

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS
AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

Unidad Monterrey

*Señal de detección temprana para la resistencia a la
insulina utilizando un modelo matemático*

Tesis que presenta
Mary Trini García Mendoza

Para obtener el grado de
**Maestra en Ciencias con Especialidad en
Ingeniería y Física Biomédicas**

Director de Tesis:
Moisés Santillán Zerón

Codirector de Tesis:
Roberto Alonso Sáenz Casas

Apodaca N.L.

Enero de 2022

Índice general

Resumen	9
1. Marco Teórico	14
1.1. Datos generales	14
1.2. Estadística	15
1.3. Patofisiología de diabetes tipo 2	15
1.3.1. Translocación de GLUT4	16
1.3.2. Inhibición de liberación de glucosa endógena	17
1.4. Resistencia a la insulina y detección temprana	19
1.5. Medidas clínicas	21
1.6. Uso de modelos matemáticos	22
2. Hipótesis y objetivos	25
3. Metodología	26
3.1. Diseño metodológico	26
3.1.1. Objetivo 1	26
3.1.2. Objetivo 2	27
3.1.3. Objetivo 3	28
3.2. Métodos	28
3.2.1. Reducción del modelo de Ackerman y Colaboradores (1969)	30
3.3. Obtención de datos experimentales	35
3.4. Inferencia Bayesiana	35
3.4.1. El problema inverso y la inferencia Bayesiana	36
3.4.2. La distribución a priori y la verosimilitud	37
3.4.3. Simulaciones utilizando inferencia Bayesiana MCMC y Metropolis – Hastings	38

4. Resultados y discusión	40
4.1. Fisiología de los ratones	40
4.2. Resultados del ajuste del modelo	44
4.3. Estimación de parámetros	46
4.4. Gráficas de dispersión	52
5. Conclusión y perpespectiva	59
Bibliografía	59
A. Prueba de Mann - Whitney para el peso promedio	65
B. Prueba de Mann - Whitney para el promedio de glucosa basal	66
C. Prueba de Mann - Whitney para el promedio de parámetros	68
D. Kmeans	70

Índice de figuras

1.1. Cascada de señalización de la insulina; Paso 1: la insulina se une a su receptor y genera una cascada de señalizaciones. Paso 2: la translocación de la vesícula de almacenamiento de GLUT4 (GSV). Paso 3: Glucosa entra a la célula por el GLUT4.	16
1.2. Cascada de señalización de la insulina para la inhibición de glucógeno fosforilasa; Glc: glucosa	18
1.3. Curvas de tolerancia: Concentración de glucosa en la sangre a través del tiempo después de administrar una prueba OGTT en paciente sano - azul, paciente con diabetes tipo 2 - verde, paciente con intolerancia a la glucosa - rojo; Imagen tomado de: [Kumar & Dip Gill, 2016]	20
4.1. Peso promedio de ratones por grupo cada 15 días; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo. *P < 0,05 Prueba Mann - Whitney U	41
4.2. Glucosa basal promedio por grupo cada 15 días; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo. Las barras de error representan dos veces el error estandar. *P < 0,05 Prueba Mann - Whitney U	43

4.3. Promedio de las mediciones de glucosa durante las pruebas de tolerancia intraperitoneal de los ratones del grupo con dieta alta en grasas (rojo) y control (azul). Las barras de error representan dos veces el error estandar. *P < 0,05 Prueba Mann - Whitney U	44
4.4. Ajuste del modelo a los datos correspondientes al ratón control 3 en los días 15,30,45 y 60	45
4.5. Ajuste del modelo a los datos correspondientes al ratón 2 con dieta alta en grasas en los días 15, 30, 45 y 60	46
4.6. Valores promedios del parámetro ω_0 por grupo cada 15 días; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo. *P < 0,05 Prueba Mann - Whitney U.	47
4.7. Valores promedios del parámetro α por grupo cada 15 días; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo. Las barras verticales, representan dos veces el error estándar. *P < 0,05 Prueba Mann - Whitney U	49
4.8. Valores promedios del parámetro δ por grupo cada 15 días; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo. *P < 0,05 Prueba Mann - Whitney U	49
4.9. Valores promedios del parámetro A por grupo cada 15 días; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo. *P < 0,05 Prueba Mann - Whitney U	50
4.10. Gráfica de dispersión día 15; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo.	55
4.11. Gráfica de dispersión día 30; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo.	56
4.12. Gráfica de dispersión día 45; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo.	57
4.13. Gráfica de dispersión día 60; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo.	58

D.1. Kmeans para el día 15; grupo control - naranja, grupo con dieta alta en grasas - azul	71
D.2. Kmeans para el día 30; grupo control - naranja, grupo con dieta alta en grasas - azul	71
D.3. Kmeans para el día 45; grupo control - naranja, grupo con dieta alta en grasas - azul	72
D.4. Kmeans para el día 60; grupo control - naranja, grupo con dieta alta en grasas - azul	72

Índice de cuadros

1.1. Concentración de glucosa de pacientes diabéticos	14
3.1. Rango de valores a priori de parámetros	37
A.1. Resultados de la prueba de Mann - Whitney U para el peso promedio	65
B.1. Resultados de la prueba de Mann - Whitney U para la glucosa basal	67
C.1. Resultados de la prueba de Mann - Whitney U para ω_0	68
C.2. Resultados de la prueba de Mann - Whitney U para α	69
C.3. Resultados de la prueba de Mann - Whitney U para δ	69
C.4. Resultados de la prueba de Mann - Whitney U para A	69

*For Ma. Trinidad Cortes León,
together always*

Agradecimientos

Agradezco a Dios por la oportunidad que me dio para adquirir estos conocimientos.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante mis estudios de maestría.

Agradezco al CINVESTAV por aceptarme en su programa de maestría y todos los maestros que me han compartido sus conocimientos y apoyado durante esta trayectoria.

Agradezco a mi comité tutorial, la Dra. Roxana Guadalupe Gutiérrez Vidal y el Dr. Jesús Guadalupe Rodríguez González por su conocimientos compartidos y sugerencias.

Agradezco a mi asesor el Dr. Moisés Santillán Zerón por su confianza, paciencia y por guiarme para realizar este proyecto.

Agradezco de manera muy especial a mi co - asesor el Dr. Roberto Alonso Sáenz Casas quien me ha apoyado desde el inicio de mis estudios en la licenciatura, me introdujo al campo de la biología matemática y me inspira a continuar con mi crecimiento académico.

Agradezco a mis familiares, amigos y novio por su apoyo a distancia y consejos invaluable.

Resumen

La prevalencia de diabetes tipo 2 ha aumentado de manera constante en todo el mundo, lo que la convierte en un problema de salud a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud reconoce que la mayoría de los casos y defunciones provienen de países de mediano a bajos ingresos. Sin embargo, ha sido reportado que la probabilidad de desarrollar diabetes tipo 2 puede reducirse en pacientes que están en alto riesgo con cambios de estilo de vida adecuados e intervención médica oportuna. Recibir un tratamiento oportuno puede resultar difícil debido al periodo asintomático previo al inicio de la enfermedad. Por esta razón, en el presente estudio utilizamos el modelo matemático propuesto por Ackerman (1969) y datos recuperados de un experimento con ratones C57BL/6J para determinar si un parámetro puede ser utilizado para identificar resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina se refiere a la respuesta inadecuada de las células hacia la insulina, que puede llevar a niveles elevados de glucosa y diabetes tipo 2.

Se ha reportado que la cepa de ratón C57BL/6J es propensa a desarrollar resistencia a la insulina, hiperglucemia y diabetes tipo 2 inducidas por la dieta. Es por esto que 6 ratones fueron sometidos a una dieta alta en grasas durante 60 días y un grupo de 5 ratones control se mantuvieron con una dieta chow estándar. Ambos grupos fueron sometidos a una prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal cada 15 días a lo largo de la duración del experimento, el cuál fue de 60 días. Con los datos recolectados de las pruebas se generaron curvas de tolerancia. Una versión modificada del modelo matemático propuesto por Ackerman (1969) fue ajustado a las curvas de tolerancia y los valores de los parámetros se obtuvieron utilizando inferencia Bayesiana. La evolución de los valores de los parámetros ajustados a las curvas de tolerancia durante los 60 días de experimentación fue observada.

Se encontró que el parámetro que representa la amplitud de las curvas de tolerancia, A , puede ser útil como una señal de detección temprana a una alteración de la homeostasis de la glucosa, posiblemente debido a la resistencia a la insulina.

Abstract

The prevalence for type 2 diabetes has been steadily rising worldwide, making it a global health concern. The World Health Organization [WHO] has reported that most of the cases and deaths derive from low- to middle – income countries. However, it has also been reported that the probability of developing type 2 diabetes can be lowered in patients who are at high risk with adequate lifestyle changes and opportune medical intervention. Receiving an opportune treatment can be made difficult due to the asymptomatic period prior to the onset of the disease. For this reason, in the present study we used the mathematical model proposed by Ackerman (1969) and data recovered from an experiment with C57BL/6J rats to determine if a parameter can be used to identify insulin resistance. Insulin resistance refers to the impaired response of cells to insulin, which can lead to elevated glucose levels and type 2 diabetes.

The strain of rats C57BL/6J are known to develop diet induced insulin resistance, hyperglycemia, and type 2 diabetes. For this reason, 6 rats were put on a high – fat diet for 60 days and a control group of 5 rats were kept on a standard diet. Both groups were submitted to an interperitoneally glucose tolerance test every 15 days throughout the duration of the experiment, which was 60 days. From the data collected by these tests, glucose tolerance curves were obtained. A modified version of the mathematical model proposed by Ackerman (1969) was fitted to the glucose tolerance curves and the values of the parameters were obtained using Bayesian inference. The evolution of the value of the parameters adjusted to the tolerance curves of both groups during the 60 days of experimentation was observed. It was found that the parameter representing the amplitude of the glucose tolerance curves, A , may be useful as an early warning sign of impaired glucose homeostasis, possibly

due to insulin resistance.

Capítulo 1

Marco Teórico

1.1. Datos generales

La diabetes se define por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una enfermedad metabólica crónica caracterizada por niveles elevados de glucosa en la sangre. Concentraciones de glucosa para pacientes diabéticos, pre – y posprandial se muestran en la tabla 1.1. Niveles elevados de glucosa por tiempos prolongados pueden causar complicaciones a la micro- y macrovasculatura. A lo largo, dichas complicaciones pueden causar retinopatía, nefropatía y neuropatía. Pacientes con diabetes tipo 2 son propensos a morir de manera prematura principalmente debido a complicaciones macrovasculares. Existen tres tipos principales de diabetes: tipo 1, tipo 2 y gestacional. La diabetes tipo 2 (DT2) es la más común ya que es causante del 75 – 95 % de los casos totales de diabetes [Campbell, 2001, Stumvall et al., 2005].

Cuadro 1.1: Concentración de glucosa de pacientes diabéticos

Glucosa en ayunas	≥ 126 mg/dL
Glucosa postprandial (2 horas después de ingerir un alimento)	≥ 200 mg/dL

1.2. Estadística

En el 2006 el 7% de la población mexicana padecía de algún tipo de diabetes. En el 2016 esto aumentó a 10.4%, mismo año en que la diabetes fue declarada una emergencia epidemiológica en todo el país [Secretaria de Salud, 2016, Levailante et al., 2019]. Al aumentar la cantidad de pacientes con esta enfermedad también aumentan los gastos para atender a dicha cantidad de pacientes. De acuerdo con lo reportado por la Fundación Mexicana para la Salud, en el 2012 se generó una carga económica de 362,859.82 millones de pesos para atender a los 6.4 millones de pacientes diabéticos de dicho año. Esta carga económica incluye costos directos e indirectos. Los directos corresponden a los gastos de las instituciones médicas para atender a los pacientes y los gastos indirectos hacen referencia a la pérdida de ingresos por parte de una compañía o empresa debido a una muerte prematura o incapacidad de algún empleado [Barraza – Lloréns et al., 2015]. Se espera que en los próximos años siga aumentando la prevalencia de la diabetes y con ella la carga económica del país. En particular, se espera tener un aumento de casos de DT2, entre la población joven [Abdul – Ghani et al., 2007]. Para ralentizar dicho proceso es importante tener un entendimiento adecuado sobre la patofisiología y el desarrollo de la DT2.

1.3. Patofisiología de diabetes tipo 2

La diabetes tipo 2 se caracteriza por una falla secretora de insulina y por la resistencia que desarrollan las células hacia ella. La insulina es una hormona peptídica secretada por las células beta del páncreas y es liberada en mayores concentraciones durante un estado posprandial. Dentro de sus funciones se incluyen la supresión de la liberación de glucosa endógena y promover la captación de glucosa estimulando la translocación de la proteína transportadora de glucosa, GLUT4, lo cual permite el paso de la glucosa desde el torrente sanguíneo al interior de la célula [Iwasa & Marshall, 2016, Swiderska et al., 2018].

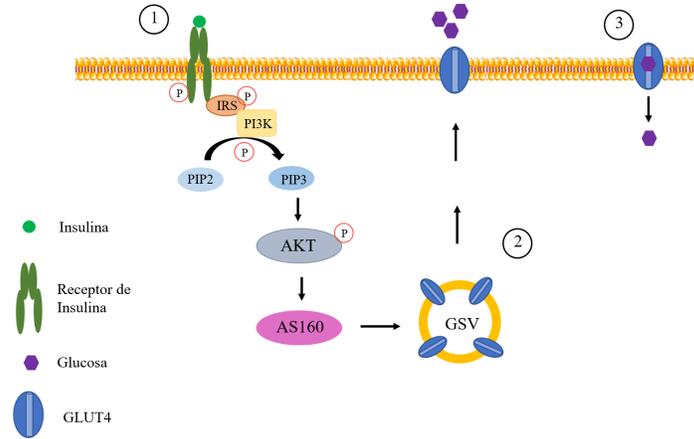


Figura 1.1: Cascada de señalización de la insulina; Paso 1: la insulina se une a su receptor y genera una cascada de señalizaciones. Paso 2: la translocación de la vesícula de almacenamiento de GLUT4 (GSV). Paso 3: Glucosa entra a la célula por el GLUT4.

1.3.1. Translocación de GLUT4

Los transportadores de glucosa GLUT4 se encuentran principalmente en las células del tejido adiposo y muscular, esta última es responsable de la internalización del 80 - 90% de glucosa [DeFronzo & Tripathy, 2009, Leto & Saltiel, 2012]. El proceso en el que la insulina activa la translocación del GLUT4 se puede observar en la figura 1.1.

En el paso 1 observamos al receptor de insulina, el cual se encuentra en la superficie de las células del tejido muscular y adiposo, y es conformado por dos subunidades alfa extracelulares y dos subunidades beta intracelulares. Al unirse al receptor, la insulina provoca un cambio conformacional de las subunidades beta del receptor, que llevan a la autofosforilación de estas. Esto lleva a la unión y fosforilación de la proteína sustrato del receptor de insulina (IRS), posteriormente la fosfoinositol 3 - quinasa (PI3K) se une a la IRS y es activada. La activación de los PI3K estimula la fosforilación de fosfatidilinositol 4, 5 - bisfosfato (PIP2) a fosfatidilinositol (3,4,5) - trisfosfato (PIP3). El aumento de concentración de PIP3 activa a las proteínas piruvato deshi-

drogenasa quinasa 1 (PDK1) que en cambio fosforilan a las proteínas quinasa B (AKT/PKB). AKT cataliza la fosforilación del sustrato AKT de 160 kDa (AS160), estimulando así la translocación de la vesícula de almacenamiento de GLUT4 (GSV) hacia la membrana celular, lo cual vemos en el paso 2. En el paso 3 el GLUT4 es insertado en la membrana celular y permite el paso de la glucosa dentro de la célula [Thong et al., 2007, Swiderska et al., 2018].

1.3.2. Inhibición de liberación de glucosa endógena

El hígado es un órgano clave para mantener la homeostasis de glucosa, ya sea en ayunos o posterior a ingerir algún alimento. Durante un estado posprandial el rápido aumento de glucosa en la sangre promueve la activación del proceso de glucogenogénesis en los hepatocitos. En dicho proceso la glucosa es almacenado en el hígado como glucógeno. Esto favorece la disminución de glucosa en el torrente sanguíneo. En ayunas cuando la concentración de glucosa disminuye el glucógeno almacenado es liberado, proceso conocido como glucogenólisis. Esto aumenta los niveles de glucosa en el torrente sanguíneo. La glucogenólisis es especialmente importante para mantener niveles saludables de glucosa durante la noche, cuando el cuerpo no recibe alimento [Zhou et al., 2004, Han et al., 2016].

Durante las primeras horas del ayuno predomina el proceso de glucogenólisis, que es la degradación de glucógeno a glucosa. El 85 % de la glucosa endógena liberada durante las primeras horas del ayuno se debe a la glucogenólisis. Cuando se agotan las reservas de glucógeno, domina el proceso de gluconeogénesis, que es la producción de glucosa a partir de glicerol, lactato y aminoácidos [Kelsall et al., 2007, Rodríguez – Trejo, 2012]. Se ha reportado en pacientes sanos que después de un ayuno de aproximadamente 42 horas, el 77 – 94 % de glucosa liberado es por el proceso de gluconeogénesis [Andany et al., 2016].

En la glucogenólisis, la enzima glucógeno fosforilasa, en su forma activa, libera glucosa – 1 – fosfato de la molécula de glucógeno almacenado en el hígado. Se convierte a glucosa – 6 – fosfato por medio de la enzima fosfogulcomutasa. La glucosa - 6 - fosfato es convertida a glucosa por la enzima glucosa 6 - fosfatasa, posterior a esto ingresa al torrente sanguíneo por medio del GLUT2 [Nordlie et al., 1999, Nelson & Cox, 2006].

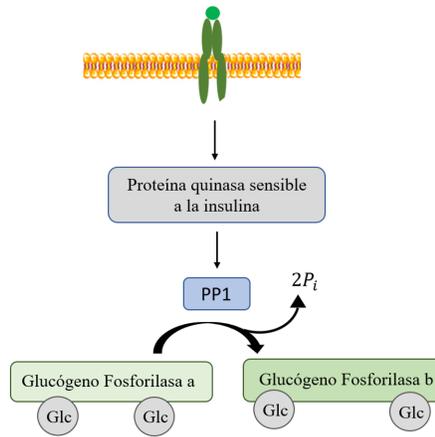


Figura 1.2: Cascada de señalización de la insulina para la inhibición de glucógeno fosforilasa; Glc: glucosa

Es por esto que la glucógeno fosforilasa es el paso limitante de la glucogenólisis y durante un estado postprandial, cuando hay altos niveles de glucosa, es inhibido por la insulina [Andany et al., 2016, Nelson & Cox, 2006, Brás et al., 2018]. Dicho proceso de inhibición se describe en la figura 1.2, en donde se muestra que la unión de insulina a su receptor inicia una cascada de señalizaciones que lleva a la activación de proteínas quinasa sensibles a la insulina, los cuales activan y producen un aumento en la actividad de la proteína fosfatasa 1 (PP1). La activación de PP1 desfosforila la glucógeno fosforilasa a, esto en conjunto con la unión de dos moléculas de glucosa en los sitios alostéricos de ésta, lo convierten en su forma menos activa, glucógeno fosforilasa b. Una vez en su estado inactivo la degradación de glucógeno en el hígado queda detenida y por lo tanto la liberación de glucosa endógena. La activación de la proteína fosfatasa es uno de los efectos inmediatos de la unión de la insulina a su receptor en el hepatocito [Nelson & Cox, 2006].

1.4. Resistencia a la insulina y detección temprana

En la DT2 existe una resistencia en las células que contiene receptores de insulina. Esto provoca defectos en la cascada de señalización de la insulina y como consecuencia el GLUT4 no es insertado en la membrana celular y no hay remoción de glucosa del torrente sanguíneo o inhibición de la liberación de glucosa endógena, resultando en intolerancia a la glucosa. Para compensar la resistencia a la insulina las células beta del páncreas empiezan a secretar una mayor concentración de la hormona. Mientras dicha cantidad sea suficiente para superar la resistencia, se logra mantener la homeostasis de glucosa en el torrente sanguíneo. Sin embargo, a lo largo del tiempo las células beta ya no son capaces de producir la cantidad excesiva de insulina necesaria provocando un aumento en la concentración de glucosa en la sangre [Goldstein, 2002, DeFronzo & Tripathy, 2009].

Se puede observar el grado de intolerancia a la glucosa y, por lo tanto, los efectos de la resistencia a la insulina de manera indirecta mediante las curvas de tolerancia a la glucosa. Estas curvas se generan utilizando los datos obtenidos de una prueba oral de tolerancia a la glucosa (OGTT; por sus siglas en inglés). Para realizar esta prueba, el paciente debe hacer un ayuno de mínimo 8 horas, posteriormente se le tomará una muestra de sangre para determinar su nivel de glucosa en ayunas. Después de que se le toma la primera lectura de sangre debe ingerir una bebida de 200 mg de agua con 75 gramos de azúcar y se le tomarán muestras de sangre cada media hora durante 2 o 3 horas para determinar los niveles de glucosa durante este tiempo [Mayo Clinic, 2021]. Esta prueba permite observar la capacidad del cuerpo de reestablecer sus niveles saludables de glucosa y con los datos obtenidos se generan las curvas de tolerancia como podemos ver en la figura 1.3. La línea azul representa los niveles de glucosa de una persona normoglucémico, la línea roja representa una persona con intolerancia a la glucosa y la línea verde representa una persona con diabetes. Notamos que los valores de los pacientes con intolerancia a la glucosa en cualquier punto son mayores a los niveles normales pero menor a los niveles de un paciente con diabetes. Además, la curva de tolerancia del paciente con resistencia a la insulina tiene mayor amplitud que la curva del paciente sano.

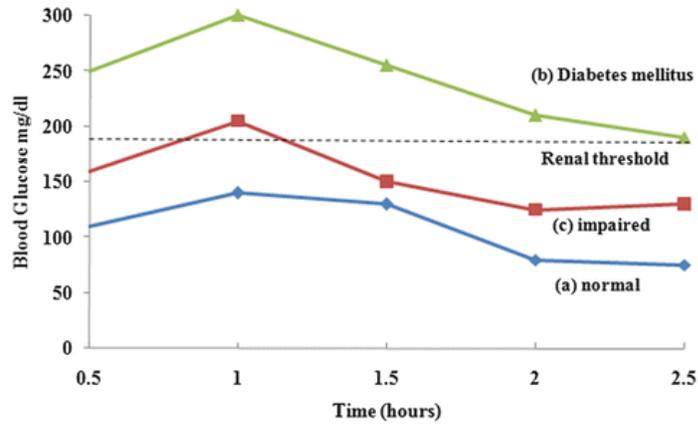


Figura 1.3: Curvas de tolerancia: Concentración de glucosa en la sangre a través del tiempo después de administrar una prueba OGTT en paciente sano - azul, paciente con diabetes tipo 2 - verde, paciente con intolerancia a la glucosa - rojo; Imagen tomado de: [Kumar & Dip Gill, 2016]

La resistencia a la insulina puede deberse a distintas alteraciones moleculares. Las más común de estas es la disminución en cantidad de receptores y su actividad catalítica, una actividad cinasa reducida en PI3K y AKT, defectos en la expresión de GLUT-4 y su función [Gutiérrez – Rodelo et al., 2017]. Se ha reportado que llevar una vida sedentaria, padecer de obesidad y tener un familiar directo con DT2 son factores de riesgo para desarrollar resistencia a la insulina. Estudios recientes han mostrado que con un cambio de estilo de vida saludable e intervención farmacológica se puede reducir la incidencia de diabetes en pacientes en etapas tempranas de intolerancia a la glucosa. Sin embargo, la intolerancia a la glucosa puede pasar desapercibida por hasta 10 años debido a una fase asintomática, lo que dificulta recibir un tratamiento oportuno [Abdul – Ghani et al., 2007]. Al ser detectado de manera tardío, la DT2 logra causar daños a los tejidos macrovasculares. Lo anterior y la creciente prevalencia de la DT2 en los últimos años han dejado claro la necesidad de una detección temprana de la enfermedad para recibir un tratamiento oportuno y reducir la incidencia de la enfermedad, evitando así además una carga económica para el país.

1.5. Medidas clínicas

La OMS tiene establecido a la prueba oral de tolerancia a la glucosa (OGTT) como el estándar para diagnosticar resistencia a la insulina en pacientes asintomáticos. Sin embargo, la American Diabetes Association (ADA) desaconseja el uso de dicha prueba ya que no es utilizada con frecuencia debido a la dificultad y el tiempo requerido para su realización. La ADA recomienda el uso de la prueba en ayunas como una forma de detección temprana, resaltando que esta prueba se puede realizar con mayor facilidad y los resultados son más reproducibles con menos variabilidad intraindividual. Sin embargo, la OMS mantiene su recomendación del uso del OGTT e instruye la prueba en ayunas solamente cuando no sea posible el uso del OGTT [Harris, 2000].

Se ha recomendado también el uso de la recolección de datos sobre los estilos de vida de los pacientes de forma rutinaria en la práctica general para identificar pacientes en alto riesgo de padecer DT2 e intolerancia a la glucosa [Griffin et al., 2000]. Se menciona que, aunque estas estrategias pueden ser muy útiles en identificar a pacientes en alto riesgo existe la posibilidad de que pacientes identificados como “en alto riesgo” pueden no estar tan dispuestos a cambiar sus estilos de vida. Esto debido a que en estudios clínicos posiblemente aún no se reflejen niveles de glucosa fuera de los rangos normales. Por ejemplo, es conocido que al tener un padre con diabetes se aumenta el riesgo de tener la enfermedad en los hijos a un 38 % al llegar a la edad de 80 años, si ambos padres parecen de diabetes tipo dos, el riesgo a los 60 años de tener la enfermedad es de 60 % [Stumvall et al., 2005]. A pesar de estas cifras se encontró que el 66 % de los hijos de padres diabéticos entrevistados se consideraban tener una probabilidad de padecer la enfermedad muy baja o inexistente, por lo que no consideraban necesario tomar medidas preventivas [Pierce et al., 2001]. Esto demuestra una falta de información en la población del riesgo de padecer diabetes a causa de sus estilos de vida e historia familiar.

1.6. Uso de modelos matemáticos

Los modelos matemáticos son una herramienta útil para detectar de manera temprana la resistencia a la insulina. Los modelos matemáticos se utilizan con frecuencia junto con datos obtenidos de las OGTTs para estudiar la dinámica de la glucosa durante dicha prueba y así identificar alguna anomalía en el desarrollo de DT2. Para lograr esto el modelo debe ser capaz de representar los fenómenos fisiológicos de mayor importancia. Para cumplir con lo anterior no es estrictamente necesario el uso de un modelo muy complejo. El modelo de Richard Bergman es un ejemplo de esto.

En 1979, Richard Bergman propuso un modelo mínimo, el cual consiste de dos ecuaciones diferenciales, una representando la cinética de la insulina en la sangre y la otra representando los efectos de la insulina para la restauración de un nivel adecuado de glucosa [Bergman, 2021]. Debido a su simplicidad, el modelo de Bergman ha sido utilizado como base para la elaboración de modelos más complejos. Por ejemplo, el modelo presentado por [Eberle et al., 2013], basado en el de Bergman, con el cual los autores logran identificar 4 etapas de resistencia a la insulina que muestran tener importancia clínica para estudiar la progresión de la tolerancia a la glucosa.

Modelos con un mayor número de ecuaciones tienen la ventaja de representar más procesos fisiológicos y así tener mayor precisión predictiva del desarrollo de DT2. El modelo presentado por [Gaetano & Porksen, 2008] logra representar la evolución de la glucemia, insulinemia y la tasa de replicación de las células beta a lo largo de un periodo de 10 años, tiempo en el que se tarda en obtener un diagnóstico de DT2. Sin embargo, los autores mencionan que obtener valores de los parámetros para representar estos fenómenos biológicos mediante la literatura es difícil, particularmente para la tasa de replicación de células durante el desarrollo de la diabetes. Encontrar los valores adecuados para que los parámetros de los modelos representen adecuadamente los fenómenos fisiológicos presentados durante el desarrollo de la resistencia a la insulina y por lo tanto a la DT2 es un reto para muchos autores, particularmente de aquellos que utilizan modelos complejos.

Para encontrar valores adecuados para el estudio del desarrollo de la diabetes, varios autores ajustan sus modelos mediante algoritmos a datos obtenidos de la OGTT [Eberle et al., 2013, Kuschinski et al., 2019]. Un método

de estimación de parámetros es la estimación de mínimos cuadrados, el cual asigna un solo valor para cada parámetro, es decir, estimaciones puntuales. Es mencionado por [Kuschinski et al., 2019] que dichos valores asignados no siempre conducen a una situación fisiológicamente posible. Una manera de solucionar esto es mediante el uso de la inferencia Bayesiana, el cual asigna una distribución de probabilidad a los valores que pueden tener cada parámetro. Los mismos autores mencionan que algunos de los valores asignados a los parámetros por la inferencia Bayesiana tampoco conducen a situaciones fisiológicamente posibles, por lo que sugieren establecer una distribución a priori adecuada.

Datos de OGTT y el método de estimación de parámetros de inferencia Bayesiana también han sido utilizados juntos con el modelo propuesto por Ackerman, Gatewood, Rosevear y Molnar (1969) para determinar si un individuo presenta o no diabetes utilizando como criterio el valor de un parámetro [Cruz Rosado, 2009, Vargas Bernal, 2017]

Es importante resaltar que el modelo de Ackerman y colaboradores es un modelo simple, cuya funcionalidad es describir la dinámica entre la insulina y glucosa durante una OGTT. A pesar de lo anterior, se ha reportado que el parámetro $T = \frac{2\pi}{\omega_0}$, el cual representa el periodo de las curvas, es útil para distinguir una dinámica anormal de glucosa en la sangre. Dicho parámetro fue utilizado para identificar pacientes diabéticos dentro de un grupo de 15 voluntarios de Puerto Rico. El modelo fue ajustado a la OGTT de cada voluntario, posteriormente se utilizó el valor obtenido de T para caracterizar los voluntarios como diabéticos o no diabéticos. Con esto, de los 15 voluntarios, 8 fueron correctamente clasificados de los cuales 7 eran diabéticos, 1 fue normoglucémico. Sin embargo, T no ha sido el único parámetro utilizado del modelo de Ackerman. Los valores obtenidos de los parámetros A y α posterior al ajuste del modelo fueron utilizados para identificar pacientes diabéticos de un grupo de 80 mujeres mexicanas. El modelo fue ajustado a las OGTT de cada voluntaria y los valores recuperados del ajuste de A y α fueron utilizados para clasificar cada paciente. De esto, 45 de 51 normoglucémico y 23 de 29 diabéticos fueron correctamente clasificados [Vargas Bernal, 2017].

Como se puede observar, el uso de modelos matemáticos permite examinar de manera predictiva el desarrollo de la DT2. Sin embargo, varios autores enfatizan la dificultad de encontrar valores adecuados para los parámetros

desconocidos de sus modelos. El uso de la inferencia Bayesiana con pruebas OGTT es una solución para esto, no obstante, muchos estudios solamente utilizan datos de una sola prueba de OGTT. En el presente estudio se busca utilizar datos de OGTT a lo largo de 60 días junto con el modelo de Ackerman (1969) para determinar si algún parámetro puede ser utilizado como una señal de alerta a una detección temprana al desarrollo de la resistencia a la insulina.

Capítulo 2

Hipótesis y objetivos

Hipótesis

Es posible identificar una señal de detección temprana para la resistencia a la insulina a partir de las curvas de tolerancia a la glucosa.

Objetivo General

Estudiar el desarrollo de la resistencia a la insulina en un modelo murino de obesidad mediante curvas de tolerancia a la glucosa, modelado matemático e inferencia Bayesiana.

Objetivos Particulares

- Adecuar un modelo matemático preexistente para la homeostasis de glucosa de manera que pueda simular curvas de tolerancia a la glucosa en un modelo murino.
- Estudiar la evolución de las curvas de tolerancia a la glucosa en un modelo murino de obesidad.
- Identificar una señal de detección temprana para el desarrollo de la resistencia a la insulina inducida por una dieta alta en grasas a partir de las curvas de tolerancia a la glucosa.

Capítulo 3

Metodología

3.1. Diseño metodológico

3.1.1. Objetivo 1

Para cumplir con el primer objetivo se utilizó el modelo propuesto por Ackerman, Gatewood, Rosevear y Molnar (1969). Dicho modelo incluye los procesos más significativos entre la dinámica de la insulina y la glucosa. El modelo describe la relación entre la insulina y glucosa durante una prueba oral de tolerancia a la glucosa. El modelo se basa en dos principios fundamentales, las cuales son: todas las personas tienen un nivel óptimo de glucosa y que los niveles de glucosa forman parte de un proceso autorregulador en que también interfieren distintas hormonas [Gatewood et al., 1970, Vargas Bernal, 2017].

$$\dot{G} = F_1(G, H) + J(t) \quad (3.1)$$

$$\dot{H} = F_2(G, H) \quad (3.2)$$

El modelo consiste en un sistema de dos ecuaciones diferenciales de primer orden. La primera ecuación describe la tasa de cambio de glucosa en el torrente sanguíneo, y consiste en dos términos: $F_1(G, H)$ y $J(t)$. El primer término describe el flujo neto de la glucosa, esto incluye la liberación de glu-

cosa endógena y la utilización o remoción de glucosa del torrente sanguíneo. El segundo término, $J(t)$, describe la entrada exógena de glucosa al torrente sanguíneo. La segunda ecuación describe la tasa de cambio de insulina en el torrente sanguíneo y consiste en un sólo término que describe el flujo neto de la insulina, lo cual incluye la liberación y remoción. Los valores G_0 y H_0 representan los valores estacionarios de glucosa e insulina, que satisfacen las ecuaciones 3.3 y 3.4, es decir, cuando el paciente llega en ayunas y no hay entrada exógena de glucosa. También representa los puntos donde las tasas de liberación de glucosa endógena al torrente sanguíneo y la de secreción de insulina son iguales a sus tasas de remoción.

$$F_1(G_0, H_0) = 0 \quad (3.3)$$

$$F_2(G_0, H_0) = 0 \quad (3.4)$$

Este modelo será adecuado para representar las curvas de tolerancia de acuerdo con los pasos descritos en la sección 3.2.

3.1.2. Objetivo 2

Para cumplir con el objetivo 2 se ajustaron las curvas generadas por el modelo a datos murinos proporcionados por la Dra. Roxana Guadalupe Gutiérrez Vidal, investigadora titular del Cinvestav Monterrey. Los ratones utilizados para el experimento se dividieron en un grupo control con una dieta estándar y un grupo con dieta alta en grasas, esto para observar los efectos producidos por las distintas dietas en los niveles de glucosa de cada grupo. El ajuste de las curvas a los datos murinos se llevó a cabo por el método de inferencia Bayesiana en donde los valores de los parámetros son variados de tal forma que las curvas que se generan del modelo simulen las obtenidas de las curvas de tolerancia de los ratones. Se implementó la inferencia Bayesiana utilizando cadenas de Markov y Monte Carlo, la distribución a la que converge cada distribución se consideró como la distribución posterior. Este ajuste se realizó para los datos obtenidos de los ratones a lo largo de la duración del experimento, lo cual nos permitió observar los cambios producidos a través del tiempo. La obtención de datos experimentales y el método de inferencia Bayesiana se describen en las secciones 3.3 y 3.4 respectivamente.

3.1.3. Objetivo 3

Para la identificación de una señal de detección temprana para el desarrollo de la resistencia a la insulina se evaluaron los promedios de los valores de los parámetros generados por la inferencia Bayesiana por cada tiempo en el que fueron evaluados los ratones. Estos promedios se graficaron para ambos grupos de ratones: control y dieta alta en grasas. Las gráficas permitieron observar anomalías y patrones entre los valores de los parámetros estimados para ambos grupos. Además, esto nos permitió determinar en qué día se diferenciaban de manera estadísticamente significativa los valores de los parámetros del grupo con dieta alta en grasas con los del grupo control.

3.2. Métodos

Adecuamos el modelo propuesto por Ackerman y colaboradores (1969) primero al introducir las transformaciones g y h , como vemos en las ecuaciones 3.5 y 3.6. Esto representará la diferencia entre los niveles de glucosa e insulina de su estado estacionario a un tiempo t y serán las variables de interés con las que estaremos trabajando.

$$g = G - G_0 \quad (3.5)$$

$$h = H - H_0 \quad (3.6)$$

De acuerdo con el procedimiento dado por [Vargas Bernal, 2017] realizamos un cambio de variable utilizando g y h en el modelo para obtener

$$\dot{g} = F_1(G_0 + g, H_0 + h) + J \quad (3.7)$$

$$\dot{h} = F_2(G_0 + g, H_0 + h) \quad (3.8)$$

Notamos que para obtener las ecuaciones 3.7 y 3.8 también es necesario despejar G y H de 3.5 y 3.6 y sustituir. Para obtener una aproximación del modelo original es necesario linearizar F_1 y F_2 mediante una serie de Taylor alrededor del punto de equilibrio y tomando los primeros dos términos.

$$F_1(G_0 + g, H_0 + h) = F_1(G_0, H_0) + \frac{\partial F_1(G_0, H_0)}{\partial G}g + \frac{\partial F_1(G_0, H_0)}{\partial H}h + e_1 \quad (3.9)$$

$$F_2(G_0 + g, H_0 + h) = F_2(G_0, H_0) + \frac{\partial F_2(G_0, H_0)}{\partial G}g + \frac{\partial F_2(G_0, H_0)}{\partial H}h + e_2 \quad (3.10)$$

Suponiendo que los valores de g y h son muy pequeños obtenemos las siguientes funciones.

$$\dot{g} = \frac{\partial F_1(G_0, H_0)}{\partial G}g + \frac{\partial F_1(G_0, H_0)}{\partial H}h + J \quad (3.11)$$

$$\dot{h} = \frac{\partial F_2(G_0, H_0)}{\partial G}g + \frac{\partial F_2(G_0, H_0)}{\partial H}h \quad (3.12)$$

Se pueden determinar los signos de cada derivada parcial pensando en cómo se comportaría cada término después de recibir un bolo de glucosa, como es el caso de la OGTT, de la siguiente manera. Recordando que los términos $F_1(G, H)$ y $F_2(G, H)$ representan los flujos netos de glucosa e insulina, respectivamente.

- $\frac{\partial F_1(G_0, H_0)}{\partial G}$: Suponiendo que $h = 0$ y $g > 0$, para disminuir el exceso de glucosa en la sangre se activan los procesos de remoción. Como resultado, las concentraciones de glucosa disminuyen en el torrente sanguíneo, razón por la que esta derivada parcial tendrá un signo negativo.
- $\frac{\partial F_1(G_0, H_0)}{\partial H}$: Ahora, considerando el caso en donde $h > 0$. La secreción de insulina aumenta el flujo de remoción de glucosa del torrente sanguíneo, es por esto que esta derivada parcial tendrá un signo negativo.
- $\frac{\partial F_2(G_0, H_0)}{\partial G}$: Para el primer término de la segunda ecuación consideramos que $g > 0$. Un aumento en la concentración de glucosa provoca la secreción de insulina. Por lo tanto, aumenta la concentración de insulina en el torrente sanguíneo, por lo que esta derivada parcial será positiva.
- $\frac{\partial F_2(G_0, H_0)}{\partial H}$: Como respuesta al aumento en la concentración de insulina los procesos de remoción de ésta se activan para regresar a su estado

estacionario. Dicha remoción es llevado a cabo por la enzima degradadora de insulina (IDE). La IDE disminuye la concentración de insulina en el torrente sanguíneo, razón por la que esta derivada parcial será negativa.

Una vez establecido los signos de las derivadas parciales, simplificamos las ecuaciones sustituyendo en las derivadas parciales m_1, m_2, m_3 y m_4 como se muestran en 3.13 y 3.14.

$$\dot{g} = -m_1g - m_2h + J \quad (3.13)$$

$$\dot{h} = -m_3h + m_4g \quad (3.14)$$

Con las siguientes definiciones: m_1 - tasa de remoción de glucosa independiente a la insulina, m_2 - tasa de remoción de glucosa debido a cambios en la concentración insulina, m_3 - tasa de remoción de insulina independiente a la glucosa, m_4 - secreción de insulina debido a cambios en la concentración de glucosa.

3.2.1. Reducción del modelo de Ackerman y Colaboradores (1969)

En este estudio los valores de interés fueron aquellos de la concentración de glucosa, por lo que conviene reducir el modelo solamente en términos de g . Para cumplir con esto, primero se debe tomar la derivada con respecto al tiempo de la ecuación 3.13, por lo que obtenemos una ecuación de segundo orden. Sustituimos ahora la ecuación 3.14 en 3.15 para la variable h .

$$\ddot{g} = -m_1\dot{g} - m_2\dot{h} + \dot{J} \quad (3.15)$$

De esta sustitución se tiene la ecuación diferencial de segundo orden

$$\ddot{g} = -m_1\dot{g} + m_3m_2h - m_2m_4g + \dot{J} \quad (3.16)$$

Para eliminar la h restante en 3.16 despejamos el término m_2h de 3.13 y sustituimos en 3.16, posteriormente se agrupan los términos semejantes y obtenemos la ecuación 3.17 de segundo orden

Pasando los términos de \dot{g} y g para el otro lado del signo de igualdad se obtiene

$$\ddot{g} + (m_1 + m_3)\dot{g} + (m_1m_3 + m_2m_4)g = m_3J + J \quad (3.17)$$

Para simplificar, recordemos que J representa la entrada de glucosa al torrente sanguíneo, por lo tanto, este será cero en todo momento excepto cuando haya entrada exógena de glucosa. Suponemos entonces que $t = 0$ es el tiempo en que se ingiere por completo la solución de glucosa, por lo tanto, para $t > 0$ se cumple la siguiente ecuación diferencial homogénea de segundo orden.

$$\ddot{g} + 2\alpha\dot{g} + \omega_0^2g = 0 \quad (3.18)$$

En donde: $\alpha = \frac{m_1+m_3}{2}$ y $\omega_0^2 = m_1m_3 + m_2m_4$

Debido a que 3.18 es una ecuación diferencial homogénea se puede resolver utilizando la ecuación característica

$$ar^2 + br + c = 0 \quad (3.19)$$

En donde: $a = 1$, $b = 2\alpha$ y $c = \omega_0^2$, por lo tanto, se obtiene

$$r^2 + 2\alpha r + \omega_0^2 = 0 \quad (3.20)$$

Resolviendo la ecuación característica obtenemos lo siguiente.

$$r = -\alpha \pm \sqrt{\alpha^2 - \omega_0^2} \quad (3.21)$$

Notamos que la solución final depende del signo del discriminante el cual

puede ser menor, mayor o igual a cero. Dependiendo de cada uno de los casos la solución puede ser lo siguiente.

$$\text{caso 1: } \alpha^2 - \omega_0^2 < 0$$

En el caso 1 el discriminante es negativo. Definimos $\omega^2 = -(\alpha^2 - \omega_0^2)$ y se sustituye para obtener.

$$-\alpha \pm \sqrt{-\omega^2} \quad (3.22)$$

$$r_1, r_2 = -\alpha \pm \omega i \quad (3.23)$$

Notamos que las raíces son complejas, para una ecuación diferencial homogénea de segundo orden con raíces complejas, la solución general es de la siguiente forma.

$$g(t) = e^{-\alpha t}(a \cos \omega t + b \sin \omega t) \quad (3.24)$$

En donde a y b son constantes que representan las condiciones iniciales. Sin embargo, podemos simplificar $g(t)$ tomando en cuenta que

$$\left(\frac{a}{\sqrt{a^2 + b^2}}\right)^2 + \left(\frac{b}{\sqrt{a^2 + b^2}}\right)^2 = 1 \quad (3.25)$$

Lo cual significa que existe un ángulo δ tal que,

$$\cos \delta = \frac{a}{\sqrt{a^2 + b^2}}, \quad \sin \delta = \frac{b}{\sqrt{a^2 + b^2}} \quad (3.26)$$

Multiplicamos y dividimos por $\sqrt{a^2 + b^2}$ para simplificar $g(t)$ y obtener.

$$g(t) = \sqrt{a^2 + b^2} e^{-\alpha t} \left(\frac{a}{\sqrt{a^2 + b^2}} \cos \omega t + \frac{b}{\sqrt{a^2 + b^2}} \sin \omega t \right) \quad (3.27)$$

Por lo tanto,

$$g(t) = \sqrt{a^2 + b^2} e^{-\alpha t} (\cos \delta \cos \omega t + \sin \delta \sin \omega t) \quad (3.28)$$

Simplificamos utilizando la identidad trigonométrica de coseno de diferencia entre ángulos y definimos $A = \sqrt{a^2 + b^2}$

$$g(t) = A e^{-\alpha t} \cos(\omega t - \delta) \quad (3.29)$$

Con 3.29 es ahora visualmente más fácil, debido a su semejanza a una ecuación de oscilaciones amortiguadas, observar que los parámetros A y δ , representan la amplitud y el ángulo de fase de la curva. Notamos que ambos parámetros surgen de las condiciones iniciales [Vargas Bernal, 2017].

caso 2: $\alpha^2 - \omega_0^2 > 0$

Para el caso 2, tenemos un discriminante positivo con raíces distintas

$$-\alpha \pm \sqrt{\omega^2} \quad (3.30)$$

Lo que es equivalente a

$$r_1, r_2 = -\alpha \pm \omega \quad (3.31)$$

Por lo cual, la solución general tiene la forma

$$g(t) = a e^{-(\alpha-\omega)t} + b e^{-(\alpha+\omega)t} \quad (3.32)$$

$$g(t) = e^{-\alpha t} (a e^{\omega t} + b e^{-\omega t}) \quad (3.33)$$

Simplificamos de la misma manera que el caso anterior, multiplicando y dividiendo por $\sqrt{a^2 + b^2}$

$$g(t) = \sqrt{a^2 + b^2} e^{-\alpha t} \left(\frac{a}{\sqrt{a^2 + b^2}} e^{\omega t} + \frac{b}{\sqrt{a^2 + b^2}} e^{-\omega t} \right) \quad (3.34)$$

e introduciendo A y δ como antes

$$g(t) = A e^{-\alpha t} (e^{\omega t} \cos \delta + e^{-\omega t} \sin \delta) \quad (3.35)$$

Caso 3: $\alpha^2 - \omega_0^2 = 0$

En el caso que el discriminante es igual a cero, obtenemos raíces repetidas del polinomio característico.

$$-\alpha \pm \sqrt{0} \quad (3.36)$$

$$r_1, r_2 = -\alpha \quad (3.37)$$

De acuerdo con la fórmula general para dos raíces iguales, la solución es de la siguiente forma

$$g(t) = e^{-\alpha t} (a + bt) \quad (3.38)$$

simplificando nuevamente de la misma manera, obtenemos

$$g = \sqrt{a^2 + b^2} e^{-\alpha t} \left(\frac{a}{\sqrt{a^2 + b^2}} + \frac{b}{\sqrt{a^2 + b^2}} t \right) \quad (3.39)$$

y entonces

$$g(t) = A e^{-\alpha t} (\cos \delta + t \sin \delta) \quad (3.40)$$

Tenemos ahora las tres posibles soluciones del modelo de Ackerman, et al. las cuales tienen parámetros con valores desconocidos: A , α , δ y ω_0^2 .

3.3. Obtención de datos experimentales

Los datos de glucosa se obtuvieron mediante un experimento previamente realizado por la Dra. Roxana Guadalupe Gutiérrez Vidal, investigadora titular del Cinvestav Unidad Monterrey. Para dicho experimento se utilizaron 11 ratones de la cepa C56BL/6J machos de 8 semanas de edad, alimentados con dieta chow estandar (standard chow diet [SCD])(25 % proteína, 17 % lípidos y 58 % carbohidratos). El grupo control se conformó por 5 ratones que continuaron con la dieta chow. Los 6 ratones restantes fueron alimentados con una dieta alta en grasas (17 % proteína, 58 % lípidos y 25 % carbohidratos). Los ratones se mantuvieron con sus respectivas dietas durante 60 días, y cada 15 días se les aplicó pruebas de tolerancia a la glucosa intraperitoneal con un ayuno de 6 horas y se registró su peso.

Previo a la inyección se les tomó una muestra de sangre utilizando un glucómetro (Accu -Chek Performa de Roche) para obtener la concentración de glucosa en la sangre en ayunas, esta lectura se tomó como el tiempo cero. Después de la medición de glucosa del tiempo cero, se le inyectó de manera intraperitoneal una dosis de glucosa de 2g/kg a los ratones y nuevamente se obtuvieron muestras de sangre de la vena de la cola para medir las concentraciones de glucosa a los 15, 30, 60, 90 y 120 minutos.

En el presente estudio se utilizó al ratón C57BL/6J alimentado con una dieta alta en grasa como modelo de obesidad, el cual ha sido ampliamente empleado para estudiar etapas tempranas del desarrollo de la diabetes tipo 2, al presentar resistencia a la insulina. Adicionalmente, este modelo desarrolla hiperglucemia leve e hiperinsulinemia [The Jackson Laboratory, 2021]. A pesar de que los ratones C57BL/6J desarrollan resistencia a la insulina de manera lenta y progresiva, en comparación con la cepa C57BL/6J ob/ob, los cuales lo desarrollan rápidamente, se ha recomendado el uso de C57BL/6J ya que su lento desarrollo de resistencia a la insulina refleja de mejor manera el desarrollo de diabetes tipo 2 en humanos [Andrikopoulos et al., 2008].

3.4. Inferencia Bayesiana

3.4.1. El problema inverso y la inferencia Bayesiana

En este paso se busca generar valores para los parámetros tal que las curvas producidas por el modelo con dichos valores simulen las curvas de tolerancia del modelo murino utilizado. Es por esto que se procede a realizar el ajuste de los parámetros a los datos experimentales. La utilización de mediciones previamente conocidas u obtenidos de un experimento para estimar los valores de los parámetros de un sistema se conoce como un problema inverso [Tarrantola, 2006]. Actualmente existen varios métodos para resolver un problema inverso, uno de los cuales es por medio de la inferencia Bayesiana. La inferencia Bayesiana es un método estadístico que utiliza información previamente conocida para la estimación de una distribución posterior [Ellison, 2004, Tarrantola, 2006]. Esto hace referencia a la distribución de los posibles valores que pueden tomar los parámetros para obtener el mejor ajuste del modelo a los datos. Como lo sugiere el nombre, la inferencia Bayesiana se basa en el teorema de Bayes, según la ecuación 3.41, el cual describe la probabilidad condicional de que ocurra un evento A dado que el evento B ya haya ocurrido.

$$P(A|B) = \frac{P(B|A)P(A)}{P(B)} \quad (3.41)$$

En la inferencia Bayesiana estos eventos tienen otro nombre, A será el parámetro en cuestión y B será el dato que obtenemos del experimento. Por lo tanto, el lado izquierdo del teorema de Bayes será la distribución posterior. El término $P(B|A)$ se conoce como la función de verosimilitud y representa la probabilidad de observar el dato experimental dado cierto valor del parámetro. La probabilidad de observar cierto valor del parámetro, $P(A)$, se describe en la inferencia Bayesiana como la distribución a priori, y esta representa lo que sabemos del comportamiento de los parámetros previo a realizar el experimento. Por ejemplo, en un experimento de lanzamiento de una moneda, sabemos que la probabilidad de obtener sello es 50%, esto lo podemos representar en la distribución a priori como una distribución beta centrado en 0.5, que es el comportamiento que se espera ver. La probabilidad de observar nuestros datos $P(B)$ se considera como la evidencia y esto no depende de los parámetros cuyos valores estamos buscando, por lo tanto, $P(B)$ se considera como una constante de normalización. Con estas modificaciones

se puede escribir la ecuación 3.41 de la siguiente manera:

$$P(A|B) \propto P(B|A)P(A) \quad (3.42)$$

O, en palabras

*Distribución posterior \propto Verosimilitud * priori*

Esta fórmula se utilizó para obtener la distribución posterior de cada parámetro de acuerdo con los datos obtenidos del experimento.

3.4.2. La distribución a priori y la verosimilitud

En el presente trabajo la verosimilitud fue definida como una distribución normal $N(D_i; g(t_i), 1)$. Es decir, alrededor de cada dato experimental, D_i , habrá una distribución normal cuya media es el modelo evaluado en el tiempo t_i con varianza igual a 1. Esta distribución normal representa el ruido de alrededor del modelo y el producto de dichas distribuciones será la verosimilitud. Recordamos que la distribución a priori describe lo que se conoce del comportamiento de los parámetros, sin embargo, para nuestro experimento no conocemos esta información, por lo tanto, utilizaremos una distribución a priori uniforme, también conocida como una distribución no – informativa. Este tipo de distribución a priori se utiliza cuando no se tiene información del comportamiento de los parámetros previos a realizar el experimento [Albert, 2007]. Por lo tanto, para cada parámetro se establecerá un rango de valores que pueden tomar, y debido a que la distribución a priori será uniforme cada valor dentro del rango tendrá la misma probabilidad de ser elegido. Dicho rango se encontró para cada parámetro a prueba y error; los valores encontrados se muestran en la tabla 3.1

Cuadro 3.1: Rango de valores a priori de parámetros

α (1/t)	A	ω_0 (1/t)	δ
0.0 – 0.001	100.0 – 400.0	0.0 – 0.03	0.0 – 0.30

3.4.3. Simulaciones utilizando inferencia Bayesiana MCMC y Metropolis – Hastings

Para implementar la inferencia Bayesiana y generar las distribuciones posteriores de cada parámetro, utilizaremos el método de cadenas de Markov y Monte Carlo implementando el módulo de python `pytwalk` [Christen & Fox, 2015]. Las cadenas de Markov describen el movimiento probabilístico entre una secuencia de números, en donde el siguiente número de la secuencia depende únicamente del número actual. El método de Monte Carlo hace referencia al método de generación de números aleatorios. Las distribuciones estacionarias producidas por las cadenas de Markov y Monte Carlo serán las distribuciones posteriores de interés [Albert, 2007]. Además, se utilizará el algoritmo de Metropolis – Hastings para determinar si el valor propuesto generado por las simulaciones será aceptado como el próximo valor de la secuencia o será rechazado. El algoritmo de Metropolis – Hastings consiste en los siguientes pasos [Albert, 2007]

- Obtener un valor candidato, θ^* , a partir de la simulación para la densidad propuesta $p(\theta^*|\theta^{t-1})$. Por lo tanto, se seleccionaran valores candidatos para cada parámetro de acuerdo a sus rangos a priori establecidos y dependiente del valor anterior.
- Calcular la diferencia entre la probabilidad posterior con el valor anterior θ^{t-1} y el valor candidato actual θ^*

$$R = \frac{\text{posterior}(\theta^*)}{\text{posterior}(\theta^{t-1})}$$

- Calcular la probabilidad de aceptación $P = \min\{R, 1\}$, si la diferencia, R , es mayor a uno, la probabilidad de aceptación será simplemente uno, si es menor entonces será ese mismo número.
- Tomar un valor, μ , de una distribución uniforme: $U(0, 1)$.
- Si $\mu < R$ aceptar el valor candidato, en caso contrario elegir otro valor de la densidad propuesta.

Por lo tanto, para cada valor de parámetro generado en la simulación durante la MCMC este será evaluado de acuerdo con el algoritmo de Metropolis – Hasting. Por ejemplo, si MCMC genera un valor para el parámetro δ de 0.2, se encontrará la diferencia, R , entre el posterior evaluado con 0.2 y el valor anterior. Si esta diferencia es mayor a 1 entonces la probabilidad de que se acepte 0.2 para realizar un ajuste será simplemente 1, si es menor, entonces la probabilidad de aceptación será el valor de la diferencia calculada. Posteriormente, se tomará un valor μ de una distribución uniforme y si μ es menor a R , se aceptará 0.2 como un valor para el parámetro δ , en caso contrario se generará otro valor para δ el cual será evaluado de la misma manera.

Por lo tanto, las distribuciones posteriores se generarán utilizando el muestreador MCMC llamado t-walk (módulo pytwalk) [Christen & Fox, 2015]. El t-walk es un método MCMC no - adaptativo y genera valores candidatos que son aceptados o rechazados basados en el algoritmo de Metropolis - Hastings. Por lo tanto, de esta manera se determinarán las distribuciones posteriores para cada parámetro y así resolver el problema inverso [Christen & Fox, 2015]

Capítulo 4

Resultados y discusión

4.1. Fisiología de los ratones

La figura 4.1 muestra el peso promedio de los ratones de cada grupo, con los ratones de dieta alta en grasas en rojo y el grupo control en azul para los días 0, 15, 30, 45 y 60. Las barras de error muestran dos veces el error estándar, lo cual representa un intervalo de confianza del 95 %. Se puede observar que los ratones con dieta alta en grasas rápidamente aumentan de peso. Desde el día 15 existe una diferencia significativa entre ellas, esto comprobado con una prueba de Mann – Whitney U (tabla A.1).

Notamos que, a pesar de tener una dieta estándar, el grupo control parece aumentar de peso de manera constante. Esto es consistente con los resultados encontrados por un experimento llevado a cabo por el Jackson Laboratory, en donde se registraron los pesos de 360 ejemplares machos C57BL/6J durante un periodo de 22 semanas. Los ratones fueron alimentados con la dieta LabDiet 5K52 (22 % proteína, 16 % de lípidos y 61 % carbohidratos) la cual contiene una composición de macronutrientes similar a la dieta chow utilizada para alimentar a los ratones del grupo control. Al llegar a su etapa adulta a las 8 semanas de edad, los ratones pesaban un promedio de 25 gramos y al final del experimento cuando tenían 24 semanas de edad el promedio de su peso aumento a 36.3 gramos [The Jackson Laboratory, 2021].

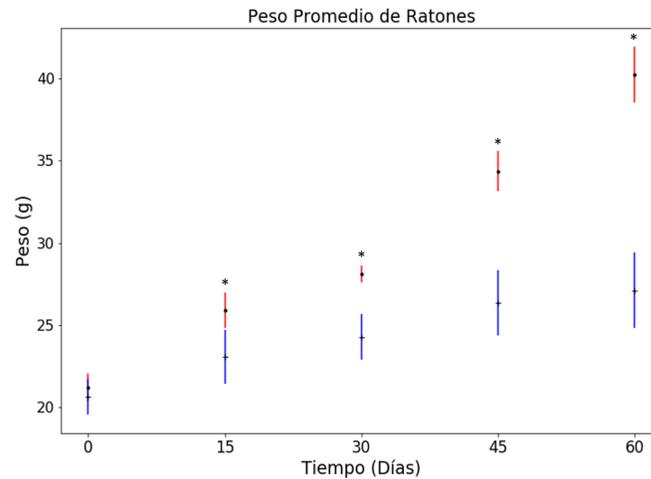


Figura 4.1: Peso promedio de ratones por grupo cada 15 días; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo. * $P < 0,05$ Prueba Mann - Whitney U

En la figura 4.2 se muestran los promedios de las mediciones de glucosa previo a la inyección de la solución, es decir en el tiempo cero, del grupo control en azul y el grupo con dieta alta en grasas en rojo. Debido a fallas técnicas no se tienen los valores de glucosa para el día 0 del grupo control. Las barras verticales representan dos veces el error estándar. Realizando una prueba de Mann - Whitney U (tabla B.1) verificamos que existe una diferencia significativa entre los valores de la glucosa basal únicamente para el día 60.

En el trabajo de [Surwit et al., 1988] establecen un umbral de 240 mg/dL para definir glicemia normal, valores mayores a esto se consideraban anormales, esto en ratones macho C57BL/6J con ayuno de 8 horas. Se observa en la figura 4.2 que desde el día 0 los ratones con dieta alta en grasas tienen niveles de glucosa cercano a 240 mg/dL a pesar de aún no haber empezado su dieta correspondiente. Esto puede deberse a que los ratones C57BL/6J son muy sensibles al estrés. Se ha observado que la estimulación por ruido puede causar respuestas de estrés en ratones, lo cual aumenta sus niveles de glucosa [Surwit et al., 1988, Mollenauer et al., 1992, Benedé - Ubieto et al., 2020]. Es por esto que se recomienda minimizar olores fuertes, vibraciones, iluminación o cualquier tipo de perturbación para mantener un ambiente tranquilo y silencioso para los ratones. Por lo tanto, los niveles elevados de glucosa basal

en los ratones en el tiempo 0 puede ser causado por estrés provocado por ruido, iluminación, vibraciones o falta de acondicionamiento de los ratones.

Niveles elevados de glucosa en la sangre en ayuno es característico de una falla metabólica en la que no se logra mantener la homeostasis [Abdul – Ghani et al., 2006]. La gráfica 4.2(tabla B.1) nos indican que existe una diferencia significativa entre los niveles basales de glucosa entre los dos grupos solamente para el último día en que fueron evaluados, siendo el grupo con dieta alta en grasas con la mayor concentración. Dado esto, podemos concluir que los ratones con dieta alta en grasas, al final del experimento han desarrollado intolerancia a la glucosa [Surwit et al., 1988].

A pese de que los días 15, 30 y 45 en la gráfica 4.2 no se observan diferencias significativas entre los dos grupos, se ha reportado que puede haber resistencia a la insulina incluso cuando no hay niveles de glucosa basal elevados. En el estudio realizado por [Surwit et al., 1988] se registraron concentraciones de insulina basal elevadas en ratones C57BL/6J con dieta alta en grasas (esto en comparación con los del grupo control). Sin embargo, los ratones del grupo con dieta alta en grasas presentaban también niveles normales de glucosa basal, lo cual sugiere que requerían de una mayor concentración de insulina para mantener la homeostasis de glucosa [Goldstein, 2002, DeFronzo & Tripathy, 2009, Fraulob et al., 2010]. Lo anterior es indicador de resistencia a la insulina [Moors et al., 2012, Surwit et al., 1988]. En el presente trabajo no se realizó la medición de insulina basal debido a falta de material, no obstante se recomienda para futuros proyectos.

En la figura 4.3 se pueden observar los valores promedios de las mediciones de glucosa de cada grupo durante la prueba de tolerancia intraperitoneal a los 0, 15, 30, 60, 90 y 120 minutos para los días 15, 30, 45 y 60. Se sigue el mismo esquema de color anteriormente mencionado, con el grupo control en azul y el grupo con dieta alta en grasas en rojo. En la gráfica del día 15 notamos que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre los valores de los dos grupos. El día 30 ya se pueden observar diferencias entre los valores, esto para los minutos 15, 30 y 60. Sin embargo, los niveles de glucosa regresan a los niveles basales al minuto 120.

En el día 45 existen diferencias significativas para todos los tiempos excepto el minuto 0. Notamos además que la curva del grupo con dieta alta en grasa presenta una amplitud mucho mayor a la del grupo control. La concentración

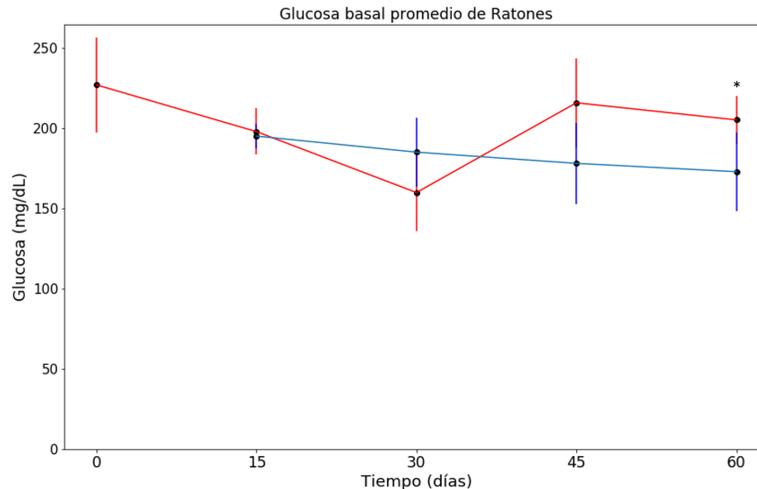


Figura 4.2: Glucosa basal promedio por grupo cada 15 días; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo. Las barras de error representan dos veces el error estandar. * $P < 0,05$ Prueba Mann - Whitney U

de glucosa en el grupo con dieta alta en grasas no regresa al valor basal a los 120 minutos. En el día 60 se observa diferencias significativas desde el minuto 0, es decir, la glucosa basal, esto igualmente se observó en la figura 4.2.

De las gráficas de la figura 4.3 se puede observar la dinámica de los valores de glucosa para ambos grupos durante las prueba de tolerancia intraperitoneal por día de evaluación. El día 15 las curvas de ambos grupos son muy similares. A partir del día 30 se empieza a observar que la curva del grupo con dieta alta en grasas decae de manera más lenta. Los últimos dos días las curvas de ambos grupos son muy distintas. Las curvas del grupo control llegan a un punto máximo en el minuto 15 y a partir de este, decaían los valores de glucosa. Sin embargo, para el grupo con dieta alta en grasas las curvas llegan a su punto máximo los minutos 30 y 60 para los días 45 y 60 respectivamente y disminuye de manera muy lenta. Las diferencias en las dinámicas de las curvas en ambos grupos también se ven reflejados en los parámetros del modelo posterior al ajuste, esto se discute en la sección 4.2.

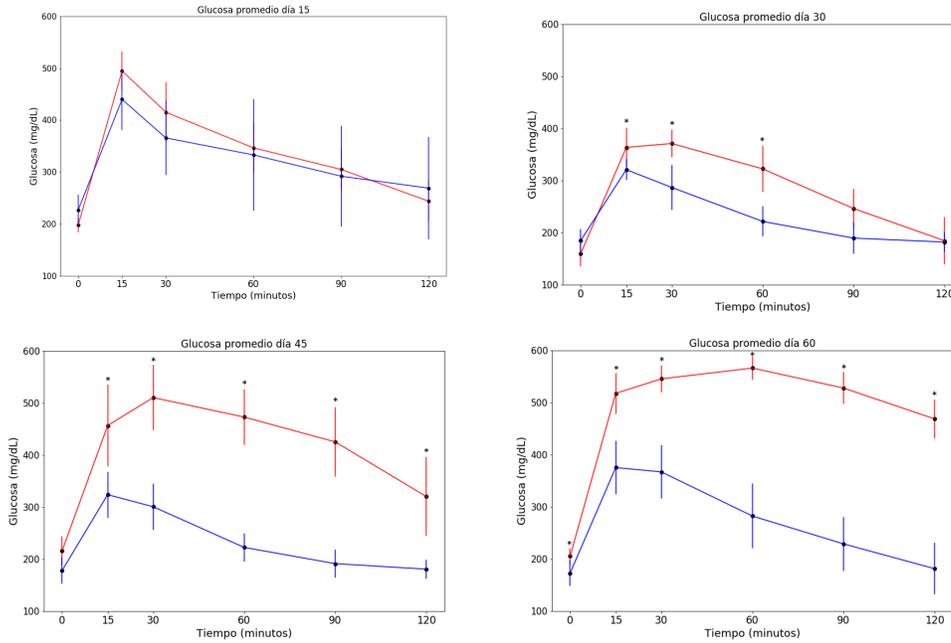


Figura 4.3: Promedio de las mediciones de glucosa durante las pruebas de tolerancia intraperitoneal de los ratones del grupo con dieta alta en grasas (rojo) y control (azul). Las barras de error representan dos veces el error estandar. *P < 0,05 Prueba Mann - Whitney U

4.2. Resultados del ajuste del modelo

En las figuras 4.4 y 4.5, se muestran ejemplos de algunas gráficas de los ajustes del modelo a los datos. Para cada ratón se realizaron entre 20000 – 25000 iteraciones y un burn – in de 10000 iteraciones. La línea negra en las gráficas representan la probabilidad máxima a posteriori (MAP), es decir, la moda de la distribución posterior y las estrellas verdes representan los datos experimentales. El ajuste empieza desde el minuto 15, esto debido a que los datos reportados no logran captar la dinámica del rápido aumento de la glucosa cuando es inyectada a los ratones. Las gráficas de la figura 4.4 muestran los ajustes del modelo para el ratón control 3 para los días 15, 30, 45 y 60.

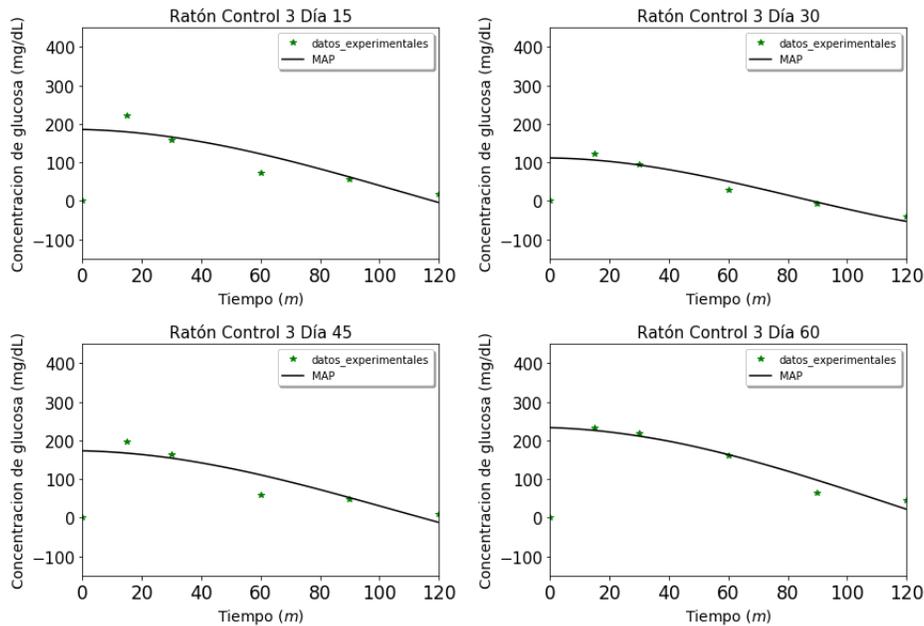


Figura 4.4: Ajuste del modelo a los datos correspondientes al ratón control 3 en los días 15,30,45 y 60

Observamos un comportamiento similar entre cada una de las gráficas de la figura 4.4. Todas las MAPs de los ratones control empiezan en un punto máximo con una pendiente negativa. Además, se encuentran cercanos a los datos experimentales, en contraste con el grupo con dieta alta en grasas. Para las gráficas de la figura 4.5 las MAP están a mayor distancia de los datos experimentales. Además, observamos que a diferencia de las gráficas del grupo control, las correspondientes al grupo con dieta alta en grasas no presentan el mismo comportamiento para todos los días. En la gráfica del día 15 de la figura 4.5 se observa una pendiente negativa, sin embargo, a lo largo del experimento está pendiente se acerca cada vez más a cero. Este cambio se empieza a observar a partir del día 30 de la misma figura. Al llegar al día 60 la MAP parece aumentar hasta el minuto 60 en donde a partir de este tiempo continua con una pendiente ligeramente negativa. No obstante, ya para el día 60 los datos experimentales están más cercanos al MAP en comparación con los días 30 y 45 en las gráficas de la figura 4.5. Las diferencias que vemos entre los dos grupos son consecuencias de los efectos de sus dietas correspondientes.

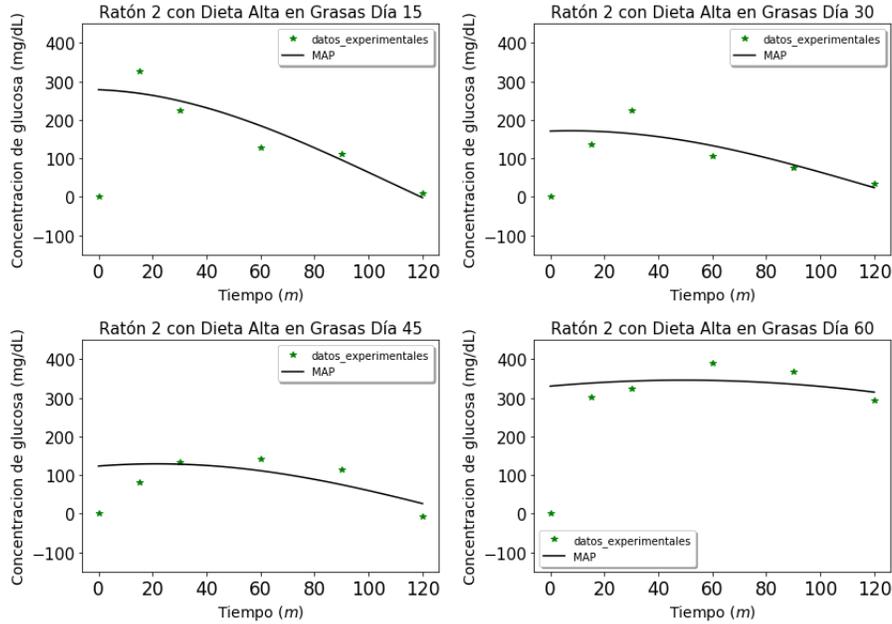


Figura 4.5: Ajuste del modelo a los datos correspondientes al ratón 2 con dieta alta en grasas en los días 15, 30, 45 y 60

4.3. Estimación de parámetros

En la figura 4.6 se muestran los promedios de los valores que toma el parámetro ω_0 los días 0, 15, 30, 45 y 60 para el grupo con dieta alta en grasas en rojo y el grupo control en azul. Las barras verticales representan dos veces el error estándar de cada día. De acuerdo con la prueba de Mann – Whitney U (tabla C.1), existe una diferencia significativa entre los valores promedios de los dos grupos los días 45 y 60. Se puede observar en la gráfica que el valor promedio de ω_0 del grupo con dieta alta en grasas para el día 0 empieza alrededor del valor 0.02, disminuye a 0.0125 para el día 15, entre el día 15 y 30 aumenta ligeramente y a partir del día 30 disminuye de manera significativa. En cambio, los valores promedios de ω_0 para el grupo control se mantienen dentro del mismo rango durante todo el experimento, sufriendo cambios muy ligeros.

Se ha reportado que la frecuencia natural de las curvas, representados por

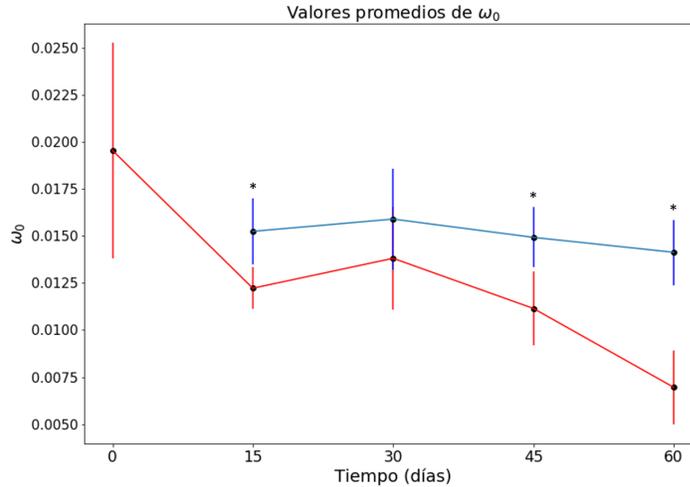


Figura 4.6: Valores promedios del parámetro ω_0 por grupo cada 15 días; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo. *P < 0,05 Prueba Mann - Whitney U.

el parámetro $T = \frac{2\pi}{\omega_0}$ ha sido utilizado para identificar pacientes diabéticos [Gatewood et al., 1970, Cruz Rosado, 2009]. El periodo igualmente se puede representar como el inverso de ω_0 , sin embargo, como observamos en la gráfica, los valores de ω_0 del grupo con dieta alta en grasas son diferentes estadísticamente significativos lo largo del tiempo en comparación con los valores del grupo control hasta el día 45, casi al final del experimento.

En la figura 4.7 se muestran los valores promedios del parámetro α para el grupo control en azul y grupo con dieta alta en grasas en rojo, cada 15 días. Las barras verticales representan dos veces el error estándar. La prueba de Mann - Whitney U (tabla C.2) nos indica una diferencia significativa entre los dos grupos los días 30, 45 y 60. Entre los días 0 y 15 para el grupo con dieta alta en grasas se puede observar un aumento en el valor del promedio de α , sin embargo a partir del día 15 este sufre una disminución constante hasta el día 60. El comportamiento de los valores promedios del grupo con dieta alta en grasas es muy distinto al del grupo control. Se puede observar que para los días 15, 30 y 45 los cambios de valor en el grupo control son tan pequeños que son imperceptibles, al igual que sus barras de error. Esto cambia para el día 60, en el que vemos que el valor promedio de α disminuye mientras que su barra de error aumenta y es ahora visible. Además, notamos que entre

los valores de ω_0 y α hay un orden de magnitud de diferencia, en donde ω_0 es el mayor, como consecuencia de esto la condición $\alpha^2 - \omega_0^2 < 0$ siempre se cumple en las iteraciones y por lo tanto en los ajustes del modelo siempre se utiliza la fórmula del caso negativo, es decir, $g(t) = Ae^{-\alpha t} \cos(\omega t - \delta)$ en donde $\omega^2 = \omega_0^2 - \alpha^2$. Notamos también, que para el día 15 parten del mismo valor promedio los dos grupos.

En el modelo el parámetro α está definido como $\alpha = \frac{m_1 + m_3}{2}$ en donde m_1 y m_3 representan la tasa de remoción de glucosa independiente a la insulina y la tasa de remoción de insulina independiente a la glucosa, respectivamente. El parámetro α también se ha descrito como la rapidez de la caída de la curva de tolerancia [Vargas Bernal, 2017]. Bajo estas definiciones la pendiente negativa que muestran los valores de α en la gráfica nos indican que la caída de la curva de tolerancia y los procesos fisiológicos que representan α son cada vez más lentos. De acuerdo con el modelo de Ackerman, la disminución de la rapidez en la que declina la curva de tolerancia puede sugerir una resistencia a la insulina ya que como se observó en la figura 1.3 una curva de tolerancia que tarda en regresar a sus concentraciones normales puede ser indicio a una intolerancia a la glucosa. Debido al modelo animal que se utilizó una intolerancia a la glucosa sugiere el desarrollo de resistencia a la insulina [Surwit et al., 1988].

En la figura 4.8 se observan los valores promedios del parámetro δ . Notamos que para los días 15, 30 y 45 para el grupo control y solamente el día 15 para el grupo con dieta alta en grasas, las barras son demasiadas pequeñas para ser percibidos. De acuerdo con la prueba de Mann – Whitney U (tabla C.3) existen diferencias significativas entre los valores de los dos grupos los días 30, 45 y 60. Se observa también que al igual que α , los valores promedios de δ para el día 15 parten del mismo valor, sin embargo, para el grupo control los cambios de valores son tan pequeños que son imperceptibles, hasta el día 60 que aumenta el valor promedio junto con el error estándar. En cambio, los valores promedios de δ para el grupo con dieta alta en grasas aumenta de manera continua.

La figura 4.9 muestra los valores promedios del parámetro A para el grupo control en azul y dieta alta en grasas en rojo cada 15 días. Las barras verticales representan dos veces el error estándar. De acuerdo con la prueba de Mann – Whitney U (tabla C.4) existen diferencias significativas entre

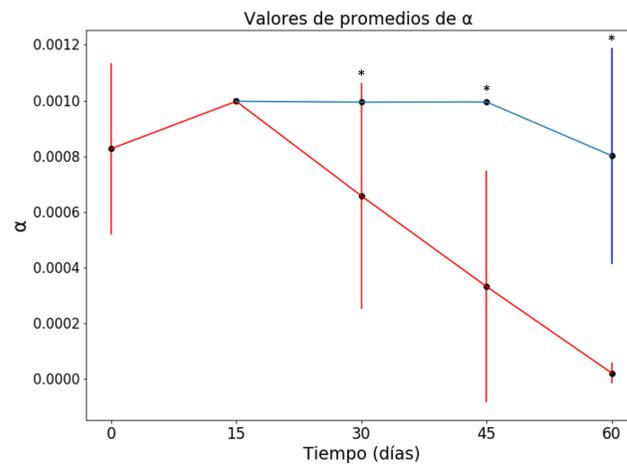


Figura 4.7: Valores promedios del parámetro α por grupo cada 15 días; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo. Las barras verticales, representan dos veces el error estándar. * $P < 0,05$ Prueba Mann - Whitney U

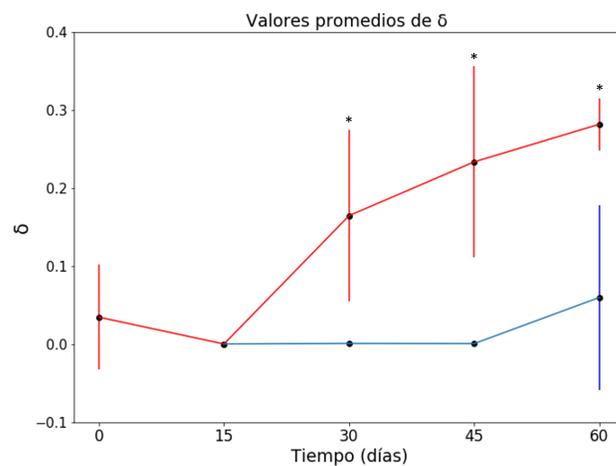


Figura 4.8: Valores promedios del parámetro δ por grupo cada 15 días; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo. * $P < 0,05$ Prueba Mann - Whitney U

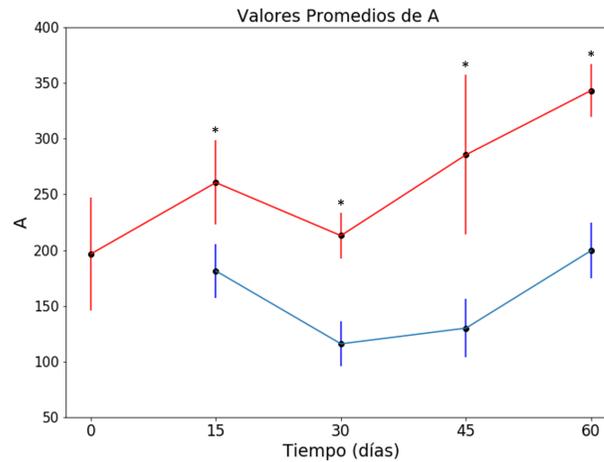


Figura 4.9: Valores promedios del parámetro A por grupo cada 15 días; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo. * $P < 0,05$ Prueba Mann - Whitney U

los valores promedios de los dos grupos a partir del día 15. Observando la gráfica 4.9, se puede notar que los valores promedios de A para el grupo con dieta alta en grasas aumentan de manera constante, empezando el día 30 con un valor cercano a 200 y terminando el día 60 con un valor promedio de casi 350. En cambio, los valores promedios del grupo control empiezan a disminuir, pero para el día 60 parece regresar al mismo valor que el día 15.

El parámetro A es el primero que se distingue de los demás parámetros debido a que muestra una diferencia entre los valores del grupo con dieta alta en grasas y el grupo control desde el día 15. Los demás parámetros muestran una diferencia significativa entre los valores de los dos grupos a mediados o final del experimento. Recordando que la interpretación de A en la ecuación 3.29 es la amplitud de las curvas generadas por el modelo al ajustarse a los datos de los ratones [Vargas Bernal, 2017].

Las curvas producidas por el ajuste del modelo a los datos de los ratones con dieta alta en grasas presentan una mayor amplitud a comparación con aquellas producidas por el grupo control. Esta diferencia en amplitud se logra detectar en el parámetro A desde el día 15. Por lo tanto, el modelo logró detectar alteraciones en la homeostasis de la glucosa a los 15 días de que los

ratones iniciaran su dieta alta en grasas.

Podemos comparar el aumento de la amplitud de las curvas producidas por el ajuste del modelo con lo observado en la figura 1.3. En la figura 1.3, la curva representando los niveles de intolerancia a la glucosa tiene mayor amplitud a comparación con la que indica valores de concentración normal [Kumar & Dip Gill, 2016]. Por lo tanto, esto sugiere que se puede observar intolerancia a la glucosa en las curvas producidos por el modelo de los ratones con dieta alta en grasas. Dicha intolerancia es más evidente a partir del día 45 en donde observamos diferencias estadísticamente significativas para todos los parámetros.

Recordando que una de las funciones de la insulina es la inhibición de liberación de glucosa endógena durante un estado posprandial. Como se mencionó en la sección 1.3.2, en pacientes con resistencia a la insulina los procesos de liberación de glucosa endógena no se logran inhibir de manera eficiente por lo que dicho proceso continua incluso durante un estado posprandial, provocando un aumento en la concentración de glucosa [Andany et al., 2016]. Al desarrollar una resistencia a la insulina, los procesos de liberación de glucosa endógena que ocurre en el hígado de los ratones no se inhiben adecuadamente, conduciendo a un aumento gradual en la concentración de glucosa a lo largo de los 60 días del experimento. Conforme aumenta la severidad de la resistencia a la insulina con el tiempo, la eficiencia en inhibir la liberación de glucosa endógena es menor y la concentración de glucosa sanguínea mayor. Lo anterior puede contribuir al aumento de la amplitud de las curvas generadas por el modelo.

Además, la insulina promover la remoción de glucosa. La insulina estimula la captación de hasta el 90 % de la glucosa durante un estado postprandial [DeFronzo & Tripathy, 2009, Leto & Saltiel, 2012]. Al desarrollar resistencia a la insulina, las células que contienen los receptores no pueden internalizar glucosa de manera eficiente. Esto provoca un aumento en la concentración de glucosa lo cual también lo podemos ver reflejado en el aumento de la amplitud de las curvas generados por el modelo [Kumar & Dip Gill, 2016, Thong et al., 2007].

Siendo este el caso, A es el parámetro que primero muestra indicios de una resistencia a la insulina debido a la diferencia estadísticamente significativa detectado el día 15. De acuerdo con lo reportado, el hígado es uno de los

primeros órganos en ser afectados por la resistencia a la insulina. De acuerdo con los resultados para A , especulamos que la resistencia a la insulina detectada puede explicarse por las alteraciones metabólicas reportadas en el hígado durante el desarrollo de la diabetes tipo 2 [Essaouiba et al., 2020].

A pesar de que todos los parámetros del grupo con dieta alta en grasas mostraron cambios en sus valores en comparación con los del grupo control a los 60 días, el parámetro A mostró dichos cambios desde el día 15. Por esta razón A puede ser una señal adecuada de detección temprana. El parámetro A también fue utilizado en el estudio realizado por [Vargas Bernal, 2017] junto con α para identificar pacientes diabéticos.

4.4. Gráficas de dispersión

Para obtener una mejor visualización del comportamiento de los parámetros se graficaron todos los valores generados por las cadenas de Markov y Monte Carlo (MCMC) de cada parámetro por día. Posteriormente, se realizó una comparación de dos en dos en gráficas de dispersión. Los valores encontrados para los parámetros del grupo control se muestran en azul y los del grupo con dieta alta en grasa en rojo. Los resultados de esto se muestran en las gráficas 4.10 – 4.13. Cada aglomeración de puntos, o conjunto de puntos, corresponde a un ratón. Por ejemplo, la flecha en la figura 4.10 representa el ratón 3 con dieta alta en grasas

En dichas gráficas se puede apreciar la evolución de los valores de los parámetros a lo largo del experimento. Se observa que en el día 15 (4.10) ambos grupos tienen valores de parámetros similares ya que todas las aglomeraciones se encuentran en un sólo lado de la gráfica. Sin embargo, se puede observar una separación, ya que los grupos de puntos del control no se mezclan con los de dieta alta en grasas. Además, los puntos de las gráficas del día 15 no están muy dispersos lo que sugiere que existe poca variabilidad entre los valores de los parámetros. Recordamos que en las gráficas 4.4 y 4.5 para el día 15 las MAP se encontraban cerca de los valores experimentales. La gráfica de A contra ω_0^2 se distingue de las demás ya que se muestra una separación más evidente entre los valores del grupo control y la dieta alta en grasas.

En el día 30 (4.11) se muestra una mayor dispersión entre las aglomeraciones, lo que sugiere una mayor variabilidad entre los valores de los parámetros. Esto puede ser debido a los cambios que se empiezan a observar en los datos experimentales, y por lo tanto el ajuste del modelo, debido a la dieta. Recordando que en la figura 4.5 el MAP del día 30 no se encuentra tan cercana a los datos experimentales como los del grupo control para el mismo día, sugiere una mayor variabilidad entre los valores de los parámetros con dieta alta en grasas para lograr un ajuste adecuado. Se observa también en el día 30, correlaciones negativas entre los valores de los ratones 2 y 3 de los parámetros A contra δ . Dicha correlación se confirmó calculando un coeficiente de Pearson ($P < 0,05$) de -0.79 para A contra δ del ratón 2 y de -0.81 para A contra δ del ratón 3. Dichas correlaciones pueden ser consecuencia de pocos datos experimentales [Johnson, 2000, Li & Dong Vu, 2013]. Cabe mencionar que un coeficiente de Pearson de -1 indica una fuerte correlación negativa. En cambio un valor de 0 significa que no existe una correlación [Zar, 2010].

En el día 45 (4.12) notamos que las aglomeraciones de puntos son menos dispersas, sugiriendo una menor variabilidad entre los valores de los parámetros. Sin embargo, también podemos ver como los valores del grupo con dieta alta en grasas se alejan gradualmente de los valores del grupo control. Los valores del grupo control se mantienen dentro del mismo rango, en cambio los del grupo con dieta alta en grasas empiezan a migrar al extremo opuesto de las gráficas. Se puede ver una disminución entre las correlaciones previamente mencionadas, confirmando esto con una correlación de Pearson de 0.24 para A contra δ del ratón 2 y a -0.36 para A contra δ del ratón 3. Se distingue nuevamente la gráfica de A contra ω_0^2 en el día 45 ya que la separación entre ambos grupos es más apreciable con respecto a ambos parámetros.

Finalmente, en el día 60 (4.13) se ve poca dispersión entre los grupos de puntos, lo cual sugiere menor variabilidad entre los parámetros para lograr un buen ajuste, recordando que para el día 60 de la figura 4.5 los datos experimentales están más cercanos al MAP a comparación de los días 30 y 45. Curiosamente se puede observar para el día 60 una aglomeración de puntos del grupo control por el lado en donde se encuentran los puntos correspondientes al grupo con dieta alta en grasas, para todas las gráficas excepto de A contra ω_0^2 . Esto podría ser indicador de una posible falla metabólica que igualmente pueden llegar a sufrir los ratones del grupo control, recordando que ellos también aumentan de peso, como se mencionó en la sección 4.1, lo cual los

puede hacer tener una dinámica similar a los del grupo con dieta alta en grasas. Para A contra ω_0^2 en el día 60 se observa ya una clara separación entre el grupo control y dieta alta en grasas. El hecho de que se observó una separación de ambos grupos desde el día 15 por parte el parámetro A refuerza lo sugerido de la utilización de A como una señal de alerta temprana.

Utilizando las gráficas de dispersión se pudo afirmar la inexistencia de correlaciones entre los parámetros. La correlación que se observó únicamente para el día 30, como se mencionó, puede ser resultado de los pocos datos experimentales [Johnson, 2000, Li & Dong Vu, 2013]. Además se obtuvo la observación de la dinámica entre los valores de los parámetros de ω_0 y A . Para el día 15 se puede ver una ligera separación entre los grupos control y dieta alta en grasas. Sin embargo, ya para el día 30 se muestra una clara separación entre los dos grupos, para reafirmar este punto se aplicó el algoritmo de clasificación Kmeans (apéndice D). En el trabajo de [Vargas Bernal, 2017] se observa un comportamiento similar entre los parámetros A y α cuando sus valores son graficados de dos en dos al igual que las gráficas de dispersión (figuras 4.10 - 4.13). Esto puede sugerir que la utilización de dos parámetros en lugar de uno también sea adecuado para identificar patrones entre los valores de los parámetros. La utilización de varios parámetros para observar patrones es aconsejado por los autores [Eberle et al., 2013].

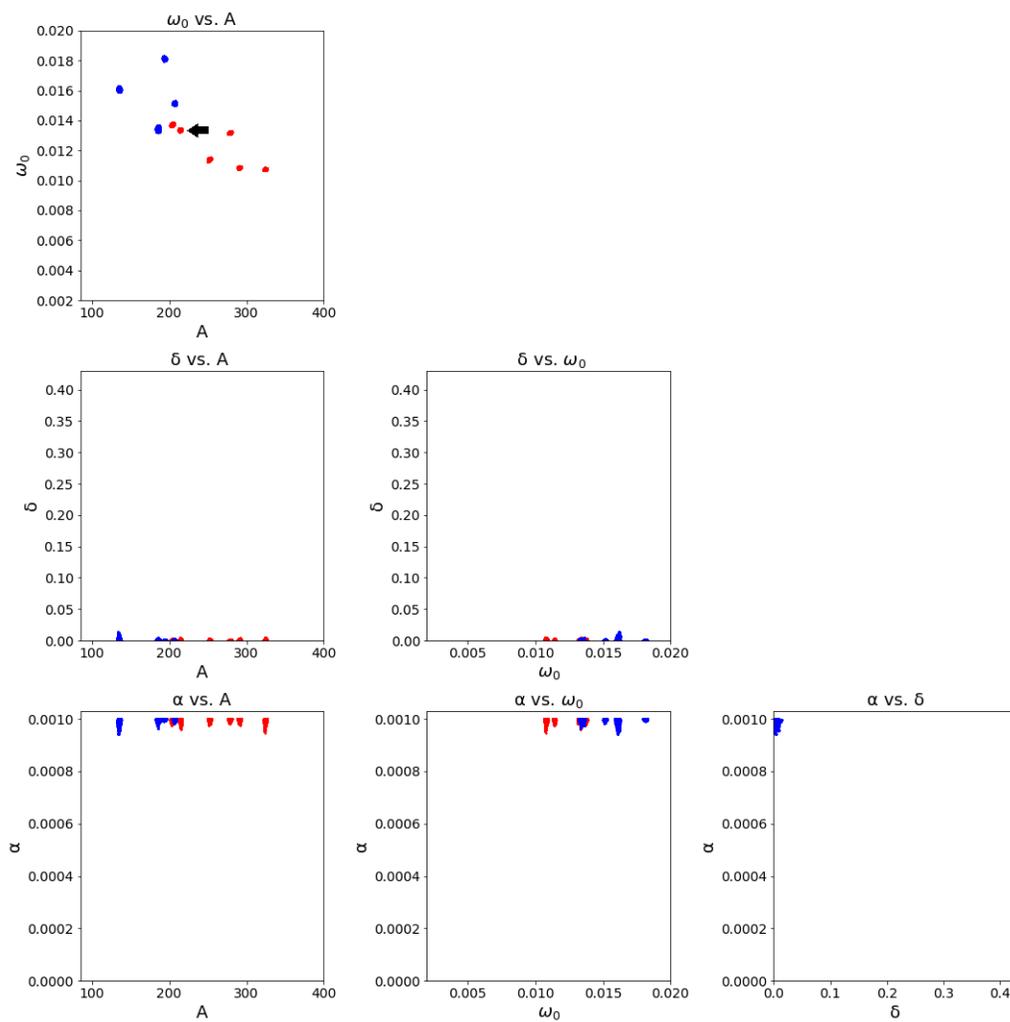


Figura 4.10: Gráfica de dispersión día 15; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo.

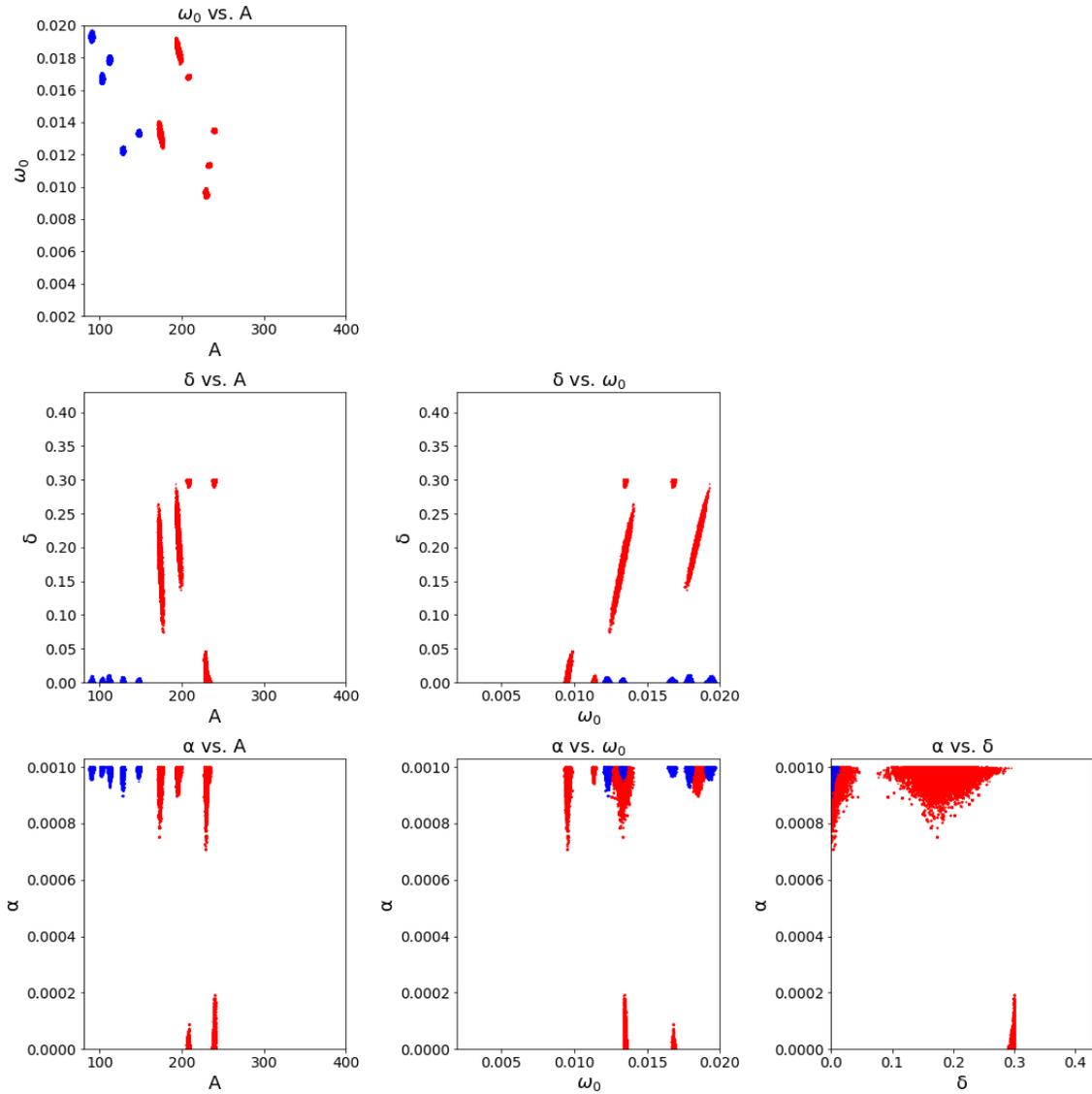


Figura 4.11: Gráfica de dispersión día 30; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo.

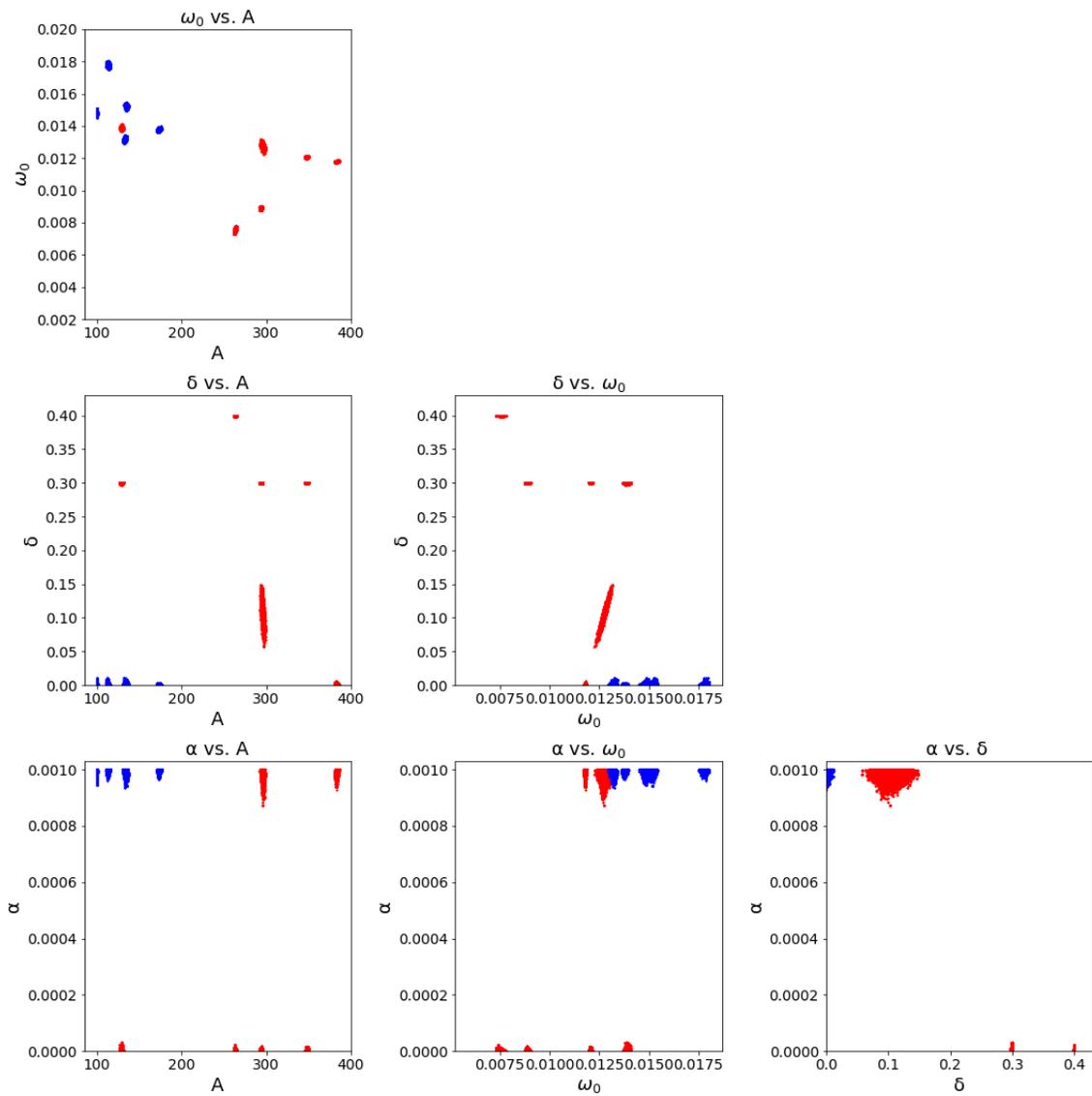


Figura 4.12: Gráfica de dispersión día 45; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo.

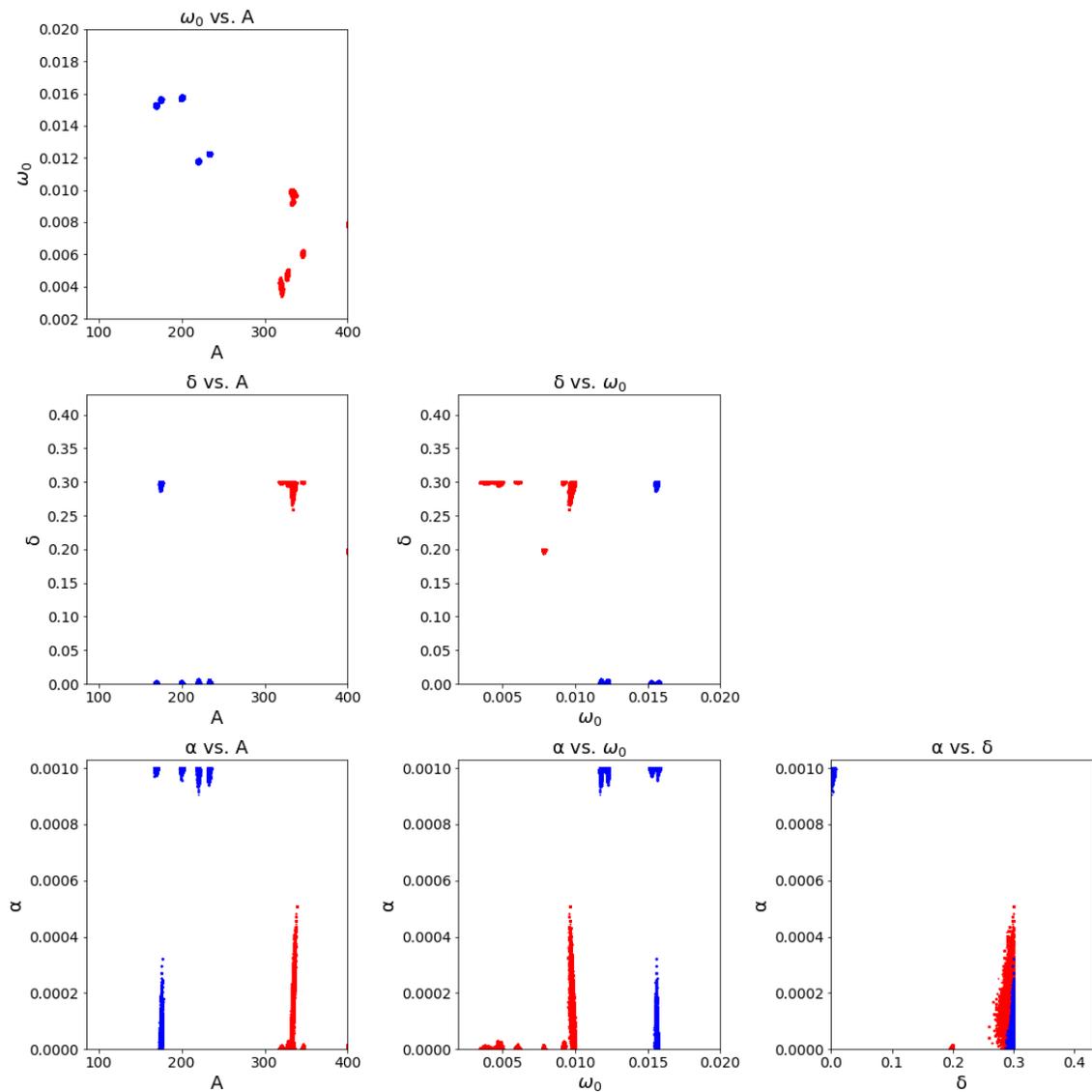


Figura 4.13: Gráfica de dispersión día 60; grupo control - azul, grupo con dieta alta en grasas - rojo.

Capítulo 5

Conclusión y perspectiva

Se logró identificar un parámetro que puede ser utilizado como una señal de alerta temprana para la resistencia a la insulina. El parámetro identificado representa la amplitud de las curvas generados por el modelo durante el ajuste a los datos experimentales. El aumento en la amplitud de las curvas que se observó puede ser debido a la inhibición ineficiente de liberación de glucosa endógena en el hígado y una internalización inadecuada de la glucosa de parte de las células que contienen GLUT4. El hígado ha sido reportado como uno de los primeros órganos en ser afectados por la resistencia a la insulina, por lo cual se sugiere realizar estudios del hígado de los ratones en futuros proyectos. Además, en dichos proyectos se recomienda incluir mediciones de insulina para utilizar el modelo matemático completo y observar si efectivamente se desarrolla una hiperinsulinemia a partir del día 15 como lo sugiere el parámetro A .

Bibliografía

- Abdul – Ghani, M., DeFronzo, R. A., Willians, K., & Stern, M. (2007). What is the best predictor of future type ii diabetes? *Diabetes Care.*, 30:1544 – 1548.
- Abdul – Ghani, M., Tripathy, D., & DeFronzo, R. (2006). Contributions of beta - cell dysfunction and insulin resistance to the pathogenesis of impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose. *Diabetes Care.*, 29:1130 – 1139.
- Ackerman, E., Gatewood, L. C., Rosevear, J., & G, M. (1969). Blood glucose regulation and diabetes. *Concepts and Models of Biomathematics.*, page 131 – 156.
- Albert, J. (2007). *Bayesian Computation with R (Use R!)*. Springer, New York N.Y., 1 edition.
- Andany, A. ., M., M., Felpete, P. ., N., Fernández – Fernández, C., Donapetry – García, C., & Pazos – García, C. (2016). Liver glucose metabolism in humans. *Bioscience Reports.*, 36:1 – 15.
- Andrikopoulos, S., Blair, A. R., Deluca, N., Fam, B. C., & Proietto, J. (2008). Evaluating the glucosa tolerance test in mice. *The American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism.*, 295:E1323 – E1332.
- Barraza – Lloréns, M., Guajardo – Barrón, V., Picó, J., Garcia, R., Hernández, C., Mora, F., A. J., Crable, E., & Urtiz, A. (2015). Carga económica de la diabetes mellitus en México, 2013. *Fundación Nacional de Salud.*, page 1 – 128.

- Benedé – Ubieto, R., Estévez – Vázquez, Ramadori, P., Cubero, F. J., & Nevzorova, Y. A. (2020). Guidelines and considerations for metabolic tolerance test in mice. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy.*, 13:439 – 450.
- Bergman, R. N. (2021). Origins and history of the minimal model of glucose regulation. *Frontiers in Endocrinology.*, 11:1 – 12.
- Brás, N. F., Fernandes, P. A., & J., R. M. (2018). Understanding the rate – limiting step of glycogenolysis using qm/mm calculations on the human glycogen phosphorylase. *ChemMedChem.*, page 1608 – 1616.
- Campbell, I. W. (2001). Type 2 diabetes mellitus: ‘the silent killer’. *Practical Diabetes International.*, 18:187 – 191.
- Christen, J. A. & Fox, C. A. (2015). A general purpose sampling algorithm for continuous distributions (the t-walk). 5:263 – 281.
- Cruz Rosado, Y. (2009). Mathematical model for detecting diabetes. *Proceedings of the National Conference on Undergraduate Research.*, page 217 – 224.
- DeFronzo, R. A. & Tripathy, D. (2009). Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 32:S157 – S163.
- Eberle, C., P., W., & Ament, C. (2013). A novel mathematical model detecting early individual changes of insulin resistance. *Diabetes Technology and Therapeutics*, 15:870 – 880.
- Ellison, A. M. (2004). Bayesian inference in ecology. *Ecology Letters*, 7:509 – 520.
- Essaouiba, A., Okitsu, T. and Kinoshita, R., Jellai, R., Shinohara, M., & Danoy, M. ... Leclerc, E. (2020). Development of a pancreas – liver organ – on – chip coculture model for organ – to – organ interaction studies. *Biochemical Engineering Journal*, 164:1 – 11.
- Fraulob, J. C., Ogg – Diamantino, R., Fernandes – Santos, C., Barbosa Aguilá, M., & Mandarin – de Lacerda, C. A. (2010). A mouse modelo of metabolic síndrome: insulin resistance, fatty liver and non – alcoholic fatty pancreas disease (nafpd) in c57bl/6 mice fed a high fat diet. *Journal of clinical biochemistry and nutrition.*, 46:212 – 223.

- Gaetano, A. D., H. T. B. B. A.-R. E. P. P. B.-V. J. & Porksen, N. (2008). Mathematical models of diabetes progression. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*, 295:E1462 – E1479.
- Gatewood, L. C., Ackerman, E., Rosevear, W. J., & Molnar, G. D. (1970). Modeling blood glucose dynamics. *Behavioral Science*, 15:72 – 87.
- Goldstein, B. J. (2002). Insulin resistance as the core defect in type 2 diabetes mellitus. *The American Journal of cardiology*, 90:3G – 10G.
- Griffin, S. J., Little, P. S., Hales, C. N., Kinmonth, A. L., & Wareham, N. J. (2000). Diabetes risk score: towards earlier detection of type 2 diabetes in general practice. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 16:164 – 171.
- Gutiérrez – Rodelo, C., Roura – Guiberna, A., & Olivares – Reyes, J. (2017). Molecular mechanisms of insulin resistance: An update. *Gaceta médica de México*, 153:197 – 209.
- Han, H., Kang, G., Kim, J. S., Byeong, H. B., & Koo, S. H. (2016). Regulation of glucose metabolism from a liver – centric perspective. *Experimental and Molecular Medicine*, 48:1 – 10.
- Harris, M. I. y Eastman, R. C. (2000). Early detection of undiagnosed diabetes mellitus a us perspective. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 16:230 – 236.
- Iwasa, J. & Marshall, W. (2016). *Karp's Cell and Molecular Biology*. Wiley and Sons., Hoboken, NJ, 8 edition.
- Johnson, M. L. (2000). Parameter correlations while curve fitting. *Methods in Enzymology*, 321:424 – 446.
- Kelsall, I. R., Munro, S., Hallyburton, I., Treadway, J. L., & Cohen, P. T. W. (2007). The hepatic pp1 glycogen – targeting subunit interaction with phosphorylase a can be blocked by c – terminal tyrosine deletion or an indole drug. *Federation of European Biochemical Societies*, 581:4749 – 4753.
- Kumar, V. & Dip Gill, K. (2016). *Basic Concepts in Clinical Biochemistry: A Practical Guide*. Springer Nature Singapore, Singapore, 1 edition.

- Kuschinski, N. E., Christen, J. A., Monroy, A., & Alavez, S. (2019). Modeling oral glucosa tolerance test (OGTT) data and its bayesian inverse problem. *arXiv: Applications*, pages 1 – 10.
- Leto, D. & Saltiel, A. R. (2012). Regulation of glucose transport by insulin: traffic control of glut4. *Nature Reviews: Molecular Cell Biology*, 13:383 – 296.
- Levaillante, M., Lièvre, G., & Baert, G. (2019). Ending diabetes in Mexico. *The Lancet*, 394:467 – 468.
- Li, P. & Dong Vu, Q. (2013). Identification of parameter correlations for parameter estimation in dynamic biological models. *BMC Systems Biology*, 91:1 – 12.
- Mayo Clinic (2021). Glucose tolerance test. <https://www.mayoclinic.org/tests-procedures/glucose-tolerance-test/about/pac-20394296>.
- Mollenauer, S., Bryson, R., Robison, M., & Phillips, C. (1992). Noise avoidance in C57BL/6J mouse. *Animal learning and Behavior.*, 20:25 – 32.
- Moors, C., van der Zijil, N., Diamant, M., Blaak, E., & Goossens, G. H. (2012). Impaired insulin sensitivity is accompanied by disturbances in skeletal muscle fatty acid handling in subjects with impaired glucose metabolism. *International journal of Obesity.*, 36:709 – 717.
- Nelson, D. L. & Cox, M. M. (2006). *Lehninger Principles of Biochemistry*. Freeman and Company, New York, 4 edition.
- Nordlie, R. C., Foster, J. D., & Lange, A. J. (1999). Regulation of glucose production by the liver. *Annual Review of Nutrition.*, 19:379 – 406.
- Pierce, M., Harding, D., Keen, H., & Bradley, C. (2001). Risk and prevention of type II diabetes: offspring's view. *British Journal of General Practice*, 51:194 – 199.
- Rodríguez – Trejo, A. (2012). *Programación del desarrollo de las células beta pancreáticas en el modelo de restricción proteica materna en ratas: Morfología y expresión génica*. Doctorate, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.

- Secretaria de Salud (2016). Declaratoria de emergencia epidemiológica (ee – 4 – 2016). <http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/emergencias/descargas/pdf/Declaratoria-4-16.pdf>.
- Stumvall, M., Goldstein, B. J., & van Haeften, T. W. (2005). Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *The Lancet.*, 365:1333 – 1346.
- Surwit, R. S., Kuhn, C. M., Cochrane, C., McCubbin, & Fienglos, M. N. (1988). Diet – induced type ii diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes.*, 37:1163 – 1167.
- Swiderska, E., Strycharz, J., Wróblewski, J. S., Drzewoski, & Sliwinska, A. (2018). Role of PI3K/AKT pathway in insulin – mediated glucose uptake. *IntechOpen.*, pages 1–18.
- Tarantola, A. (2006). Popper, bayes and the inverse problem. *Nature Physics*, 2:492 – 494.
- The Jackson Laboratory (2021). Body weight information for C57BL/6J (000664). <https://www.jax.org/jax-mice-and-services/strain-data-sheet-pages/body-weight-chart-000664>.
- Thong, F. S. L., Bilan, P. J., & Klip, A. (2007). The rab gtpase – activating protein as160 integrates akt, protein kinase C, and AMP – activated protein kinase signals regulating GLUT4 traffic. *Diabetes*, 56:414 – 423.
- Vargas Bernal, P. (2017). Un algoritmo de clasificación como herramienta de diagnóstico de diabetes con datos de la prueba oral de tolerancia a la glucosa. Master's thesis, Centro de investigación en Matemáticas, A. C., Guanajuato, México.
- Zar, J. H. (2010). *An introduction to statistical methods and data analysis*. Cengage Learning, Boston, 7 edition.
- Zhou, X. Y., Shibusawa, N., Naik, K., Porrás, D., Temple, K., & Ou, H., . W. F. E. (2004). Insulin regulation of hepatic gluconeogenesis through phosphorylation of creb – binding protein. *Nature Medicine*, 10:633 – 637.

Apéndice A

Prueba de Mann - Whitney para el peso promedio

Prueba de Mann - Whitney U para el peso promedio del grupo control y grupo con dieta alta en grasas. Considerando un nivel de significancia de 0.05.

H_0 : No existe una diferencia significativa entre los valores promedios del peso del grupo control y los valores del grupo con dieta alta en grasas.

H_A : Existe una diferencia significativa entre los valores promedios peso del grupo control y los valores del grupo con dieta alta en grasas.

Cuadro A.1: Resultados de la prueba de Mann - Whitney U para el peso promedio

Peso Promedio		
Día	P - Value	Conclusión
0	0.322	Aceptar H_0
15	0.022	Rechazar H_0
30	0.003	Rechazar H_0
45	0.004	Rechazar H_0
60	0.004	Rechazar H_0

Apéndice B

Prueba de Mann - Whitney para el promedio de glucosa basal

Prueba de Mann - Whitney U para los promedios de la glucosa basal para el grupo control y el grupo con dieta alta en grasas. Considerando un nivel de significancia de 0.05.

H_0 : No existe una diferencia significativa entre los valores promedios de glucosa basal del grupo control y los valores del grupo con dieta alta en grasas.

H_A : Existe una diferencia significativa entre los valores promedios de glucosa basal del grupo control y los valores del grupo con dieta alta en grasas.

Cuadro B.1: Resultados de la prueba de Mann - Whitney U para la glucosa basal

Glucosa Basal		
Día	P - Value	Conclusión
15	0.463	Aceptar H_0
30	0.060	Aceptar H_0
45	0.085	Aceptar H_0
60	0.027	Rechazar H_0

Apéndice C

Prueba de Mann - Whitney para el promedio de parámetros

Prueba de Mann - Whitney U para los promedios de los parámetros. Considerando un nivel de significancia de 0.05.

H_0 : No existe una diferencia significativa entre los valores promedios del grupo control y los valores del grupo con dieta alta en grasas.

H_A : Existe una diferencia significativa entre los valores promedios del grupo control y los valores del grupo con dieta alta en grasas.

Cuadro C.1: Resultados de la prueba de Mann - Whitney U para ω_0

Parámetro ω_0		
Día	P - Value	Conclusión
15	0.017	Rechazar H_0
30	0.205	Aceptar H_0
45	0.011	Rechazar H_0
60	0.004	Rechazar H_0

Cuadro C.2: Resultados de la prueba de Mann - Whitney U para α

Parámetro α		
Día	P - Value	Conclusión
15	0.324	Aceptar H_0
30	0.011	Rechazar H_0
45	0.006	Rechazar H_0
60	0.006	Rechazar H_0

Cuadro C.3: Resultados de la prueba de Mann - Whitney U para δ

Parámetro δ		
Día	P - Value	Conclusión
15	0.463	Aceptar H_0
30	0.011	Rechazar H_0
45	0.027	Rechazar H_0
60	0.011	Rechazar H_0

Cuadro C.4: Resultados de la prueba de Mann - Whitney U para A

Parámetro A		
Día	P - Value	Conclusión
15	0.006	Rechazar H_0
30	0.004	Rechazar H_0
45	0.01	Rechazar H_0
60	0.004	Rechazar H_0

Apéndice D

Kmeans

Para confirmar que durante el día 15 aún no hay una clara separación entre los dos grupos de ratones se aplicó el algoritmo de clasificación Kmeans y se compararon con las figuras 4.10 - 4.13. Se puede observar que en el día 15 dos ratones de la dieta alta en grasas son agrupados con los ratones del grupo control, demostrando que para dicho tiempo aún no había una clara separación entre los dos grupos. No obstante, a partir del día 30 ya se puede apreciar el mismo agrupamiento mostrado en las gráficas de dispersión (figuras 4.10 - 4.13) de ambos grupos de ratones.

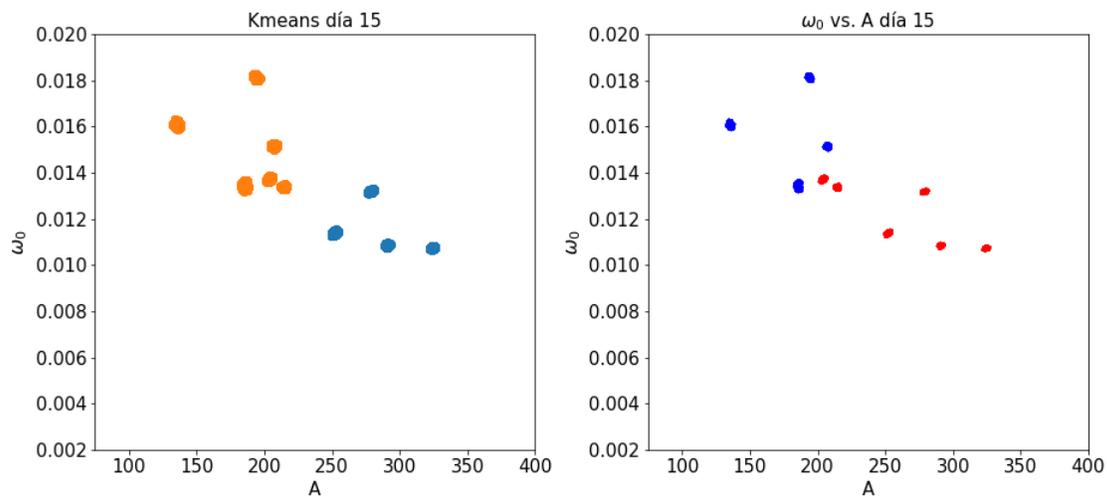


Figura D.1: Kmeans para el día 15; grupo control - naranja, grupo con dieta alta en grasas - azul

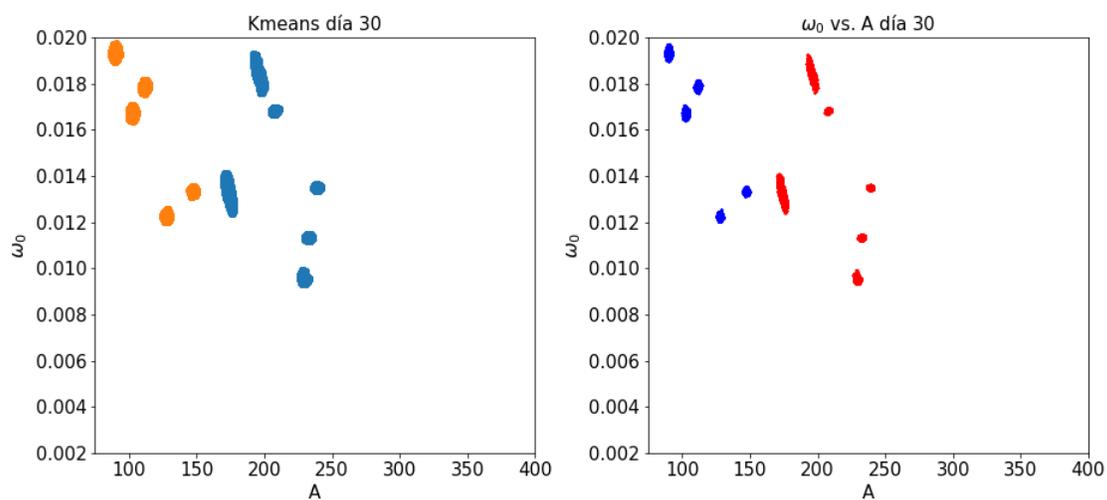


Figura D.2: Kmeans para el día 30; grupo control - naranja, grupo con dieta alta en grasas - azul

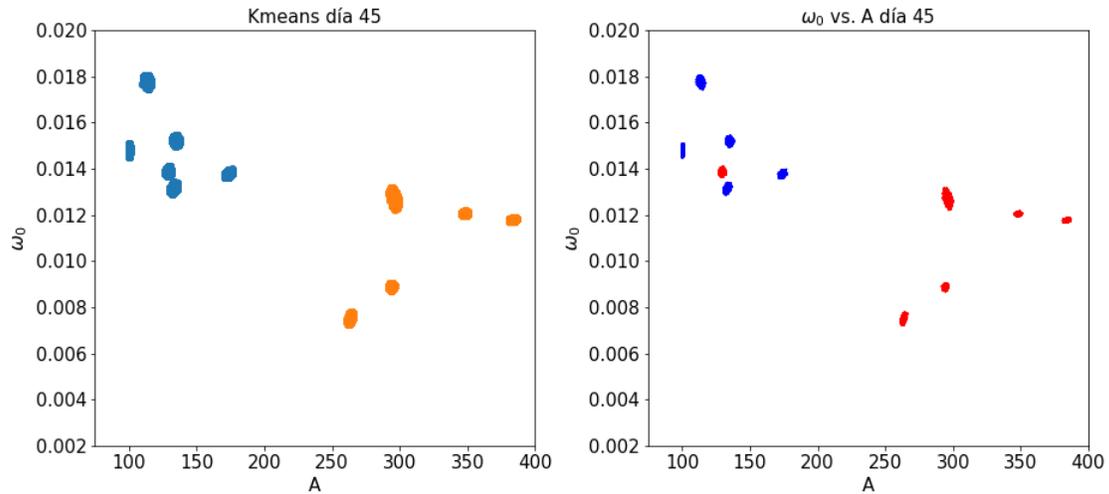


Figura D.3: Kmeans para el día 45; grupo control - naranja, grupo con dieta alta en grasas - azul

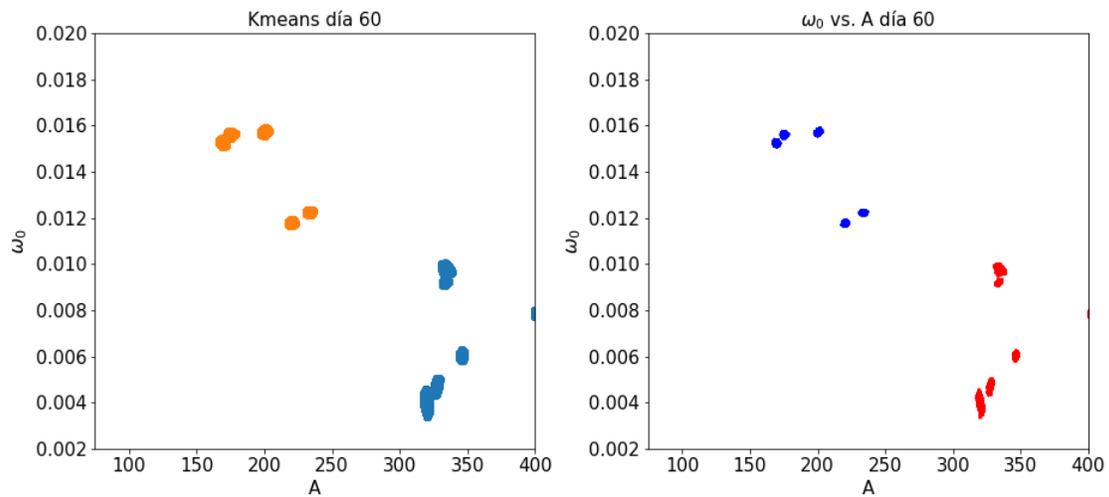


Figura D.4: Kmeans para el día 60; grupo control - naranja, grupo con dieta alta en grasas - azul