_string(index=False, header=False))
print("\nSuma de Duraciones por Segmento:")
print(resultados_duraciones.to_string(index=False, header=False))
```

**Anexo C.** Script en Python para procesamiento de los datos del lickometro capacitivo y crear gráficas de patrón de consumo.

Este script fue utilizado para importar, filtrar y graficar los eventos de consumo registrados por el lickometro capacitivo. Se utilizó la librería pandas y NumPy para el manejo de datos y matplotlib para la visualización.

```
import pandas as pd
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt

# Cargar el archivo CSV
file_path = # Ingresar ruta del archivo .csv obtenido del lickometro capacitivo

df = pd.read_csv(file_path)

# Convertir los tiempos de inicio y duraciones de bout a segundos
df['start_time_sec'] = df['millis_since_start'] / 1000
df['bout_duration_sec'] = df['BoutDuration'] / 1000

# Inicializar una lista para guardar los tiempos de lamidas individuales
lick_times = []

# Generar los tiempos de lamidos distribuidos uniformemente en cada bout
for _, row in df.iterrows():
    if row['BoutLickNumber'] > 1:
        licks_in_bout = np.linspace(
            row['start_time_sec'],
            row['start_time_sec'] + row['bout_duration_sec'],
            int(row['BoutLickNumber'])
        )
        lick_times.extend(licks_in_bout)
    else:
        lick_times.append(row['start_time_sec'])

# Crear la figura y el eje para el plot
fig, ax = plt.subplots(figsize=(10, 3))
```

```

# Definir intervalo de zoom (ajustar estos valores según se desee)
zoom_start = 0
zoom_end = 250

# Graficar los licks como líneas delgadas dentro del intervalo
for lick_time in lick_times:
    if zoom_start <= lick_time <= zoom_end:
        ax.plot([lick_time, lick_time], [1.5, 2], color='black', linewidth=0.5)

# Graficar los bouts como barras gruesas dentro del intervalo
for _, row in df.iterrows():
    bout_start = row['start_time_sec']
    bout_end = row['start_time_sec'] + row['bout_duration_sec']
    if bout_end >= zoom_start and bout_start <= zoom_end:
        ax.plot(
            [max(bout_start, zoom_start), min(bout_end, zoom_end)],
            [0.5, 0.5],
            color='black',
            linewidth=4
        )

# Ajustes del gráfico
ax.set_ylim(0, 2.5)
ax.set_xlabel('Time (sec)')
ax.set_yticks([0.5, 1.7])
ax.set_yticklabels(['bouts', 'licks'])
ax.set_xlim(zoom_start, zoom_end)

plt.tight_layout()
plt.show()

```