



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ciencias Naturales

Licenciatura en Microbiología

“Interpretación matemática sobre comportamientos de *Caenorhabditis elegans* a lo largo del tiempo”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de:

LICENCIADO EN MICROBIOLOGÍA

Presenta:

JOSÉ ANTONIO CARRACEDO GONZÁLEZ

Director de Tesis: Dr. Roberto Carlos Álvarez Martínez

Dirección General de Bibliotecas de la UAQ



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales

“Interpretación matemática sobre comportamientos de Caenorhabditis elegans a lo largo del tiempo”

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Licenciado en Microbiología

Presenta:

José Antonio Carracedo González

Dirigido por:

Roberto Carlos Álvarez Martínez

Dr. Roberto Carlos Álvarez Martínez
Presidente

Firma

Dr. Fausto Arellano Carbajal
Secretario

Firma

Dra. Etzel Garrido Espinosa
Vocal

Firma

Mtro. Aldo Arturo Téllez García
Vocal

Firma

Centro Universitario
Querétaro, Qro.

Fecha

México

Querétaro, Qro., a 9 de marzo de 2021.

Dedicatorias

A mis papas y mis hermanos

Dirección General de Bibliotecas de la UAQ

Agradecimientos

A Roberto y Fausto que me apoyaron a mí y al proyecto desde que surgió la idea.

A Etzel que cambio mi punto de vista de la estadística con sus sugerencias y observaciones.

A Aldo por sus sugerencias a la redacción y el formato.

A mis compañeros de la generación por todo el apoyo mutuo que tuvimos a lo largo de la licenciatura.

Dirección General de Bibliotecas de la UAQ

Resumen

Debido a la gran acumulación de datos empíricos sobre diversos sistemas biológicos, desde hace unos años se ha recurrido al uso de modelos matemáticos para darle sentido a toda esta información que se ha generado recientemente. Estos modelos se han utilizado en áreas que van desde la biología molecular hasta la epidemiología, volviéndose una herramienta cada vez más indispensable, pero con mucho potencial sin aprovechar (como la elaboración de macromodelos). Un organismo ideal para la elaboración de modelos es el nematodo *Caenorhabditis elegans*, ya que se conocen muchos de sus procesos biológicos (como el envejecimiento) y sus características físicas lo hacen ideal para evaluar su ciclo de vida y comportamientos. El objetivo de este trabajo es medir los comportamientos de *C. elegans* (por bioensayos) y ajustar estos datos a un modelo matemático, para establecer mediante una metodología -conocida como regresión simbólica- que eventualmente contribuya a formar un macromodelo. En esta tesis se presenta un modelo de los comportamientos de bombeo faríngeo y defecación (a 20 y 15 °C) en *C. elegans*. Para el comportamiento de bombeo a 15 °C se utilizó un modelo matemático inspirado de la física clásica: el oscilador armónico amortiguado, mientras que para el comportamiento de defecación a 15 y 20 °C se utilizó un modelo de saturación. Estos modelos se determinaron con base a las soluciones de la regresión simbólica y se ajustaron por medio de una regresión no lineal, para ajustar los parámetros de acuerdo a un análisis estadístico. Además, se determinó que el modelo de oscilador armónico amortiguado pertenece a la clase sobreamortiguada, lo cual indica que el sistema no oscila, pero es posible que en otras condiciones pueda estarlo (como la inducción de un ciclo circadiano o ultradiano). Estos modelos proveen una nueva forma de entender los comportamientos y el modelaje matemático, así como una nueva metodología que podría incluso formular nuevas hipótesis.

Abstract

Due to the considerable accumulation of empirical data on various biological systems, mathematical models have made sense of this information in recent years. These models have been used in areas ranging from molecular biology to epidemiology, becoming an increasingly indispensable tool, but with much-untapped potential (such as the development of macro-models). An ideal organism for modeling is the nematode *Caenorhabditis elegans*. It is known in many of its biological processes (such as aging), and its physical characteristics make it ideal for evaluating its life cycle and behaviors. This work aims to measure the behaviors of *C. elegans* (by bioassays) and fit these data to a mathematical model to establish through a methodology - known as symbolic regression - that it eventually contributes to the formation of a macro-model. In this thesis, a model of pumping and defecation behaviors (at 20 and 15 ° C) in *C. elegans* is presented. For the pumping behavior at 15 ° C, a mathematical model inspired by classical physics was used: the damped harmonic oscillator model. The defecation behavior at 15 and 20 ° C was a saturation model. According to statistical analysis, these models were determined based on the symbolic regression solutions and were fitted using non-linear regression to adjust the parameters. Furthermore, it was determined that the damped harmonic oscillator model belongs to the overdamped class, which indicates that the system does not oscillate. Still, it may be oscillating (such as the induction of a circadian or ultradian cycle). These models provide a new understanding of behaviors and mathematical modeling and a new methodology that could formulate new hypotheses.

Índice

1. Introducción	6
2. Revisión de bibliografía	8
2.1. Proceso del modelaje matemático en sistemas biológicos.....	8
2.1.1. Ejemplos de modelaje matemático.....	9
2.1.2. Sistemas de regresión.....	11
2.1.3. Otros modelos.....	13
2.2. <i>Caenorhabditis elegans</i> como modelo de estudio.....	14
2.2.1. Respuesta a cambios de temperatura.....	15
2.2.2. Envejecimiento.....	17
2.2.3. Temperatura y envejecimiento.....	20
2.2.4. Comportamientos neuromusculares.....	23
2.3. Modelaje en <i>C. elegans</i>	26
3. Metodología	28
3.1. Ensayos con <i>Caenorhabditis elegans</i>	28
3.1.1. Ensayos de comportamiento.....	28
3.2. Estadística.....	30
3.3. Elaboración de los modelos.....	31
4. Resultados	34
4.1. Ensayos.....	34
4.2. Progenie y coleteo.....	38
4.3. Soluciones.....	39
4.4. Modelos.....	39
4.4.1. Estimación del modelo.....	39
4.4.2. Ajuste de los modelos.....	41
5. Discusión	47
5.1. Uso de regresión simbólica.....	47
5.2. Determinación de los modelos.....	47
5.3. Interpretación de los modelos.....	47
5.4. Posibles usos.....	50
6. Perspectivas y conclusiones	51
7. Anexo: Otros ensayos	53
8. Anexo: Estadísticas	55
9. Anexo: Modelos y soluciones	62
9.1. Soluciones de regresión simbólica.....	62
9.2. Modelos de regresión simbólica.....	68
9.3. Modelo de oscilador armónico amortiguado.....	74
9.4. Modelo de saturación.....	75
9.5. Otras gráficas y estadísticas.....	76
10. Anexo: Programas computacionales diseñados	82
11. Referencias	83

1. Introducción

Actualmente existe una gran cantidad de datos empíricos, obtenidos a lo largo de décadas, sobre componentes biológicos (genes, enzimas, factores de transcripción, entre otros). Toda esta información es difícil de interpretar por sí sola, por lo cual se ha recurrido al uso de modelos matemáticos para poder entenderla mejor. Estos modelos nos permiten un análisis sistemático de los elementos que componen un proceso biológico, para así poderlo ver y entender como lo que es: un sistema complejo (Lazebnik, 2002).

Los modelos matemáticos han sido utilizados ampliamente en los últimos años en: epidemiología (Grassly y Fraser, 2008), en modelos de poblaciones (tipo depredador-presa y otras relaciones ecológicas) (Takeuchi et al., 2006), así como en procesos moleculares y celulares (Stelling, 2004). En todas estas áreas se han generado modelos con una gran relevancia biológica, con resultados que habría sido casi imposible obtener por otras vías. Aunque el modelaje matemático es una herramienta muy poderosa tiene sus limitaciones. En primer lugar porque un investigador en el área biológica no suele estar familiarizado con el área matemática y un investigador en el área matemática no suele estar familiarizado con el área biológica. Esta circunstancia obstaculiza mucho la aplicación de modelos matemáticos a sistemas biológicos, lo cual nos lleva al segundo punto: aún se desconoce el máximo potencial que puede tener esta herramienta. Hasta la fecha se han llevado a cabo muy pocos intentos para elaborar un macromodelo, es decir un modelo que abarque las escalas molecular, celular y fisiológica de un organismo y pueda explicar en su totalidad el sistema de un individuo (Karr et al., 2012).

Elaborar un macromodelo es una tarea complicada, teniendo en cuenta que cualquier organismo contiene en su genoma un amplio repertorio de elementos como son las enzimas, factores de transcripción, segundos mensajeros y receptores, entre otros. Estos a su vez dan lugar a una gran variedad de líneas celulares que forman tejidos con diferentes funciones. Es por estas razones que es importante elegir un buen organismo modelo. Tal es el caso del nematodo *Caenorhabditis elegans*, del que además de conocerse su genoma (Shaye & Greenwald, 2011), su conectoma (Jarrell et al., 2012; Towlson et al., 2018) y parte de su metaboloma (Gao et al., 2017), es un organismo de fácil mantenimiento y corto ciclo de vida (se desarrolla completamente en 52 horas) (Stiernagle, 2006). Además, es transparente y esto facilita mucho estudiar su fisiología (como sus comportamientos neuromusculares) (Feinberg et al., 2008; Towlson et al., 2018). Por si fuera poco, es uno de los escasos ejemplos de macromodelo que se ha intentado hacer (McMullen et al., 2012). Este ejemplo consistió en modelar el proceso molecular de la espermatogénesis y la fertilización, para que los resultados se ajusten a los datos experimentales del comportamiento de oviposición.

Este modelo es solo uno entre la gran variedad de posibilidades que tiene *C. elegans*. Una de las opciones que ofrece el modelaje matemático es el uso de ecuaciones diferenciales (Avery et al., 2018), las cuales permiten analizar una variable a lo largo del tiempo, por medio de una ecuación matemática. Una buena alternativa para usar este tipo de modelaje es el envejecimiento, ya que en *C. elegans* se conoce una gran variedad de elementos moleculares (como los genes *daf-2* y *daf-16*) (Uno y Nishida, 2016; Liu et al., 2017) y vías de señalización (como la autofagia y la vía IIS) (Dall y Færgeman, 2019; Son et al., 2019) asociadas al envejecimiento. Para poder analizar este proceso, dentro de un modelo matemático, se necesita de una variable que se vea

perjudicada por el envejecimiento. Este es el caso de los comportamientos neuromusculares (como: bombeo, defecación, coleteo y oviposición) (Collins et al., 2007; McGhee, 2007; Avery y You, 2012), que se ven perjudicados conforme el gusano envejece. Otra variable de interés es la temperatura, ya que afecta tanto al envejecimiento como a los comportamientos (Shen et al., 2010; Zhang et al., 2015;), además es una variable fácil de modificar, que puede alterar la complejidad del modelo y ponerlo a prueba.

Un modelo de comportamiento es una buena opción para encaminarse a un macromodelo, ya que existen muy pocos modelos que manejan esta escala y es una buena alternativa para integrar fenotipo molecular con el fenotipo fisiológico. Pero para hacer un modelo de estas características es necesario contar con las herramientas adecuadas, una de ellas es la regresión simbólica que, como cualquier regresión, consiste en ajustar una nube de datos a una recta, curva o cualquier otra forma representada por una ecuación, con los mejores parámetros (Rawlings et al., 1998). La diferencia con la regresión simbólica es que no se basa en un tipo de solución específica, sino que por medio de un algoritmo genético busca las soluciones que mejor se ajustan a los datos (Quade et al., 2016); de estas soluciones se pueden obtener las ecuaciones diferenciales que corresponden al modelo de dicha solución.

Aunque es una herramienta muy poderosa, la regresión simbólica puede arrojar soluciones con poca relevancia biológica. Es por eso que se puede recurrir al ajuste de modelos específicos ya definidos, como el modelo de Lotka-Volterra, el modelo de Gompertz (Xu, 1987; Takeuchi et al., 2006). Un modelo muy conocido en la cinética enzimática es el modelo de saturación, en donde hay un aumento exponencial que se detiene en un punto y se suspende en lo que se conoce como saturación (Bartels et al., 2002). Otro modelo menos conocido es el modelo de oscilador armónico amortiguado, que como un oscilador simple (seno, coseno) cambia de acuerdo a una frecuencia, con la excepción de que existe una fuerza que ejerce fricción sobre el sistema y debido a la intensidad de esa fricción, el sistema puede acercarse a su punto de equilibrio oscilando o sin oscilar (Rosenau da Costa et al., 2000).

El objetivo de este trabajo fue obtener los datos de los bioensayos de los comportamientos de bombeo y defecación a 20 °C y 15 °C, en *C. elegans*, luego obtener los modelos más cercanos a los datos de los comportamientos, con la finalidad de implementar el uso de nuevas metodologías como la regresión simbólica y el modelaje de los comportamientos, así como para establecer las bases de este tipo de modelos en la futura elaboración de macromodelos. Aunque no se esperaba, también se logró implementar el uso de los modelos de saturación y de oscilador armónico amortiguado en el modelaje de los comportamientos.

2. Revisión de bibliografía

2.1 Proceso del modelaje matemático en sistemas biológicos

Como ya se mencionó antes, el gran aumento de investigaciones que describen y definen nuevos elementos en sistemas biológicos ha generado tal cantidad de información, que resulta muy complicado (por no decir imposible) de analizar e integrar por medio de métodos tradicionales como son la observación y estadística, existe una gran variedad de relaciones e interacciones entre los distintos elementos que componen un sistema biológico, en donde un solo elemento puede diferir ampliamente su interacción con otros elementos y dicha interacción aún puede variar por condiciones como tiempo, espacio y entorno. Para hacer un análisis con todos estos factores al mismo tiempo, una de las formas más efectivas consiste en utilizar un modelo matemático. A continuación se muestra cómo es su elaboración.

Motta y Pappalardo,(2012) sugieren que la metodología para elaborar un modelo sea la siguiente: El primer paso es definir los objetivos del modelo. Ya que no es viable realizar un modelo que integre la totalidad de elementos que componen un sistema biológico, es necesario delimitar la cantidad de elementos y factores a tomar en cuenta dependiendo de los objetivos. Estos mismos objetivos son los que al final nos ayudarán a determinar la escala del modelo (molecular, celular, o macroscópica) y si el modelo se ajusta a la realidad .

Una vez definidos los objetivos es necesario conocer la información existente sobre el tema haciendo una revisión bibliográfica. Luego, se pueden definir las siguientes tres propiedades: realismo, precisión y generalidad. Ahora se puede hacer la formulación matemática, esta depende del tipo de modelo que se ha escogido, pero es importante tener en cuenta que el modelo debe limitar su complejidad y ser computable. Cumplidos estos requerimientos se puede proceder a la estimación de parámetros, esto puede hacerse por ajuste de la información (reducción de la incertidumbre de los datos experimentales) o por estimación con datos de sistemas similares.

Finalmente se prueba y ajusta el modelo. Lo primero es la calibración de parámetros. Esto se hace comparando los resultados con datos experimentales, si hay un desajuste se modifican los parámetros hasta que el modelo represente lo que ocurre en la realidad.. Este procedimiento suele ser revelador, ya que las discrepancias tienden a señalar un elemento o parámetro que es relevante para el sistema biológico y que de otra forma no habría sido posible determinarlo. Todos los pasos de este procedimiento se pueden ver esquematizados en la Figura 1.

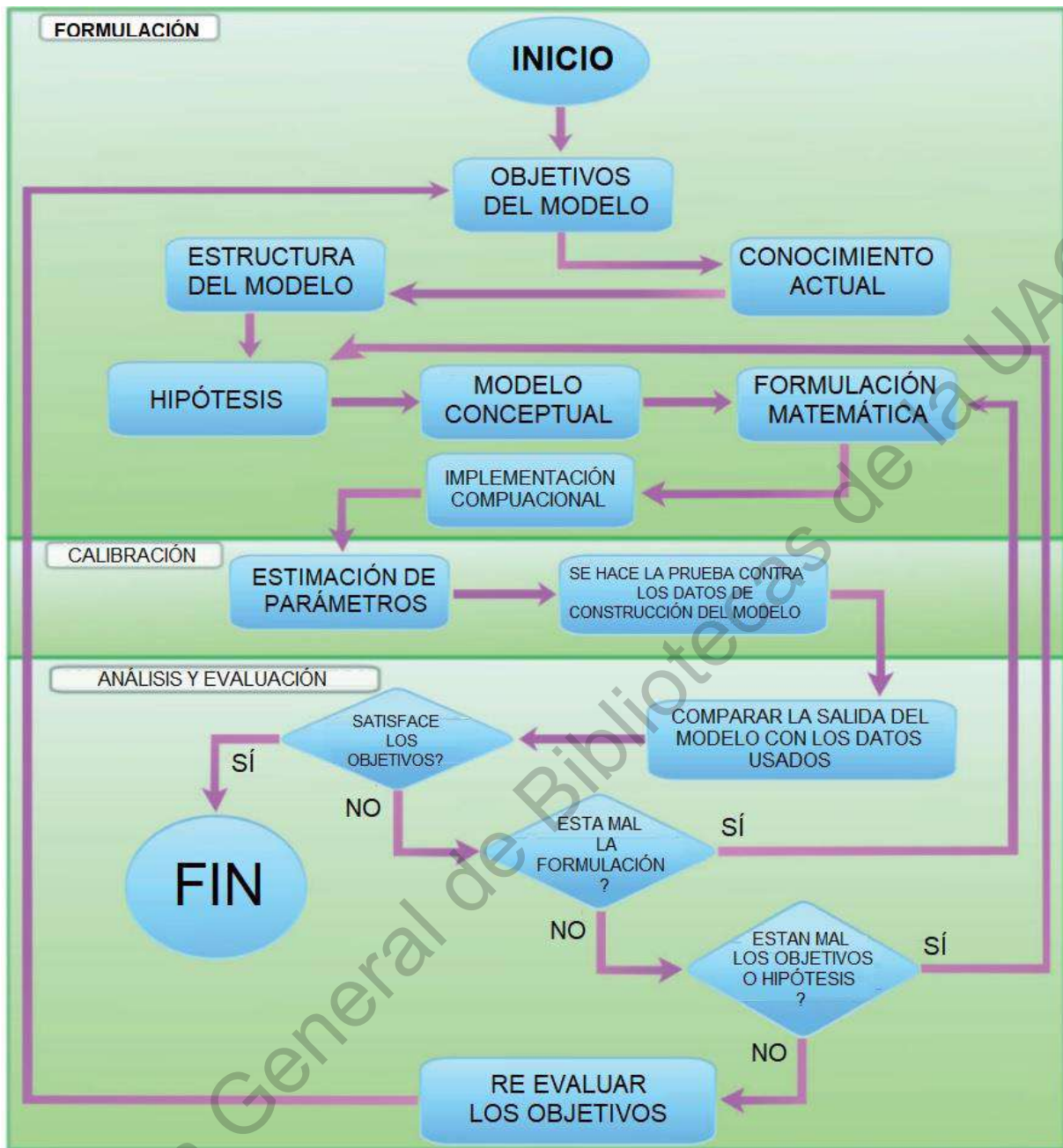


Figura 1. Proceso del modelaje matemático. Descripción del proceso de modelaje, arriba se muestra el procedimiento a seguir durante la formulación, en el medio el proceso de calibración y abajo el análisis donde se determina si el modelo es representativo. Figura tomada y modificada de Motta y Pappalardo, (2012).

2.1.1 Ejemplos de modelaje matemático

Existen múltiples áreas de la biología y microbiología en las que se ha recurrido al uso de modelos matemáticos. Uno de los primeros casos de éxito es el de Hodgkin y Huxley, (1952), que estudiaron el axón del calamar gigante y crearon el modelo de Hodgkin y Huxley, el cual consiste en cuatro ecuaciones diferenciales ordinarias que definen el potencial de acción en células como las neuronas y dan una aproximación a sus propiedades eléctricas. Este descubrimiento dio origen

a la fisiología cuantitativa y motivó estudios posteriores para aplicar estas ecuaciones diferenciales al sistema cardiovascular (Glynn et al., 2014).

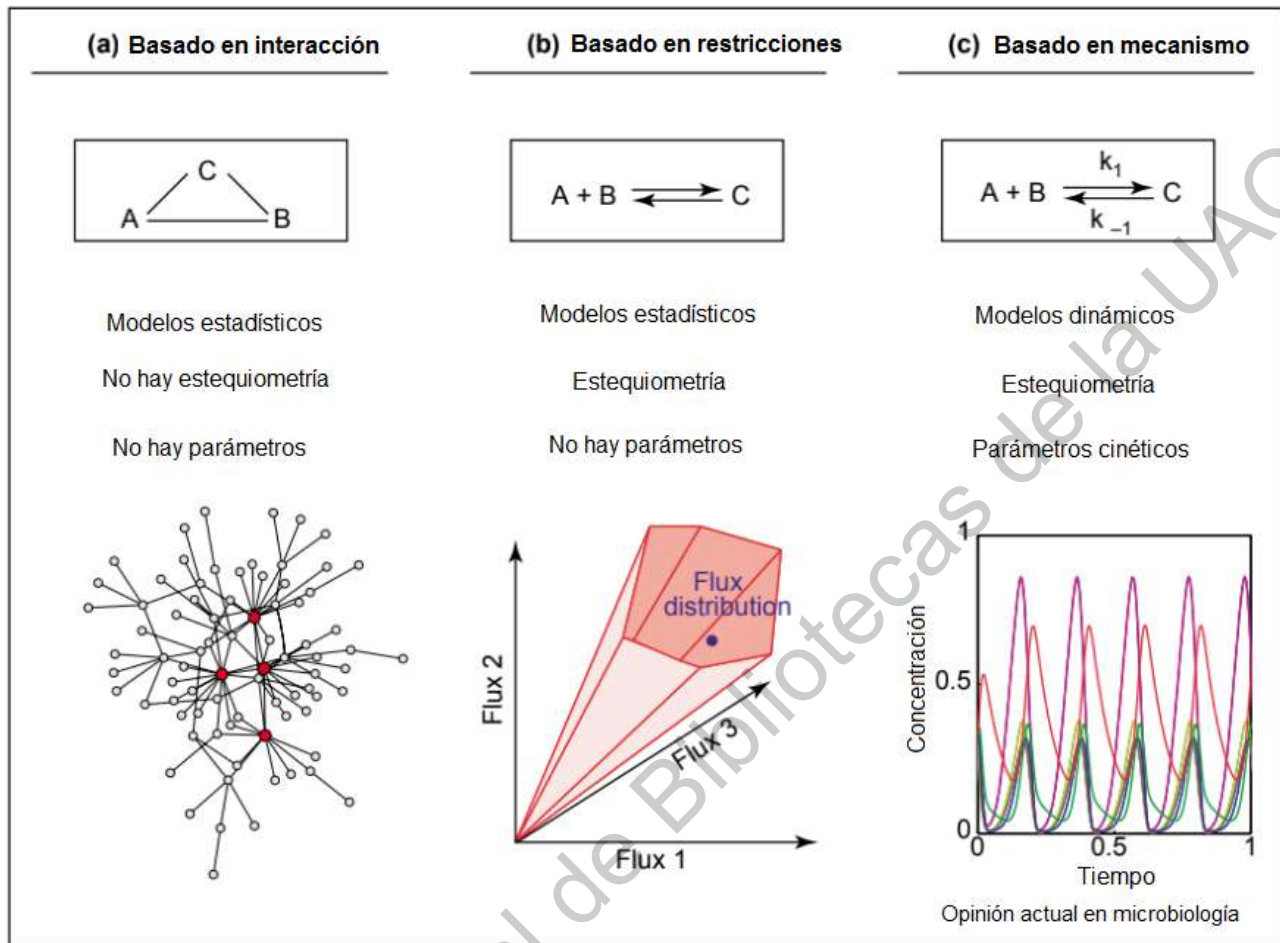


Figura 2. Tipos de redes. Se muestran los distintos tipos de modelos con los que se puede realizar una red. (a) Muestra la escala más grande basada en interacciones y se analiza la topología. (b) Es la segunda escala, donde ya hay más limitaciones como dirección en las interacciones o estequiometría. (c) En la última escala hay parámetros muy específicos que definen detalladamente la cinética de las interacciones. Figura tomada y modificada de Stelling, 2004

Un ejemplo más preciso sobre este aumento de complejidad se da en el estudio a nivel celular, ya que se ha implementado el uso de diferentes modelos de redes biológicas para diferentes escalas (tamaño de la red), comenzando por la escala más grande, en donde se incluye la mayor cantidad de elementos (enzimas, factores de transcripción y segundos mensajeros, entre otros) y solo se toma en cuenta cuáles elementos interactúan entre sí y no otros factores, como la intensidad de la interacción (Barabási & Oltvai, 2004). Aquí lo que interesa analizar es la topología de la red (creada a partir de algoritmos) para entender cómo se agrupan los elementos constitutivos y cómo funciona el sistema (Figura 2a). Una estrategia que se ha aplicado recientemente es la búsqueda de motivos, los cuales son pequeños grupos de conexiones que se repiten más de lo que deberían aparecer por azar en toda la red, mostrándose como un fenómeno emergente que no ocurre en redes aleatorias (Alon, et al., 2002). En la siguiente escala se toma en cuenta la estequiometría de las interacciones, ahora la red tiene diferentes estados posibles dependiendo del tipo de

interacción que se está llevando a cabo por algunos elementos; esta escala intermedia limita el tamaño de la red a una ruta metabólica o proceso celular específicos. A pesar de ser una red más limitada define nuevas propiedades del sistema (Figura 2b.). En la última escala aparecen los parámetros que convierten al modelo en cuantitativo al añadir tasas de interacción o de degradación de algunos elementos, permitiendo hacer hipótesis muy concretas que son comprobables a nivel experimental (debido a estas propiedades cuantitativas). Debido a estas características, esta escala es la más detallada; sin embargo no abarca todos los elementos del sistema (otros elementos de la red) (Figura 2c.). Se espera que al estudiar la célula en estas tres escalas se pueden modelar las tres juntas (Stelling, 2004).

Por último, aunque no se agota con ello la utilidad de los modelos, está la epidemiología matemática, un área con extenso uso de modelos matemáticos, cuyo uso casi se remonta a los orígenes de la epidemiología misma como una disciplina científica (Grassly y Fraser, 2008). Hoy en día existe una gran variedad de modelos que van desde poblaciones (Lipsitch, 2003) hasta interacciones del patógeno con las células del huésped (McKenzie et al., 2002). En la actualidad estos modelos son de gran utilidad, ya que al determinar, de una forma cuantitativa, cómo es el contagio entre individuos, comunidades y poblaciones grandes, se pueden hacer predicciones por medio de ecuaciones diferenciales que ayudan a evaluar la situación y a determinar el uso de medidas preventivas. Asimismo, estas ecuaciones también pueden contener parámetros que indiquen la efectividad de una medida de prevención o tratamiento, también pueden incluir poblaciones de vectores de transmisión como los mosquitos. Gracias a la información disponible es posible hacer modelos tan complejos como sea necesario (Grassly y Fraser, 2008). Al igual que los ejemplos anteriores, es recomendable la selección del modelo más simple que mejor explique el sistema, ya que una complejidad excesiva daría lugar a un modelo muy preciso, pero analíticamente y/o computacionalmente irresoluble.

Entre todos estos ejemplos y técnicas se puede apreciar que hay una gran cantidad de áreas en las que se ha recurrido al uso de modelos matemáticos y cómo estos modelos pueden ajustarse a la realidad e incluso predecirla pero, por sobre todo, proveen nuevos puntos de vista e interpretaciones de extensas cantidades de datos que de otra forma habría sido imposible conseguir.

2.1.2 Sistemas de regresión

Otras técnicas que se pueden utilizar, tanto en modelaje como en estadística, son los sistemas de regresión. Estas técnicas son útiles cuando, en un fenómeno o sistema, se tiene una variable dependiente y una independiente, de las cuales se quiere determinar si existe una relación entre ellas. La variable dependiente suele ser una característica o comportamiento variable, mientras que la variable independiente suele ser una condición constante, que se puede modificar (como tiempo o temperatura) a la que está sometida la variable dependiente. En un sistema de regresión estas dos variables se pueden representar en un plano, correspondiendo el eje X a la variable independiente y el eje Y a la variable dependiente, de modo que para cada valor en X hay un valor en Y; si existe una tendencia se puede determinar que hay una relación, la cual se ajusta a una ecuación matemática que la describe (Rawlings et al., 1998).

Al definir la relación entre estas dos variables los sistemas de regresión no sólo determinan esta relación, sino que también modelan el comportamiento dentro de la ecuación matemática. El sistema más sencillo, dentro de los sistemas de regresión, es el de regresión lineal simple, en

donde se ajusta la nube de puntos a una línea recta y se obtienen, los mejores estimadores y la ecuación de la recta:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i$$

En donde β_0 es el valor de Y cuando X es igual cero, y β_1 es la pendiente de la recta o la tasa de cambio de Y por unidad de X.

El siguiente sistema, considerando su complejidad es la regresión lineal múltiple, en donde hay más de una variable independiente y se describe el efecto de cada variable:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \beta_3 X_{i3} + \dots + \beta_p X_{ip}$$

En donde cada variable (X_{ip}) tiene su propia tasa de cambio (β_i). Esto es de gran utilidad ya que, en escasas ocasiones, un fenómeno u organismo en estado natural va a ser alterado por una única variable, permitiendo una interpretación más realista (Uyanık & Güler, 2013).

Sin embargo, pocas veces un sistema biológico va a ser modelado por una ecuación lineal pues, aunque son más simples y pueden utilizarse para predicciones, son menos comunes en la naturaleza. Para contrarrestar estos defectos se puede optar por utilizar ecuaciones no lineales, tomando como base una regresión no lineal. A diferencia de las ecuaciones lineales, las ecuaciones no lineales pueden ajustar curvas u otras formas, siendo más que una suma de las interacciones; por ejemplo, el modelo de crecimiento exponencial:

$$Y_i = \alpha e^{\beta t_i}$$

Este tipo de regresión puede contener, en sus ecuaciones: funciones de las variables independientes, exponentes, divisores y funciones trigonométricas, así como diversas combinaciones de estos elementos. Pero la selección de un modelo para esta regresión no es tan simple, ya que existe una gran variedad de modelos que podrían ajustarse. Algunos ejemplos conocidos son: modelo de crecimiento de Mitscherlich, modelo de crecimiento monomolecular, modelo polinomial inverso, modelo de crecimiento de Gompertz, modelo de Weibull y los modelos polinomiales segmentados (Milliken, 1990).

Ajustar los datos de un experimento u observación a cualquier tipo de regresión puede resultar una tarea difícil, ya que las relaciones entre las variables llegan a ser complicadas, pero existen diversas herramientas informáticas que solucionan este problema rápidamente. Una de estas herramientas es la regresión simbólica que, a diferencia de las otras regresiones, no sigue un sistema específico; este método utiliza una rama de la inteligencia artificial, conocida como *machine learning*. En regresión simbólica se utiliza específicamente programación evolutiva con un algoritmo genético. Lo que hace este algoritmo es buscar el modelo que mejor se ajuste a los datos, probando varias soluciones y seleccionando las que mejor interpreten los datos. A partir de estas soluciones crea combinaciones para llegar a resultados más ajustados. Al final se obtienen las soluciones que mejor se ajustan a los datos y tienen el menor nivel de complejidad, pudiendo ser desde modelos lineales simples hasta los modelos no lineales más complicados (Quade et al., 2016).

2.1.3 Otros modelos

Modelo de oscilador armónico amortiguado

Existen muchos modelos que describen fenómenos naturales y son estudiados en el área de la física. Algunos de esos modelos físicos se han llegado a aplicar diversos sistemas biológicos, para explicar sus características físicas y químicas. Un modelo que se evalúa en este trabajo es el modelo de oscilador armónico amortiguado, que se representa con la siguiente ecuación:

$$y = (e^{-\gamma t})(y_0 \times \cos(\omega t))$$

En donde γ es el coeficiente de fricción, que determina qué tan rápido llega a su punto estable el sistema, t es el tiempo, y_0 es el valor inicial y ω es la frecuencia con que oscila el sistema. Debido al coeficiente de fricción este sistema no oscila infinitamente, este parámetro es lo que diferencia este modelo de un modelo de oscilación simple. Al igual que el parámetro ω puede modificar la frecuencia de oscilación, por su tamaño, el coeficiente de fricción γ define la velocidad a la que ocurre el amortiguamiento (momento al que el sistema se mantiene en 0 o alcanza su punto de equilibrio), si es demasiado grande puede detener las oscilaciones y definir el modelo como un oscilador sobreamortiguado (Figura 3) o como un oscilador de amortiguamiento crítico, si la fricción es muy grande. Pero si este parámetro es pequeño el sistema oscila hasta llegar al punto de equilibrio, esta característica define al modelo como un oscilador subamortiguado (Rosenau da Costa et al., 2000) (Figura 3).

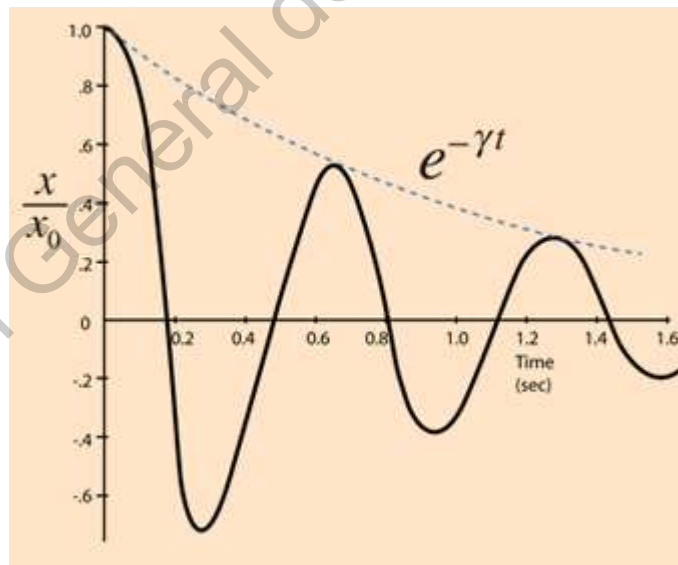


Figura 3. Oscilador armónico amortiguado. Ejemplo de los tipos de oscilador armónico amortiguado, en la línea negra se encuentra el oscilador subamortiguado, en la línea azul el oscilador sobreamortiguado. Imagen modificada de *HyperPhysics Concepts*, s/f.

Modelo de saturación

El modelo de saturación consiste en que un sistema tiene un incremento exponencial hasta llegar a su umbral en donde deja de aumentar y se suspende en esa concentración o cantidad. La ecuación de este modelo es la siguiente :

$$D = (A_F - A_0)(1 - e^{\beta t}) + A_0$$

En donde A_F es el punto de saturación, A_0 es el punto inicial y β es coeficiente que regula la velocidad con que se llega al punto de saturación (Bartels et al., 2002).

2.2 *Caenorhabditis elegans* como modelo de estudio

Dos de las principales razones para escoger a *C. elegans* como modelo de estudio son su fácil mantenimiento y su corto ciclo de vida, además existe una gran variedad de características que lo hacen el organismo ideal para el modelaje matemático de comportamientos (Feinberg et al., 2008; Towlson et al., 2018).

Comenzando por sus características generales, *C. elegans* es un nematodo de vida libre que puede encontrarse fácilmente en diversas partes del mundo. Mide un milímetro en su forma adulta mientras que las larvas más jóvenes miden 0.25 milímetros (Figura 4B.). Es transparente (lo cual es una ventaja para observar sus comportamientos fisiológicos) (Figura 4C.) y es un organismo con una población mayoritariamente hermafrodita en la que menos del 0.2% son machos. Esto último es de gran utilidad, ya que al ser mayoritariamente hermafroditas, hay muy poca (casi nula) reproducción sexual y esto promueve una variabilidad genética muy baja, por esta misma razón actualmente se conoce la cantidad exacta de células que lo constituyen y el tipo. Por ejemplo, cada adulto hermafrodita tiene 302 neuronas de las cuales se conocen sus formas y conexiones y las diferencias que tienen las conexiones de los hermafroditas con las conexiones de los machos (Jarrell et al., 2012).

Entre las propiedades para su mantenimiento se destacan sus pocos requerimientos: una incubadora y placas con agar NGM y alimento (*Escherichia coli*) (Figura 4A.). También destaca su ciclo de vida corto (en 52 horas pasa de L1 a adulto). El hecho de que con un solo gusano se pueda obtener toda una población, su resistencia a la falta de alimento como larva dauer de al menos un mes, así como su resistencia al congelamiento por periodos incluso de varios años, ofrecen la posibilidad de mantener cepas por mucho tiempo a un bajo costo (Institut de Biologie du Développement de Marseille-Luminy, CNRS, France & Barrière, 2014).

Teniendo en cuenta que es fácil de observar, mantener y que sus poblaciones tienden a ser homogéneas conviene preguntarse: ¿Cuál es la relevancia del estudio de este nematodo? El primer punto es que entre el 60% y el 80% de los genes humanos tienen un ortólogo en *C. elegans* y se predice que cerca de un 38% de los genes conocidos, asociados a enfermedades, tienen un ortólogo con *C. elegans* (Shaye & Greenwald, 2011); esto ya suma una importancia médica y también tiene una importancia evolutiva ya que esta especie tiene un sistema nervioso, músculos y aparato digestivo que son mucho más simples que el de un mamífero y, por lo tanto, son más fáciles de comprender. Por si fuera poco también son excelentes modelos en genética, debido a su fácil manipulación con la intención de generar nuevas mutantes y que estas cepas se pueden aislar para producir fácilmente una población homogénea (Corsi et al., 2015). Por todas estas

razones es un modelo sobre el que se pueden formular una gran cantidad de preguntas de investigación relevantes.

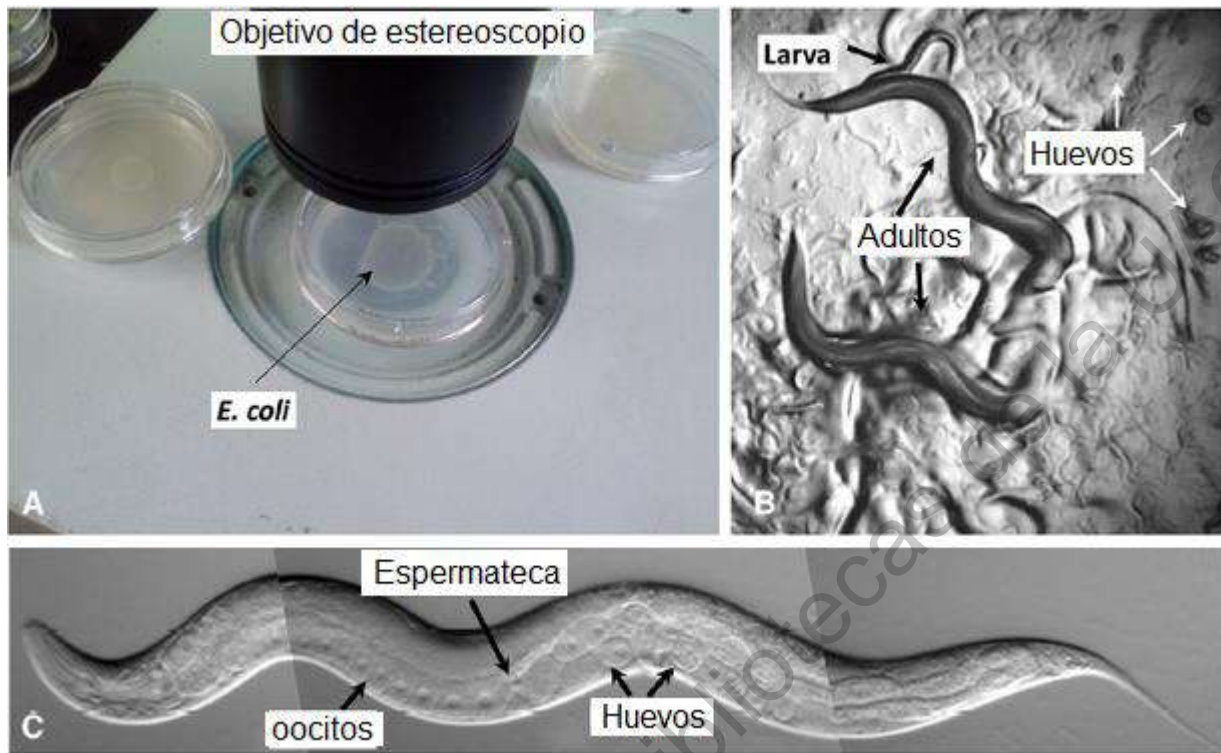


Figura 4. Aspecto de *C. elegans*. (A) Se muestra a *C. elegans* en sus placas de cultivo con *E. coli*. (B) Gusanos adultos y larvas vistos desde estereoscopio. (C) Gracias a su transparencia pueden verse los órganos en su interior. Figura tomada y modificada de Corsi et al (2015).

2.2.1 Respuesta a cambios de temperatura

Una de las condiciones que requiere de un control estricto en este modelo es la temperatura. A pesar de que este gusano puede crecer con normalidad en un rango de temperatura de 15 °C a 25 °C, puede detectar diferencias tan pequeñas como 0.05 °C (Hedgecock & Russell, 1975). Cuando cambia la temperatura a la que este organismo se encuentra ocurren múltiples cambios a nivel fisiológico y de comportamiento, uno de estos cambios es la alteración de la composición de los ácidos grasos, por ejemplo: a temperatura baja (15 °C) las concentraciones de fosfatidilcolina aumentan mientras que las concentraciones totales de lípidos disminuyen (Tanaka et al., 1996).

Pero, ¿cómo puede *C. elegans* detectar cambios en la temperatura y responder a ellos? En 1975, Hedgecock y Russell realizaron un experimento en el que gusanos, criados a una temperatura específica, eran colocados en medio de cultivo con un gradiente escalonado a 0.5 °C por centímetro; cuando los gusanos habían crecido a altas temperaturas se dirigían a las temperaturas altas en el gradiente; pero se dirigían a temperaturas frías cuando habían crecido a temperaturas frías. Esto mostró que los gusanos pueden percibir la temperatura y recordarla para alterar su comportamiento (lo cual se conoce como el comportamiento de termotaxis). Recientemente se ha logrado describir parte del mecanismo con el que esto ocurre, existen tres neuronas anfidas (de la cabeza) que perciben la temperatura: AFD, AWC y ASI. La neurona AFD es una neurona de percepción térmica mientras que AWC y ASI además de la percepción térmica, perciben odorantes

y feromonas respectivamente. Estas neuronas tienen comunicación con las interneuronas AIY y AIZ que emiten estas señales a otras neuronas responsables de los cambios de comportamiento (Figura 5) (Kimata et al., 2012).

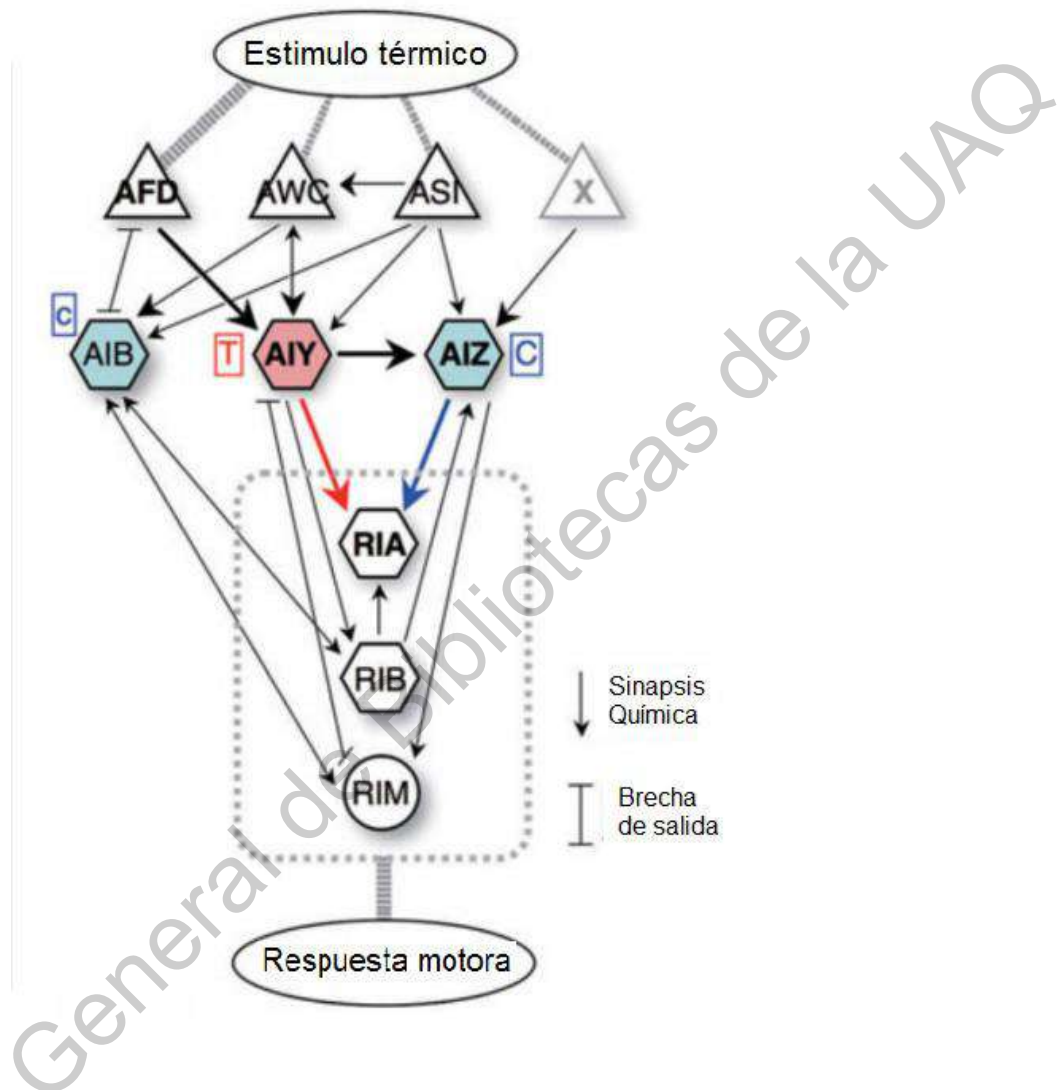


Figura 5. Circuito neuronal de la respuesta a temperatura. En esta figura se muestra el circuito de las neuronas que regulan la respuesta a la temperatura en *C. elegans*. En color rojo se encuentran las neuronas y las sinapsis que generan una respuesta termofílica y en color azul las que generan una respuesta criofílica. Figura tomada y modificada de Kimata et al., (2012).

La comunicación entre estas neuronas tiene una característica destacable: la propiedad de degeneración. La degeneración es una propiedad de los sistemas biológicos, consiste en la capacidad que tiene el sistema de generar las mismas salidas o resultados, a partir de otras vías y elementos cuando las principales no están disponibles. Esta propiedad es contraria a la redundancia, que es la presencia de muchos elementos que desarrollan el mismo procedimiento. Por su parte, en degeneración, elementos alternativos en diversas combinaciones pueden mantener el sistema (Edelman y Gally, 2001). Volviendo a las neuronas, se ha visto que las neuronas termosensibles AFD, AWC y ASI no son necesarias en su conjunto para mantener la

termotaxis, sino que varias combinaciones, en donde falta una neurona, son suficientes para mantener la respuesta, siendo este un claro ejemplo de degeneración con pocos elementos. Posiblemente todo el sistema nervioso de *C. elegans* sea un buen objetivo de estudio para esta propiedad compleja (Ma y Shen, 2012).

El estudio de este efecto no se limita al nivel celular con las neuronas, también se han identificado elementos moleculares como las guanilato ciclasas y los receptores tipo guanilato ciclasas: GCY-8, GCY-18 y GCY-23. Se ha demostrado que un defecto en cualquiera de estos tres receptores es suficiente para causar deficiencias en la percepción de temperatura de AFD, mientras que para la transmisión de esta información, a otras neuronas, se ha visto que la pérdida de la diacilglicerol quinasa DGK-3 no cambia los flujos de calcio en respuesta a la temperatura, pero si la respuesta fisiológica y de comportamiento a ésta (Kimata et al., 2012). También se ha visto, que en esta neurona los receptores específicos para guanilato ciclasas (rGCs), son necesarios y suficientes en AFD para tener una respuesta robusta a la temperatura (Takeishi et al., 2016). Por último, tenemos la neurona AWC en la que también se ha descrito la transducción de señales de temperatura por medio de vías asociadas a proteínas G y guanilato ciclasas (como ODR-1). Aquí hay una situación destacable y es que esta neurona también percibe odorantes y lo hace por la misma vía hacia la misma neurona: AIY, que también recibe las señales de AFD sobre temperatura. La pregunta es: ¿cómo logran discriminar estas dos neuronas entre un tipo de señal y otra si la vía es la misma? Aún no se sabe la respuesta, pero se cree que es por la variación de la intensidad de la señal a causa de las diferentes concentraciones de calcio entre ambas respuestas (Kuhara et al., 2011).

Hasta ahora hemos visto la percepción de la temperatura por medio de neuronas anfidias, pero existen otras vías fuera del anfidio. La más resaltante es la que ocurre por medio del factor de transcripción HSF-1, el cual se encarga de la expresión génica inducida por choque térmico, pero su relevancia está en la interacción que tiene con la respuesta fisiológica de la neurona AFD, ya que esta interacción induce a la regulación del comportamiento en intestino y músculos (Sugi et al., 2011). Otro sistema es el inducido por las neuronas multidendríticas PVD y FLP que envuelven todo el cuerpo del gusano y responden a frío extremo y al estímulo de choque térmico respectivamente (Chatzigeorgiou et al., 2010). Otro sistema posible es por medio de células no neuronales, aún no se ha encontrado evidencia pero se ha visto que la aerotaxis (movimiento a zonas por preferencia de concentraciones de oxígeno) ocurre por medio de las células endocrinas uv1 (Leiser et al., 2016).

Aunque aún no se define en su totalidad el mecanismo o mecanismos que responden a la temperatura y sus cambios, queda claro que este organismo puede percibir esta variable y, entre sus respuestas, se puede alterar su fisiología, comportamiento y longevidad.

2.2.2 Envejecimiento

El envejecimiento se puede definir como el deterioro progresivo de tejidos y órganos, a lo largo de la vida de un organismo, hasta producir la muerte; aunque conceptualmente este proceso está bien definido, aún no queda claro cuántos de estos cambios, a lo largo del tiempo, se deben al envejecimiento y cómo contribuyen a la esperanza de vida. De igual forma aún se desconoce si el envejecimiento está programado genéticamente, si es ocasionado por deterioro a nivel génico o si es una mezcla de ambas condiciones. Dentro de todos estos cambios podemos mencionar: comportamientos, reproducción, morfología y metabolismo (o cambios bioquímicos). Todas estas

características son fácilmente cuantificables en *C. elegans* y es un modelo ideal para estudiar envejecimiento, debido a su corto ciclo de vida (Collins et al., 2007).

Comenzando por la escala más grande, está su morfología ya que su volumen y longitud aumentan un 280% y 70% respectivamente entre los días 3 y 14. En este mismo periodo la faringe cambia su forma redonda por un aspecto irregular y comienza a acumular bacteria (del cultivo). Esto ocurre tanto en la faringe como en el intestino, simultáneamente los músculos desarrollan sarcopenia y su desgaste está positivamente correlacionado con los cambios de movilidad. La movilidad es uno de los múltiples comportamientos neuromusculares que tiene este gusano y se ha visto una correlación positiva con la esperanza de vida, pero no todos los comportamientos tienen esta relación aunque sí muestran cambios asociados con la edad. Los comportamientos que muestran esta asociación son: progenie, bombeo y defecación, de los cuales el bombeo también está relacionado con la esperanza de vida (Chow et al., 2006).

En la siguiente escala está el deterioro en tejidos y células, comenzando con el sistema nervioso, no hay efectos relevantes que se hayan asociado a la esperanza de vida; sin embargo, recientemente se han visto cambios a nivel celular en las neuronas como: ampollamiento, ramificación y formación de perlas en las dendritas (Pan et al., 2011; Tank et al., 2011). Todos estos cambios tienen efecto en las capacidades sensoriales y de memoria de este gusano, de la misma forma ocurre la sarcopenia en los sarcómeros del músculo, con la diferencia de que este daño afecta tanto el comportamiento como la esperanza de vida. Otra característica de este efecto es que no todas las células, ni las mismas células en diferentes gusanos, se deterioran a un tiempo definido, mostrando cierto nivel de estocasticidad en el proceso de envejecimiento, mismo que se ve reflejado en un aumento de variabilidad sobre cualquier medición en gusanos con edad avanzada (Herndon et al., 2002). El envejecimiento no sólo es distinguible en los tejidos y en el aspecto de las células, intracelularmente se puede apreciar que el núcleo presenta cambios de tamaño y la mitocondria se torna larga, hinchada y fragmentada. A un nivel aún más pequeño el ADN de mitocondria y núcleo sufren daño con el tiempo. Por otro lado el retículo endoplásmico aumenta el número de proteínas mal plegadas que sintetiza, esto, sumado a la creciente deficiencia de homeostasis proteica, genera agregación de proteínas (Son et al., 2019).

En cuanto a metabolismo, se ha visto una pérdida en el procesamiento de lípidos, conforme estos gusanos envejecen acumulan lípidos en todo el cuerpo (contrario al caso de otros animales, este organismo no tiene adipocitos), con un consecuente efecto lipotóxico. Este efecto ocurre debido a una falta o descenso en el proceso de autofagocitosis, situación que se ve atenuada en condiciones de restricción alimenticia y provoca un aumento en la esperanza de vida, lo anterior hace del metabolismo de lípidos el principal objetivo en el estudio de envejecimiento asociado a metabolismo en *C. elegans* (Dall y Færgeman, 2019). De entre los lípidos que se acumulan está el compuesto lipofuscina el cual no tiene efectos tóxicos, ni afecta la esperanza de vida, pero sirve como un marcador de envejecimiento ya que emite autofluorescencia y aumenta su concentración con el tiempo (Son et al., 2019).

Dentro del proceso de autofagia dos de las vías de señalización más importantes, para su regulación son las vías mTOR y la vía de factor de crecimiento tipo insulina o IIS (por sus siglas en inglés), cuyas señales inducen la activación de factores de transcripción involucrados en la autofagia. Estas dos vías no sólo se han visto involucradas en la regulación de la esperanza de vida en condiciones de restricción alimenticia, sino también en otras condiciones de estrés, en

especial la vía IIS, la cual es considerada la mayor vía de regulación en longevidad (Dall y Færgeman, 2019).

Si bien la vía IIS está involucrada en prácticamente todos los mecanismos y condiciones que regulan la longevidad, aún existe una gran variedad de mecanismos que pueden regular, ser regulados o actuar en conjunto con esta vía, los cuales dependen del momento y condiciones ambientales. Tan sólo en condiciones normales, la cepa silvestre ha mostrado una expresión diferencial de 164 genes a lo largo de seis edades distintas y, a pesar de que cada gusano envejece de forma diferente después de su desarrollo, mantienen la misma expresión génica en cada gusano independientemente a la variabilidad, de esta forma todos los gusanos pasan por el mismo proceso (Golden et al., 2007). Esto resulta beneficioso para el estudio del envejecimiento en *C. elegans* además de que esos 164 genes representan menos del 1% de todo su genoma. El gran inconveniente es que aún queda por descifrar cuál es la función de cada uno de esos genes y sus interacciones entre sí, así como las diferencias que hay en múltiples condiciones ambientales y de estrés (Lund et al., 2002).

Dos de los genes más estudiados hasta el momento son *daf-2* y *daf-16*, que están directamente relacionados con la vía IIS. *daf-2* es el gen correspondiente al receptor de IGF-1 y *daf-16* codifica para un factor de transcripción tipo FoxO activado por la transducción de señal de *daf-2*. Las mutantes con pérdida de función de ambos genes han mostrado un aumento en la longevidad, en particular la mutante de *daf-2* aumenta a más del doble la esperanza de vida (Uno y Nishida, 2016). En cuanto a otras vías, se ha visto que la inhibición de los genes necesarios para la señalización de mTOR: *pha-4*, *rsks-1* y *h1h-30* desregulan la autofagia y reduce la esperanza de vida. También se ha visto que al estar activos estos genes ocurre una regulación de la vía IIS por medio de su inhibición. Otros genes involucrados en la regulación de longevidad son *sir-2.1*, *hif-1* y *sod-2*, los cuales participan en la síntesis de sirtuinas, la respuesta a hipoxia y la síntesis de superóxido dismutasa, respectivamente. De estos genes, los primeros dos tienen una relación con la vía IIS y el tercero participa en la reducción de especies reactivas de oxígeno o ROS (por sus siglas en inglés), en la mitocondria y también podría estar relacionado con la vía IIS. Aunque estos son solo algunos ejemplos, ya hay una gran cantidad de genes descritos y relacionados a muchos procesos, además de varios mecanismos epigenéticos y otros mecanismos asociados a ARN no codificante (Uno y Nishida, 2016).

Finalmente, algunos de los descubrimientos más actuales incluyen al gen *clk-1* que codifica para un precursor de la ubiquinona, su delección genética ocasiona una extensión en la esperanza de vida y altera los comportamientos de bombeo y defecación; en este último ocasiona una insensibilidad a la temperatura (Liu et al., 2017). Después está el gen *slo-1* que codifica para un canal de potasio regulado por calcio en neuronas motoras. Su delección, tanto en mutantes como por vía farmacológica, conlleva una ralentización en el envejecimiento motor y un aumento en la longevidad (Li et al., 2019). Otro gen, cuya función se desconoce pero produce un fenotipo muy complejo, es el gen *phm-2*. Su mutante de pérdida de función tiene una deficiencia en la faringe, que impide moler completamente la bacteria y esto induce a una colonización en el intestino; a su vez, esto produce una respuesta inmune, que tiene como efecto un alejamiento de la bacteria produciendo restricción alimenticia. Todas estas consecuencias promueven el aumento de la longevidad y una doble mutante de *daf-2* con *phm-2* extiende la esperanza de vida hasta cien días. Aún se desconoce en qué medida intervienen la restricción alimenticia y la respuesta inmune, pero se sabe que ambas son necesarias para este efecto (Kumar et al., 2019). Por último, un elemento

que apenas se ha caracterizado en *C. elegans* es el de vesículas extracelulares. Se ha visto que éstas contienen genes y ARN no codificante, asociados al envejecimiento; su función y aporte en este proceso aún se desconocen (Russell et al., 2020).

Todas estas características del envejecimiento nos muestran que es un proceso complejo; mientras más se describen sus componentes es más difícil entenderlo por los métodos estadísticos tradicionales.

2.2.3 Temperatura y envejecimiento

Dos de las condiciones más simples y manipulables que afectan el envejecimiento son el alimento y la temperatura, las propiedades de esta última condición se pueden definir con la ley de la temperatura, la cual dice que a menor temperatura se extiende la longevidad mientras que a mayor temperatura se reduce, sin llegar a temperaturas extremas (que resultan nocivas). Esta ley se aplica particularmente a poiquilotermos, organismos que dependen de la temperatura ambiental para regular su temperatura corporal o que su temperatura siempre es igual a la temperatura ambiental (Loeb & Northrop, 1916); aunque en el caso opuesto, el de los homeotermos, que regulan su temperatura corporal y difiere de la temperatura ambiental, se ha visto un aumento de la longevidad, tanto disminuyendo la temperatura corporal como ambiental en roedores (Conti, 2008).

En el caso de *C. elegans*, al ser un poiquilotermo, esta ley aplica y se han visto resultados positivos que lo prueban, pero también se ha visto que, al exponer gusanos desde el estado larval a 15 °C y 25 °C, se reduce la esperanza de vida a baja temperatura y se aumenta en la alta con respecto a la temperatura control de 20 °C; esta situación muestra que la ley de la temperatura no es tan simple en la realidad y una condición tan insignificante, como el estado de desarrollo del organismo, puede invertir la ley (Zhang et al., 2015).

Como ya se mencionó antes, *C. elegans* tiene la capacidad de percibir la temperatura por medio de sus neuronas sensoriales, lo cual genera la interrogante de si la longevidad, modificada por la temperatura, está regulada por estas capacidades sensoriales o es una consecuencia de las propiedades químicas y físicas de los componentes moleculares. Un ejemplo que ilustra bien este problema es el de la interneurona AIY, ya que la ablación de esta, o la delección de dos genes necesarios para su funcionamiento: *ttx-3* y *ceh-10*, ocasiona una disminución en la esperanza de vida, independiente a la temperatura y asociado a *daf-2* (Shen et al., 2010). Al ser AIY una interneurona que recibe y transmite señales sensoriales, tanto de temperatura como de odorantes y otros compuestos, no se puede saber si es la señal de temperatura el principal regulador de la longevidad por esta vía, pero queda claro que los estímulos sensoriales son necesarios para esta regulación.

Al igual que con el paso del tiempo, también se ha visto una expresión diferencial de genes entre gusanos expuestos a 15 °C, 20 °C y 25 °C. Tomando los gusanos a 20 °C como control, a 25 °C 183 genes aumentan su expresión significativamente y 630 la disminuyen (con respecto a 20 °C), mientras que a 15 °C 29 genes aumentan su expresión y 387 la disminuyen. Cuando la temperatura es alta, se expresan más genes relacionados con la respuesta inmune. Mientras que a temperaturas bajas, genes relacionados con el metabolismo. Esta expresión diferencial se ve en

gusanos alimentados con bacteria *E. coli*, por lo cual esta expresión está determinada por la relación entre la temperatura, la bacteria y los gusanos, ya que al usar *B. subtilis* como alimento la expresión de genes es diferente entre temperaturas, tanto en cantidad de genes como en el tipo de genes (Gómez-Orte et al., 2018). No sólo se han identificado genes, también se ha visto una diferencia en la cantidad de fosfoproteínas: en el envejecimiento a 20 °C hay 208 fosfoproteínas que cambian significativamente su concentración; en el envejecimiento a 25 °C hay 130. Dentro de estas fosfoproteínas se ha identificado GTBP-1, una proteína Ras que, ahora se sospecha, participa en la regulación de la longevidad a altas temperaturas (Huang et al., 2018).

Hoy en día se han descrito varios mecanismos por los que *C. elegans* regula su longevidad mediante la temperatura, por ejemplo: a altas temperaturas la neurona sensorial AFD induce una señalización endocrina para esterol, al inducir la activación del gen *daf-9*, que codifica el citocromo P450, necesario para la producción de un esterol que regula la activación del receptor nuclear *daf-12*. Todo este proceso genera una respuesta que amortigua los efectos de las altas temperaturas en la reducción de la esperanza de vida, al igual que otra vía endocrina provocada por AFD, ya que esta neurona también induce la liberación de serotonina en neuronas serotonérgicas, sustancia que activa los receptores SER-1 en el intestino, mismos que inducen a la actividad del factor de transcripción HSF-1 necesario en la regulación de longevidad a altas temperaturas (Kim et al., 2020). Estos dos mecanismos pueden verse ilustrados en la Figura 6. 2020). Estos dos mecanismos pueden verse ilustrados en la Figura 6.

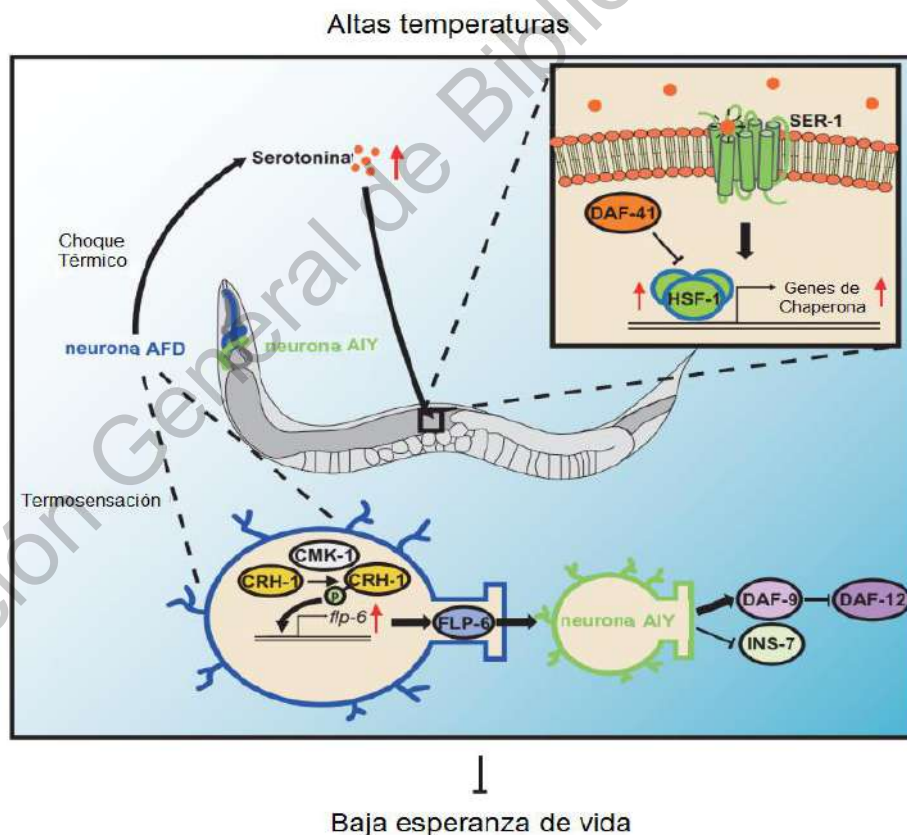


Figura 6. Mecanismos de regulación a altas temperaturas. Se muestra la regulación de la esperanza de vida a altas temperaturas por medio de la neurona AFD, tanto por la liberación de serotonina como por la inhibición de *daf-12*. Figura tomada y modificada de Kim et al., (2020).

Las vías a altas temperaturas no son las únicas descritas, también existen mecanismos activados a bajas temperaturas como la cochaperona p23 (*daf-41*), que regula al receptor nuclear de esteroides *daf-12*. También está el receptor TRPA-1, que puede disminuir o aumentar (dependiendo de la etapa de desarrollo) la esperanza de vida a bajas temperaturas de una forma dependiente de *daf-16*. Otra forma de extender la esperanza de vida a bajas temperaturas es manteniendo una buena proporción entre ácidos grasos saturados e insaturados, esto se logra por medio de una buena lipostásis e inducción de autofagia; a bajas temperaturas esto se logra gracias a la activación de genes como *fat-7* por medio del receptor de adiponectina PAQR-2 o mediante el corregulador de la transcripción MDT-15. Por último, la percepción de bajas temperaturas por las neuronas AFD e IL1 induce a la liberación de prostaglandina E2 en la línea germinal, lo cual induce a la transcripción de cistationina beta sintasa (*cbs-1*), que extiende la longevidad gracias a una consecuente liberación de ácido sulfhídrico en el intestino (Kim et al., 2020). Todos estos mecanismos pueden verse ilustrados en la Figura 7.

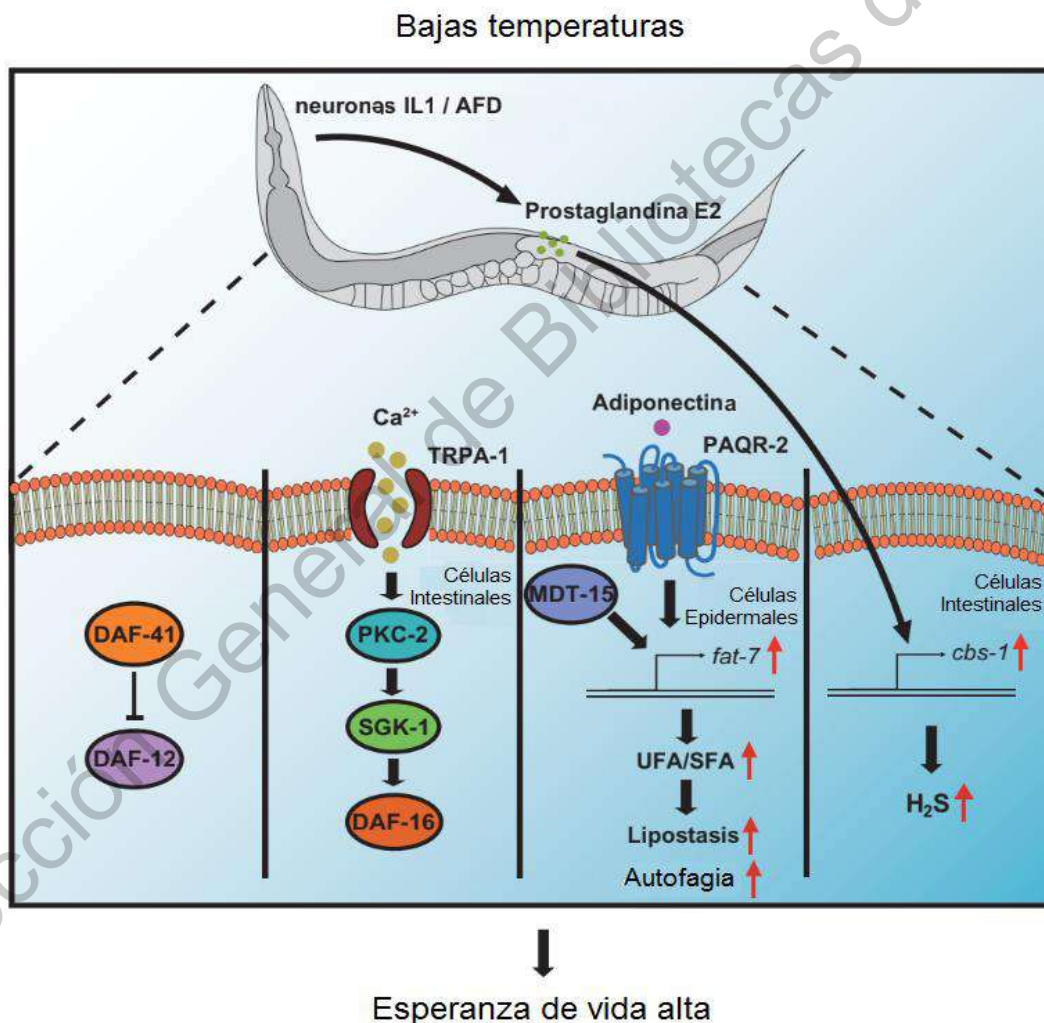


Figura 7. Mecanismos de regulación a bajas temperaturas. Se muestran los mecanismos que aumentan la esperanza de vida a bajas temperaturas, que en orden de izquierda a derecha son por: cochaperona p23, el receptor TRPA-1, lipostásis y por prostaglandina E2. Figura tomada y modificada de Kim et al., (2020).

Debido a que aún se desconoce mucho sobre el proceso de envejecimiento, es una buena alternativa enfocar su estudio a una condición ambiental, ya que por sí solo el envejecimiento en condiciones controladas es un fenómeno bastante complejo; poder entender las diversas estrategias involucradas en estas condiciones, es un elemento importante para el entendimiento completo de este proceso.

2.2.4 Comportamientos neuromusculares

El principal comportamiento neuromuscular asociado a envejecimiento es el movimiento, ya que es el más visible y está directamente relacionado con la esperanza de vida; no obstante ser la principal alternativa para estudiar longevidad, no es el único comportamiento de interés en ese tema, otras alternativas que han mostrado cambios a lo largo del tiempo son: bombeo, defecación y progenie.

Bombeo

La alimentación de *C. elegans* se lleva a cabo en la faringe, un órgano que consta de tres partes anatómicas principales: cuerpo, istmo y bulbo terminal (Figura 8). El acto de la alimentación ocurre en dos movimientos: bombeo y la peristalsis del istmo. Primero ocurre el bombeo que es una contracción de los músculos del cuerpo y el istmo anterior, durante esta contracción la faringe absorbe líquido del medio (Figura 9B), luego ocurre una relajación de estos músculos que expulsan todo el líquido y sólo dejan la bacteria dentro (Figura 9C). Con los músculos relajados ocurre el segundo movimiento, la peristalsis del istmo, que es una contracción peristáltica del istmo posterior y que lleva la bacteria, atrapada en el bombeo, hacia el bulbo terminal donde es molida (Figura 9A.). Estos dos movimientos están muy coordinados, sin embargo no son constantes, ya que por cada cuatro bombeos ocurre una peristalsis del istmo aproximadamente. Gracias a esto y a su notoriedad el bombeo es fácil de observar y contar (Avery y You, 2012).

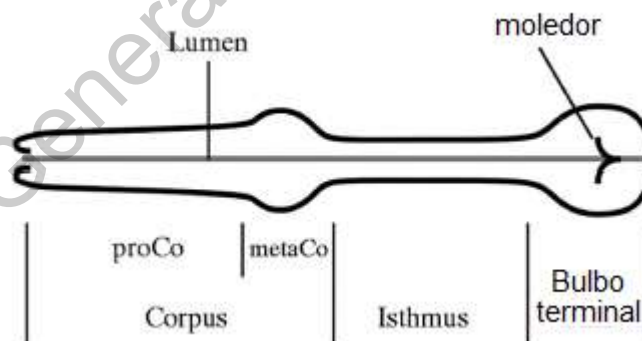


Figura 8. Anatomía de la faringe de *C. elegans*. Se muestran las partes que componen la faringe de *C. elegans*: Corpus, istmo (Isthmus) y bulbo terminal (Terminal bulb). Figura tomada de Avery y You, (2012).

La regulación de este comportamiento está mediado por la neurona MC, la cual sólo responde ante tres estímulos: la presencia de alimento, serotonina (en los receptores SER-1) y la señales de la neurona I1, la única neurona que conecta a MC con el resto del sistema nervioso (Raizen et al., 1995). Todos estos estímulos pueden aumentar o reducir la velocidad de bombeo. También, en el caso de que el alimento sea abundante y de buena calidad, el gusano llega con frecuencia a una

situación de saciedad, que puede detener el bombeo introduciendo al gusano en un estado quiescente donde no se mueve ni alimenta.

La relevancia del bombeo en el envejecimiento está en que hay una correlación directa con la esperanza de vida y movimiento, además de que es una buena alternativa para ver factores asociados al envejecimiento, como sarcopenia y su relación con el daño provocado por contracciones o bacterias (de alimento) a lo largo del tiempo, ya que se ha visto una relación directa entre los cambios de la tasa de bombeo y estos daños (Chow et al., 2006).

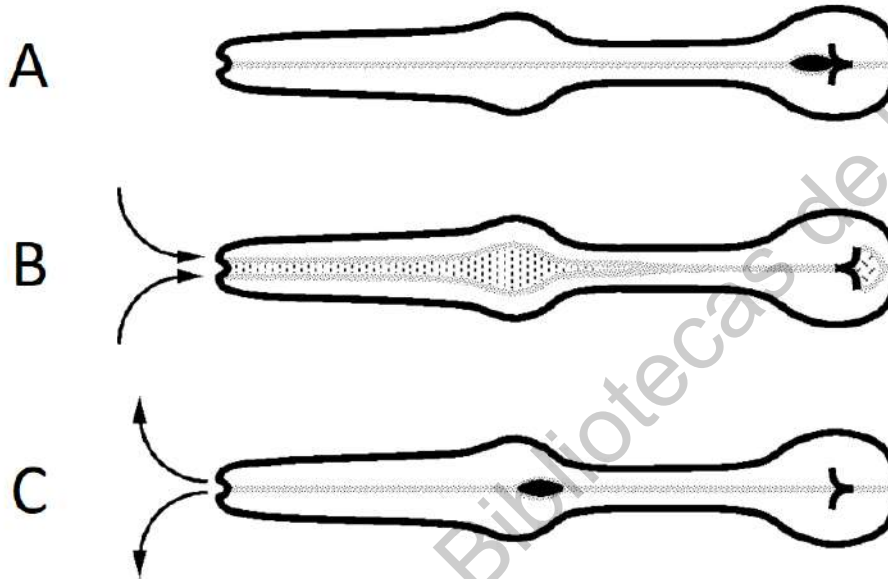


Figura 9. Proceso de alimentación en *C. elegans*. Aquí se representan los dos pasos de la alimentación, bombeo y la peristalsis del istmo. (A) Muestra la peristalsis del istmo al hacer pasar el alimento del corpus al istmo. (B) Muestra el primer paso del bombeo que es la contracción, absorbiendo el líquido del medio. (C) Es la relajación de la contracción de bombeo liberando todo el líquido y dejando la bacteria. Figura tomada y modificada de Avery y You, (2012).

Defecación

Uno de los órganos más grandes en *C. elegans* es el intestino, que ocupa un tercio de toda la masa somática. Es uno de los órganos más importantes en el estudio del envejecimiento, debido a que la gran mayoría de procesos que originan deterioro, al igual que los procesos que regulan este deterioro, ocurren en el intestino, como son: acumulación de lípidos con efecto lipotóxico, estrés oxidativo, restricción alimenticia y colonización de bacterias (McGhee, 2007).

El comportamiento que se puede observar en el intestino es la defecación, consiste en una serie de movimientos que ocurren con una frecuencia de 45 a 50 segundos. Comienza con una contracción peristáltica del cuerpo posterior hacia la región anterior, a esta contracción se le conoce como pBoc. Después los músculos se relajan de esta contracción y finalmente ocurre la contracción conocida como Exp, en donde ocurre la expulsión de los desechos. Entre pBoc y Exp ocurre otra contracción en la cabeza, conocida como aBoc, pero es casi imperceptible (Hart,

2006). Sobre la regulación de la defecación se sabe que ocurre una fluctuación de iones de calcio de forma cíclica, pero el proceso o genes específicos involucrados en este comportamiento aún se desconocen (McGhee, 2007).

Los cambios en la defecación están positivamente correlacionados al envejecimiento, pero no hacia la esperanza de vida y movimiento. Sus cambios a lo largo del tiempo son no lineales y escalonados, por lo que se desconoce si tiene relación con otros comportamientos (Collins et al., 2007). Esta situación lo hace interesante para buscar una correlación por medio de regresión simbólica.

Progenie

Entre las discusiones que giran en torno a las delimitaciones sobre el inicio del envejecimiento, se cree que este comienza al terminar la etapa reproductiva de un organismo; en contraparte, se dice que muchos cambios comienzan a ocurrir antes, las mismas capacidades reproductivas sufren un deterioro progresivo, tanto en su rendimiento como en las propiedades físicas del tejido. Dejando de lado si se puede considerar envejecimiento o no a los cambios durante la etapa reproductiva, es innegable que estos son cambios asociados a la edad y que finalmente influyen en el envejecimiento, como en cualquier otro tejido (Pickett et al., 2013).

El aparato reproductor de *C. elegans* sufre varios cambios como: disminución en la tasa de reproducción, cambios de estructura, disminución en el tamaño de ovocitos y un aumento de ovocitos sin fertilizar (Garigan et al., 2002). Una situación muy importante, para la medición de progenie como indicador de envejecimiento, es que *C. elegans* al ser hermafrodita produce una cantidad limitada de espermatozoides (300 aproximadamente) para fecundar sus ovocitos, razón por la cual solo produce progenie durante tres días y medio, impidiendo evaluar los cambios de la reproducción con el tiempo. Pero existe una solución a este problema y es aparear a los gusanos hermafroditas con gusanos machos, esto aumenta la cantidad de esperma y permite a los gusanos producir progenie por más tiempo; en estas circunstancias se ha visto una disminución en la progenie en comparación con los primeros días, indicando un deterioro asociado al tiempo (Pickett et al., 2013).

2.3 Modelaje en *C. elegans*

Gracias a la gran cantidad de información que se conoce acerca de los componentes de *C. elegans*, como genes, proteínas, células, tejidos (por ejemplo todas las conexiones neuronales) y procesos, tanto moleculares como celulares (Towlson et al., 2018), este organismo se ha vuelto un modelo ideal para el estudio en biología de sistemas, ya que la cantidad de información es lo suficientemente grande para hacer un análisis relevante. Tal es el caso del análisis multiómico realizado en 2019, en donde se mezclaron análisis proteómicos, transcriptómicos y metabolómicos para definir los cambios metabólicos de *C. elegans* durante el envejecimiento. Utilizando estos datos, con el análisis de balance de flujos (una técnica para el análisis estequiométrico), se lograron obtener descripciones muy precisas del metabolismo al envejecer y se pudo caracterizar una deficiencia, en el ciclo de los ácidos tricarbóxicos, al escasear el oxalacetato con el tiempo (Hastings et al., 2019).

Además de intentar entender todo el sistema biológico por medio de un lenguaje matemático, también se han intentado describir algunas propiedades específicas por este método. Un caso

particular es el de los movimientos biomecánicos. En esta área se ha estudiado el movimiento sigmoidal de *C. elegans* teniendo como parámetros y variables sus medidas, viscosidad, coeficientes de arrastre y amplitud de las ondas en músculos. Este estudio ha llevado a la creación de un modelo matemático muy preciso que describe el movimiento de *C. elegans* (Cohen y Ranner, 2017). Aunque es un modelo muy específico, resulta un tanto irrelevante para describir un sistema biológico ya que el modelo está más enfocado al movimiento que al organismo; no obstante, todavía resulta interesante para el área de la biotecnología.

Estos modelos no solo son útiles para explicar la información para la cual fueron creados sino que también pueden ayudar a explicar descubrimientos más recientes, como el estudio de las neuronas responsables de la oviposición: VC y HSN. Al definir sus interacciones y funcionamiento se descubrió que estas neuronas forman un microcircuito conocido, que combina las propiedades negativas de un *feedback-loop* con las de un *feed forward -loop*; este tipo de circuitos están clasificados como motivos que, como se ha visto antes, son muy comunes en redes biológicas (Zhang et al., 2008). Gracias al estudio de redes biológicas, además de describir las propiedades de estas neuronas pudieron ser analizadas como parte de un sistema.

2.3.1 Modelaje en comportamientos

Uno de los principales problemas de los sistemas biológicos es entender como todos los mecanismos celulares y moleculares dan lugar a las características macroscópicas y comportamientos que podemos ver. Uno de los pocos intentos que se han hecho con *C. elegans* es el de McMullen y colaboradores (McMullen et al., 2012) quienes contabilizaron la progenie de esta especie a lo largo del tiempo y a diferentes temperaturas. A partir de estos datos propusieron un modelo matemático que representa el proceso de reproducción por medio de compartimentos (Figura 10.). Al dividir los pasos de la reproducción en compartimentos lograron que el modelo fuera lo suficiente simple para ajustarse a los datos, consiguiendo un modelo con capacidades predictivas, que además tiene una asociación cuantitativa entre los procesos celulares que regulan la reproducción con el fenotipo visible. Sin embargo, el modelo no pudo predecir que la mutante de *tra-3* a 25 °C deposita menos huevos, esto debido a que hay una acumulación de progenie dentro del gusano, que a altas temperaturas no puede salir fácilmente. Esta situación, más que un defecto del modelo, resulta una ventaja, ya que de otro modo habría sido complicado identificar esa condición y ahora se puede modificar el modelo para hacerlo más preciso.

El principal problema con el estudio de comportamientos es que pueden llegar a ser muy variables entre individuos a lo largo del tiempo, una de las soluciones es utilizar un “Worm tracker” (o rastreador de gusanos), que puede medir los comportamientos de un gusano (por mucho tiempo) al grabarlos en baja resolución; o medir los comportamientos de muchos gusanos (en poco tiempo) al grabarlos en alta resolución. Sin embargo, recientemente se creó el algoritmo WALDO, que permite analizar más gusanos por más tiempo, gracias a que puede identificar fragmentaciones en el video y distinguir gusanos cuando se cruzan (Winter et al., 2016). Como no siempre se cuenta con esta tecnología, otra opción es aumentar el tamaño de muestra con observaciones manuales.

El modelaje matemático de comportamientos es un objetivo nuevo y poco explorado para el estudio de sistemas biológicos y ha demostrado ser útil y viable. Este método resulta de gran utilidad para el estudio de envejecimiento, ya que tiene características muy definidas y una gran cantidad de procesos involucrados.

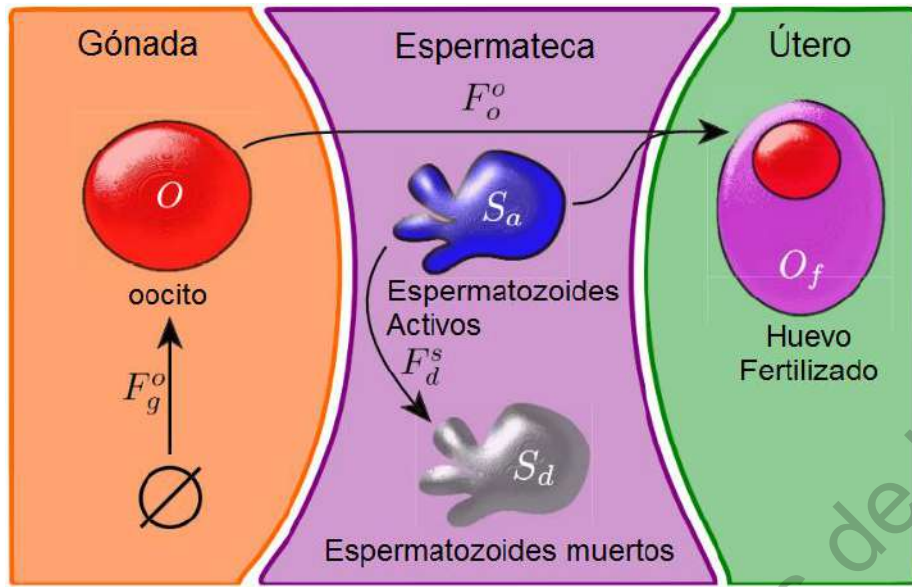


Figura 10. Modelo matemático de la reproducción en *C. elegans*. Esquema del modelo de McMullen y colaboradores. Se muestra la división esquemática que propusieron del sistema reproductivo de *C. elegans* en compartimentos asignado a la generación de oocitos, fecundación de oocitos y muerte de espermatozoides. Figura tomada y modificada de McMullen et al., (2012)

3. Metodología

3.1 Ensayos con *Caenorhabditis elegans*

Todos los ensayos y cultivos se realizaron en sus formas más comunes y utilizadas, más concretamente como se describen y recomiendan por Hart, (2006) y Stiernagle, (2006). Todo el procedimiento que se llevó a cabo en los bioensayos se puede ver en la figura 12.

Cepa y circulación

La cepa utilizada en los experimentos fue la cepa silvestre N2, obtenida del GCG (Caenorhabditis Genetics Center). Para su circulación y ensayos, primero se descongeló un tubo de la cepa y el contenido de este se vertió en 3 placas petri de 60 x 15 mm con 10 ml (aproximadamente) de medio NGM en cada una; una vez que los gusanos recuperaron su movimiento y desarrollo se transfirieron algunos (de tres a diez), a una nueva placa previamente inoculada e incubada con 180 µl de bacteria. A partir de la población obtenida se inició la circulación de la cepa..

Para la circulación de los gusanos, mediante un asa de platino, se transfirieron de tres a diez gusanos adultos de una placa vieja a una placa nueva, este procedimiento se realizó cada vez que el alimento de la placa vieja se terminaba. Además los gusanos siempre se mantenían a 20 °C sin luz. Para la alimentación se colocaron 180 µl de bacteria en cada placa y se incubaron a temperatura ambiente durante 48 horas antes de utilizarse.

Cultivo de *E. coli*

Para la alimentación de los gusanos se utilizó la bacteria *E. coli*, la bacteria se obtuvo a partir de un cultivo líquido. Este cultivo fue preparado con 50 ml de medio 2XTy e inoculado con 100 µl de bacteria, de un cultivo anterior (procedente del laboratorio de Genética Molecular y Ecología Evolutiva). Posteriormente el cultivo recién inoculado se dejó en incubación por 24 horas y luego se mantuvo en refrigeración para su uso.

Manejo de desechos

Para desechar las cajas Petri con medio y gusanos, fueron inactivadas con óxido de calcio, mientras que los cultivos líquidos de *E. coli* fueron inactivados con hipoclorito de sodio al 6%. Las cajas petri y los cultivos líquidos inactivados fueron desechados de acuerdo con el manejo RPBI de la norma NOM-087-ECOL-SSA1.

3.1.2 Ensayos de comportamiento

Se realizaron varios ensayos de comportamiento para los cuales los gusanos fueron sincronizados, este proceso se llevó a cabo mediante una selección de larvas L4 (30 por ensayo) (Figura 11), las cuales fueron aisladas en una caja con alimento durante 24 horas a 20 °C sin luz. Luego los gusanos adultos de un día fueron separados, en grupos de dos gusanos por caja, y acomodados en su temperatura respectiva de ensayo (20 °C ó 15 °C). Durante los ensayos los gusanos fueron medidos cada 24 horas por 10 días (su esperanza de vida en el laboratorio es de entre 25 y 30 días, dependiendo de la temperatura) y fueron cambiados de caja cada 48 horas para evitar la sobrepoblación y el desarrollo de adultos nuevos.

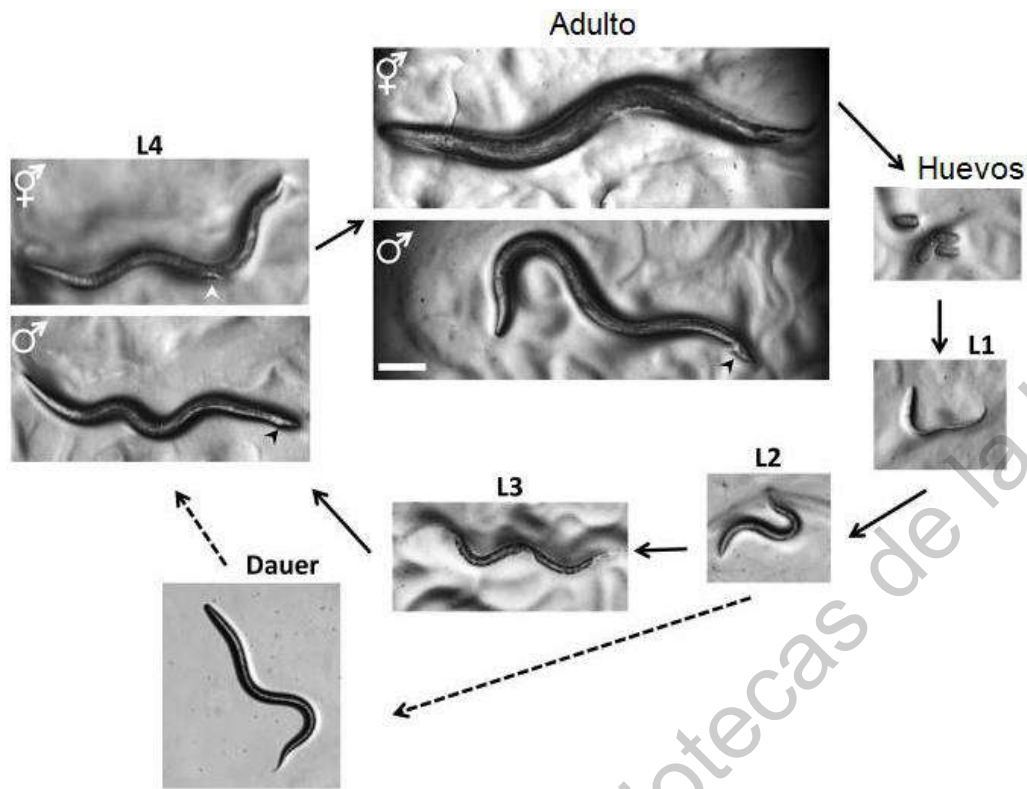


Figura 11. Ciclo de vida de *C. elegans*. Esta figura muestra el ciclo de vida de *C. elegans*, desde la oviposición de los huevos hasta el desarrollo del adulto. Figura tomada y modificada de Corsi et al (2015).

Bombeo

Durante el ensayo de bombeo, se midió este comportamiento en 20 gusanos con la ayuda de un estereoscopio y un contador celular, el bombeo de cada gusano fue medido durante 30 segundos tres veces, este procedimiento se realizó cada 24 horas con los mismos gusanos, con excepción de los gusanos que murieron antes de tiempo, en estos casos el gusano fue reemplazado con uno de los 10 gusanos adicionales que se tenían sincronizados. La medición consistió en contar la cantidad de contracciones que ocurrieron en la faringe durante los 30 segundos del ensayo.

Defecación

La defecación fue medida en 20 gusanos con la ayuda de un estereoscopio y un cronómetro. Este ensayo tuvo una duración de 10 minutos y es de una sola medición; durante estos diez minutos se observó el gusano y se tomó el tiempo cada vez que se vio una expulsión o a los 4 segundos de observar una contracción pBoc, ya que la expulsión no siempre es visible. Este ensayo se realizó cada 24 horas y los gusanos muertos antes de tiempo fueron reemplazados con otros gusanos sincronizados.

Coleteo

Para el ensayo de coleteo, diez gusanos fueron colocados en una misma caja para su almacenamiento, durante el ensayo se colocaron individualmente en una celda de cajas TC de 6 x

4 con 500 µl de buffer M9. Durante el ensayo se midió, tres veces, la cantidad de coleteos que cada gusano hacía durante un minuto, posteriormente eran transferidos a su caja de almacenamiento hasta el día siguiente, cuando se repetía el ensayo.

Progenie

Se realizaron cuatro réplicas del ensayo de progenie, que consistieron en colocar 10 gusanos en una caja nueva por dos horas, para luego ponerlos en una caja de almacenamiento; posteriormente se contó la cantidad de huevos presentes en la caja de ensayo y se repitió el procedimiento hasta que dejaran de poner huevos.

3.2 Estadística

Eliminación de outliers

El primer paso al analizar los resultados fue la eliminación de datos que son anormalmente grandes o pequeños, debido a que son casos excepcionales y no representan las características normales de una población (Swierczek et al., 2011). Para este procedimiento se utilizó el método por boxplot el cual consiste en identificar datos que sean 1.5 veces más grandes que el tercer cuartil o 1.5 veces más pequeños que el primer cuartil. Este procedimiento se realizó en R (R Core Team, 2020) por medio de la función (boxplot.stats) del paquete *grDevices* y los datos identificados como *outliers* fueron eliminados manualmente en una copia. Este procedimiento se aplicó a los datos de cada día de cada ensayo.

Medidas de centralidad y dispersión

Al igual que con la eliminación de *outliers*, en las medidas de centralidad y dispersión también se utilizó R. En el caso de las medidas de centralidad se utilizó la función (mean) para media y (median) para mediana, de los paquetes *base* y *stats* respectivamente.

Mientras que para las medidas de dispersión se utilizó la función (sd), del paquete *stats*, para calcular la desviación estándar. También se calculó el coeficiente de variación al dividir la desviación estándar sobre la media y también se determinó por cuartiles con la función (cqv_versatile) del paquete *cvcqv* (Beigy, 2019). Este procedimiento se aplicó a los datos diarios de cada ensayo.

Se estimaron los intervalos de confianza para los datos diarios de cada ensayo (Ritu Dhawan, David B. Dusenbery, Ph, 1999), pero debido a que las distribuciones de ninguno de los ensayos es normal, se realizó un remuestreo previo por bootstrap. Este procedimiento se realizó en R con la función (boot) del paquete *boot* (Canty & Ripley, 2019) y se realizaron 10,000 remuestreos, esto generó un objeto boot del cual se determinaron los intervalos de confianza con la función (boot.ci) del mismo paquete.

Tamaño mínimo de muestra

Para determinar si el tamaño de la muestra es lo suficientemente grande, para hacer una inferencia estadística, se realizó una prueba de tamaño mínimo de muestra que determina el tamaño necesario para que la media de la muestra sea representativa de esta (Israel, 1992). En R se utilizó la función (sample.size.mean) del paquete *samplingbook* (Manitz et al., 2017) esta

función utiliza la desviación estándar de la muestra, y la mitad del intervalo de confianza deseado, para realizar el cálculo. Para determinar el tamaño del intervalo se utilizó el redondeado más grande de los tres primeros días de ensayo, debido a que durante estos días los gusanos aún se mantienen saludables. En el caso del bombeo se utilizó un intervalo de 4 y en el de defecación uno de 5.

Tipo de distribución

Otra característica que se determinó de los datos es el tipo de distribución, para determinarlo se realizaron las pruebas de Lilliefors y de Shapiro-Wilk (Yemini et al., 2013), esto se hizo en R por medio de las funciones (*lillie.test*) y (*shapiro.test*) del paquete *nortest* (Gross & Ligges, 2015). Si el valor P es mayor a .05 se considera que la distribución de ese día es normal, por el contrario, si es menor se considera no normal.

Debido a que los días de cada ensayo se pueden ajustar a diversos tipos de distribución y esto implicaría el uso de diversas pruebas paramétricas, posteriores, se optó por evaluar únicamente la distribución normal y con base a este resultado se decidió utilizar las pruebas no paramétricas en otras estadísticas.

Prueba de Wilcoxon

Debido a que las distribuciones de las muestras no son todas normales, es necesario hacer una prueba no paramétrica para determinar si existen diferencias significativas entre los días de ensayo (Flavell et al., 2013); se utilizó la prueba de Wilcoxon en R por medio de la función (*wilcox.test*) del paquete *stats* y se aplicó entre los diferentes días de cada ensayo.

Homocedasticidad

Por último, se determinó si los diferentes días de cada ensayo cumplen con la homogeneidad de varianzas (Sterken et al., 2020), al realizar la prueba no paramétrica de Fligner-killeen en R, se utilizó la función (*fligner.test*) del paquete *stats*.

3.3 Elaboración de los modelos

Regresión simbólica

Para la elaboración de los modelos se utilizó un método de regresión simbólica, el cual consiste en la búsqueda de diversas soluciones (lineales y no lineales) con buen ajuste, por medio de un algoritmo genético. Se utilizó el programa Eureka (Eureka, .1.24.0. 2015), se introdujeron los datos sin *outliers*; en el programa se aplicó una normalización de escala y, además de la búsqueda predeterminada, se añadió la búsqueda de soluciones con exponenciales. El tiempo de búsqueda promedio fue de ocho minutos.

Estimación del modelo

Durante la estimación de los modelos se utilizó la función (*function*) del paquete *base* en R. Para estimar los parámetros manualmente, en una función específica hecha para cada modelo seleccionado, la estimación manual se hizo tanteando los valores que mejor se ajustaran a los datos de forma visual.

Ajuste de los modelos

Para el ajuste de los modelos se tomaron las ecuaciones y parámetros evaluados en la estimación, se analizaron por medio de la función `nls` del paquete `stats` en R, esta función estima los parámetros que mejor se ajustan a los datos con base a un valor de significancia (α).

Todas las gráficas de los modelos fueron generadas por medio del paquete `ggplot2` (Wickham, 2016)

Dirección General de Bibliotecas de la UAQ

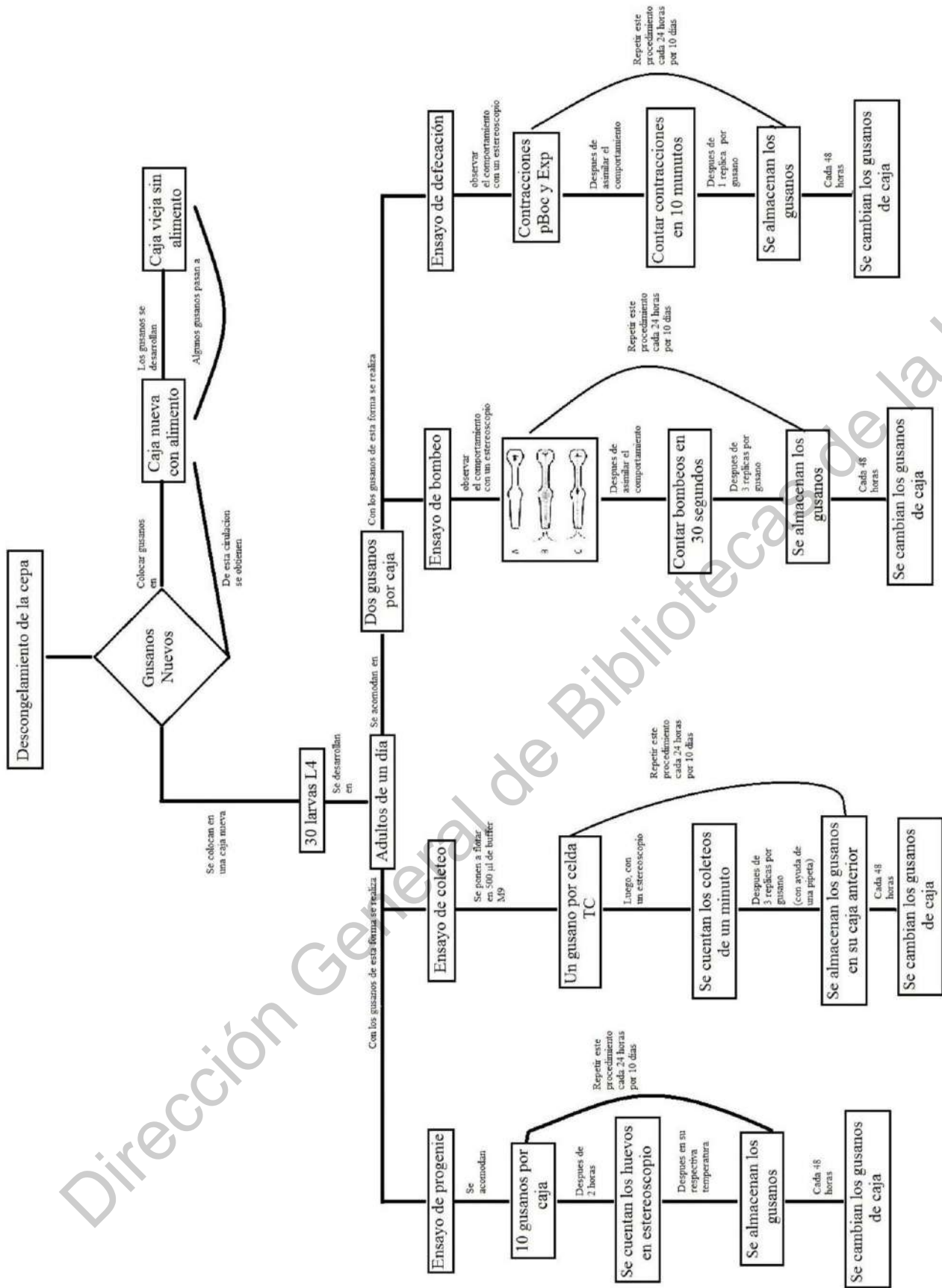


Figura 12. Diagrama de bioensayos. En esta figura se muestra el diagrama de los bioensayos que se realizaron.

4. Resultados

4.1 Ensayos

Bombeo a 20 °C

La frecuencia de bombeo mostró una disminución constante, interrumpida en el día cuatro presentando un aparente aumento en los tres días siguientes (Figura 13A). A partir del día cuatro los intervalos de confianza, calculados para la media, se incrementan (Tabla 1). Las pruebas de Wilcoxon indican que los datos de todos los días son diferentes entre sí, con excepción de los días uno, cuatro y cinco y los días ocho y nueve (Tabla S6). En cuanto a los días uno, cuatro y cinco esto se puede explicar con el aumento que ocurre en los días cuatro y cinco, mientras que los días ocho y nueve son prácticamente iguales entre sí.

Tabla 1: Estadísticas de bombeo a 20 grados. En la primera columna se muestran los días que se están analizando. Las siguientes dos columnas son las medidas de centralidad de mediana y media. La siguiente sección contiene los intervalos de confianza estimados para la media y el tamaño que hay entre estos intervalos; el tamaño deseado es de cuatro como máximo. La última sección es para el tamaño de muestra, la primera columna presenta el tamaño de muestra de cada día; la segunda el tamaño de muestra estimado para llegar a determinar el tamaño de intervalo deseado.

Estadísticas de bombeo a 20 grados						
Dia / prueba	Mediana	Media	Intervalos de confianza		Tamaño de muestra	
			Estimado	Tamaño	Actual	Mínimo
1	102	101.83	100.9 a 102.7	1.8	60	14
2	96	95.71	94.78 a 96.66	1.88	59	14
3	89	88.11	86.37 a 89.95	3.58	60	49
4	99.5	98.42	95.76 a 100.91	5.15	54	103
5	104	102.81	100.3 a 105.4	5.1	53	87
6	108	107.37	105.3 a 109.5	4.2	54	62
7	87	85.17	82.37 a 88.8	6.43	52	107
8	75	73.66	70.88 a 76.45	5.57	51	102
9	75	74.47	71.75 a 77.25	5.5	48	92
10	63.5	60.87	57.04 a 64.94	7.9	48	193

La distribución de los datos presentaron una distribución normal, excepto en tres días, de acuerdo con la prueba de normalidad (Tabla S1). Pero en todos los días existe una diferencia muy baja entre media y mediana, esto indica que, a pesar de no haber una distribución normal en estos días, la distribución no está excesivamente sesgada (Tabla 1). Pero tener una distribución normal

no es un sinónimo de relevancia biológica, aún es necesario determinar si el tamaño de muestra cumple con el mínimo; de acuerdo con el intervalo de confianza deseado, solo los tres primeros días tienen un tamaño de muestra adecuado o mayor al necesario (Tabla 1).

Finalmente, sólo siete de los diez días compartieron una homogeneidad de varianzas y, al faltar los días uno y diez, no fue posible realizar modelos solo con los días que cumplieran esta característica (Figura 13A y Tabla S6).

Defecación a 20 °C

Contrario a la frecuencia del bombeo, el tiempo entre defecaciones aumentó a lo largo de los días, con excepción de los días tres y cuatro, que muestran valores muy similares entre sí (Figura 13 B). Esto puede verse en los intervalos de confianza estimados, ya que estos días muestran intervalos, prácticamente del mismo tamaño, en los mismos valores (tabla 2) y en la prueba de Wilcoxon no muestran diferencia significativa (tabla S7).

Tabla 2: Estadísticas de defecación a 20 grados. En la primera columna se muestran los días que se están analizando. Las siguientes dos columnas son las medidas de centralidad de mediana y media. La siguiente sección contiene los intervalos de confianza estimados para la media y el tamaño que hay entre estos intervalos, el tamaño deseado es de cinco como máximo. La última sección es para el tamaño de muestra, la primera columna presenta el tamaño de muestra de cada día; la segunda el tamaño de muestra estimado para llegar a determinar el tamaño de intervalo deseado.

Estadísticas de defecación a 20 grados						
Dia / prueba	Mediana	Media	Intervalos de confianza		Tamaño de muestra	
			Estimado	Tamaño	Actual	Mínimo
1	46	46.66	46.04 a 47.28	1.24	116	8
2	54	53.85	53.04 a 54.7	1.66	98	12
3	58	58.91	57.40 a 60.50	3.1	90	35
4	61	60.82	58.84 a 62.73	3.89	85	53
5	68	72.3	68.88 a 75.52	6.64	75	130
6	71	80.05	75 a 84.89	9.89	71	284
7	91.5	91.24	84.62 a 97.76	13.14	50	349
8	110	108.14	104 a 112.4	8.4	41	118
9	95	98.57	92.37 a 104.66	12.29	38	241
10	96	106.11	98 a 113.8	15.8	35	360

Otra observación importante es cómo algunos días no muestran diferencia significativa entre sí. Esto puede verse en la prueba de Wilcoxon, que no muestra diferencia significativa entre los días siete y nueve (tabla S7). Esta situación se puede atribuir al aumento de variación en los datos, a lo largo del tiempo, y por el tipo de medición del ensayo, que tiende a disminuir la cantidad de datos

conforme el tiempo de defecación aumenta. Esto también se ve reflejado en las pruebas de wilcoxon de los últimos dos días, que advierten que la muestra es demasiado pequeña para estimar la media.

En cuanto a la distribución de los datos, solo la mitad de éstos presentaron una distribución normal, pero los datos muestran poca diferencia entre la media y la mediana, con excepción de los días 6 y 10 cuyas medianas son más pequeñas y, por sus distribuciones no normales, indican un sesgo en su distribución (Figura 13B y Tabla S2). Por otro lado, para los tamaños de muestra necesarios, sólo los tres primeros días tienen un tamaño de muestra adecuado o mayor al requerido para aproximar un intervalo pequeño, pero en el resto de los días el tamaño de muestra necesario llega a ser hasta diez veces mayor que el actual. Finalmente, sólo los últimos cinco días compartieron una homogeneidad de varianzas (tabla S5).

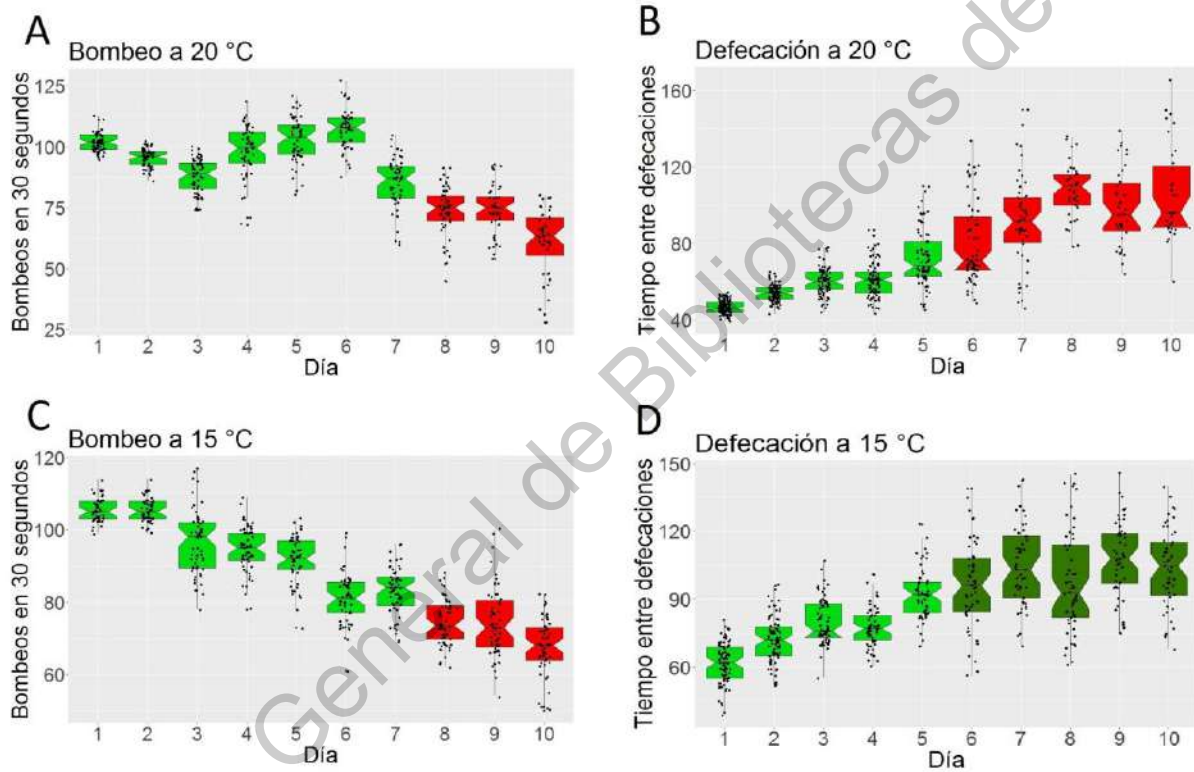


Figura 13. Datos de los resultados de los bioensayos. Se encuentran los resultados de cada bioensayo, acomodados por día en boxplots, en tonos verdes se encuentran los días con homocedasticidad entre sí y en color rojo los días sin homocedasticidad. **A:** Resultados de los ensayos de bombeo a 20 °C. **B:** Resultados de los ensayos de defecación a 20 °C. **C:** Resultados de los ensayos de bombeo a 15 °C. **D:** Resultados de los ensayos de defecación a 15 °C.

Bombeo a 15 °C

A los 15 °C se observó una disminución constante e ininterrumpida del bombeo (Figura 13C), este ensayo obtuvo la mayor cantidad de días con distribución normal, con un total de nueve (tabla S3). Sobre el tamaño de muestra, solo los días tres, nueve y diez requieren de una muestra mayor (tabla 3) siendo, incluso, mucho menor la diferencia que la de otros ensayos.

Este ensayo también cuenta con los mejores intervalos de confianza, ya que todos los días están dentro del tamaño deseado o muy cerca; pero a pesar de tener las estadísticas deseadas, algunos de los días no mostraron diferencia significativa en la prueba de Wilcoxon, como es el caso de los días dos, tres y cuatro (Tabla S9). Sin embargo, la disminución es visible (Figura 13C), esto se puede explicar por una disminución escalonada o descrita por una línea recta con una pendiente cercana a cero.

Tabla 3: Estadísticas de bombeo a 15 grados. En la primera columna se muestran los días que se están analizando. Las siguientes dos columnas son las medidas de centralidad de mediana y media. La siguiente sección contiene los intervalos de confianza estimados para la media y el tamaño que hay entre estos intervalos, el tamaño deseado es de cuatro como máximo. La última sección es para el tamaño de muestra, la primera columna presenta el tamaño de muestra de cada día; la segunda el tamaño de muestra estimado para llegar a determinar el tamaño de intervalo deseado.

Estadísticas de bombeo a 15 grados						
Dia / prueba	Mediana	Media	Intervalos de confianza		Tamaño de muestra	
			Estimado	Tamaño	Actual	Mínimo
1	105	105.51	104.6 a 106.4	1.8	52	12
2	94	95.13	93.10 a 97.05	3.95	60	59
3	98	96.58	94.27 a 98.69	4.41	59	75
4	95	94.61	92.98 a 96.22	3.24	55	37
5	92	91.52	89.96 a 93.19	3.23	57	39
6	81	81.16	79.29 a 83	3.71	55	48
7	84	82.98	81.34 a 84.61	3.27	59	41
8	73.5	74.35	72.8 a 75.9	3.1	60	38
9	73	74.11	71.69 a 76.53	4.84	59	89
10	68	67.91	65.86 a 69.96	4.1	57	61

Defecación a 15 °C

Al igual que en el ensayo a 20 °C, a los 15 °C hubo un aumento en el tiempo (Figura 13D), pero este aumento se detuvo a partir del día 6, cuando las pruebas de Wilcoxon no muestran diferencia significativa entre estos cinco días (tabla S9). Dentro de los intervalos de confianza solo los

primeros cuatro días cumplen con el tamaño deseado, al igual que con los tamaños mínimos de muestra; a partir del día 5 es requerida una muestra más grande (Tabla 4).

Las distribuciones en este ensayo fueron normales con excepción de los días tres y ocho; aunque la diferencia de sus medidas de centralidad es más grande que la de otros días, siguen siendo más pequeñas en comparación con las del ensayo a 20 °C (tabla S4), este ensayo requerirá ajustarse a otro tipo de distribución a futuro.

La prueba de homocedasticidad mostró que los primeros cinco y los últimos cinco tienen homogeneidad de varianzas entre sí, pero no entre los diez días juntos (Figura 13D y Tabla S5).

4.2 Progenie y coleteo

Durante los primeros ensayos de prueba (con diez gusanos), después de cuatro días, acorde a nuestro conocimiento de sus limitaciones, los gusanos disminuyeron drásticamente su progenie, al punto de que en el ensayo no pudo contarse ningún huevo, razón por la cual este comportamiento fue descartado de los análisis posteriores.

En cuanto al comportamiento de coleteo, éste mostró una tendencia a disminuir linealmente, similar a la de bombeo, razón por la cual se optó por utilizar bombeo y defecación para modelarlos, ya que el ensayo de bombeo es más sencillo en su elaboración y el ensayo de defecación tiene una tendencia más irregular.

Tabla 4: En la primera columna se muestran los días que se están analizando. Las siguientes dos columnas son las medidas de centralidad de mediana y media. La siguiente sección contiene los intervalos de confianza estimados para la media y el tamaño que hay entre estos intervalos, el tamaño deseado es de cinco como máximo. La última sección es para el tamaño de muestra, la primera columna presenta el tamaño de muestra de cada día; la segunda el tamaño de muestra estimado para llegar a determinar el tamaño de intervalo deseado.

Estadísticas de defecación a 15 grados						
Día / prueba	Mediana	Media	Intervalos de confianza		Tamaño de muestra	
			Estimado	Tamaño	Actual	Mínimo
1	62	61.65	59.74 a 63.65	3.91	82	51
2	72	72.06	69.68 a 74.4	4.72	77	68
3	76	80.16	77.65 a 82.58	4.93	66	64
4	77	77.45	75.39 a 79.47	4.08	62	45
5	92	92.38	89.4 a 95.29	5.89	55	77
6	96	96.67	91.51 a 101.85	10.34	55	236
7	103	104.78	99.9 a 109.7	9.8	51	199
8	92.5	97.26	91.52 a 102.98	11.46	56	301
9	108	107.87	103.1 a 112.7	9.6	49	179
10	104.5	103.61	98.9 a 108.3	9.4	52	187

4.3 Soluciones

Se realizó el proceso de regresión simbólica a los datos de cada ensayo y se seleccionaron las ecuaciones que mejor se ajustaron a los datos y fueran más simples. Estas dos características se determinaron por el nivel de significancia y la complejidad -medida por el número y tipo de términos de las ecuaciones-, pero aún con estos criterios se obtuvo una gran cantidad de soluciones. Para reducir esta cantidad se procuró elegir las soluciones que mejor se ajustaran a determinadas características (como la tendencia a aumentar o disminuir), de cada grupo de datos, y que pertenecieran a un mismo tipo de ecuación (por el tipo y cantidad de variables).

De todas las soluciones que se obtuvieron sólo se eligieron las que tuvieran una buena relación de ajuste y complejidad; de este procedimiento se obtuvo un total de trece soluciones (tabla S10), de las cuales solo se utilizaron cuatro (tabla 5). Estas cuatro soluciones muestran diversas características en su gráfica y ecuaciones (Figura 14), que permitieron deducir los modelos que mejor describen el comportamiento.

Tabla 5. Soluciones utilizadas. En la primera columna se encuentran los términos asignados para cada solución, en la segunda el ensayo al que pertenecen, en la penúltima la ecuación de la solución y en la última el estadístico de R^2 .

Soluciones utilizadas			
Solución	Ensayo	Ecuación	R^2
3A	Bombeo a 20 grados	$B = 89.6 + 11.1\cos(T) + 16.7\sin(6.77 T)$	0.62
3B	Bombeo a 15 grados	$B = 87 + 18.9\cos(0.279 T)$	0.75
3C	Defecación a 20 grados	$D = 77.1 - 30.3\cos(75.1 T)$	0.63
1D	Defecación a 15 grados	$D = 84.7 - 21.1\cos(5.93 T)$	0.49

4.4 Modelos

4.4.1 Estimación del modelo

Para estimar los modelos y sus parámetros, primero se determinó qué modelo describe mejor el comportamiento con base a lo observado en las soluciones. Los dos modelos seleccionados están inspirados en sistemas físicos. En particular, consideramos el comportamiento aparentemente oscilatorio decreciente y de saturación. Por ello consideramos el modelo de oscilador armónico amortiguado y el modelo de saturación.

Modelo de oscilador armónico amortiguado

Para el caso de bombeo a 15 grados, tanto la ecuación como la gráfica de la solución 3B (Figura 14 B) son muy similares a un modelo de oscilador armónico amortiguado, el cual se describe por la siguiente ecuación:

$$y = (e^{-\gamma t})(y_0 \times \cos(\omega t))$$

En donde γ es el coeficiente de fricción, que determina qué tan rápido llega a su punto estable el sistema, t es el tiempo, y_0 es el valor inicial y ω es la frecuencia con que oscila el sistema.

Para ajustar este modelo al ensayo de bombeo a 15 grados, se tomó el cuadrado del coseno de la solución 3B ($B = 87 + 18.9\cos(0.279 T)$), para determinar ω . Debido a que es una característica perteneciente a la solución de los modelos con oscilador. Para determinar γ se calculó el exponente con el logaritmo de los datos que se ajustan a la solución 3B, por medio de una regresión lineal. Para y_0 se tomó la media del día uno. La ecuación y parámetros fueron los siguientes:

$$B = (e^{-\gamma t})(B_0 \times \cos(\omega t)) + B_0$$

$$\gamma = 0.05028, \omega = 0.07784, B_0 = 55$$

La gráfica de esta estimación es mala y no se ajusta muy bien a los datos (de los últimos días), pero muestra que el oscilador es sobreamortiguado, ya que no se observa oscilación (Figura 15A). Debido a este resultado, también se optó por evaluar el ajuste de un modelo que solo toma en cuenta la exponencial del modelo de oscilación, de esta forma se determinó que el amortiguamiento en el modelo es el adecuado y el problema es con la frecuencia (figura S13). La ecuación utilizada para este modelo fue la siguiente:

$$B = (e^{-\gamma t})(B_0)$$

Modelo de saturación

El modelo de saturación se utilizó para los ensayos de defecación, ya que al haber poca diferencia en los últimos días de los ensayos, tanto de forma estadística como gráfica, se puede pensar en que se está saturando el sistema. Además, las soluciones 3C y 1D (Figura 14 C y D) muestran una oscilación muy prolongada, dada por una función de coseno que, si bien se ajusta a los datos, no representa la realidad del sistema. Para este modelo se utilizó la siguiente ecuación:

$$D = (A_F - A_0)(1 - e^{-\beta t}) + A_0$$

En donde A_F es el punto de saturación, A_0 es el punto inicial y β es coeficiente que regula la velocidad con que se llega al punto de saturación. Al estimar los parámetros se utilizó la media de los últimos días de los ensayos de defecación para determinar A_F , mientras que para A_0 y β se

estimó manualmente, hasta obtener una gráfica que se ajustara bien a los datos y que comenzará con la media del día uno (Figuras 16A y 17A). Los parámetros estimados fueron:

20 grados: $AF = 96, A0 = 40$ y $\beta = .16$

15 grados: $AF = 104, A0 = 52$ y $\beta = .2$

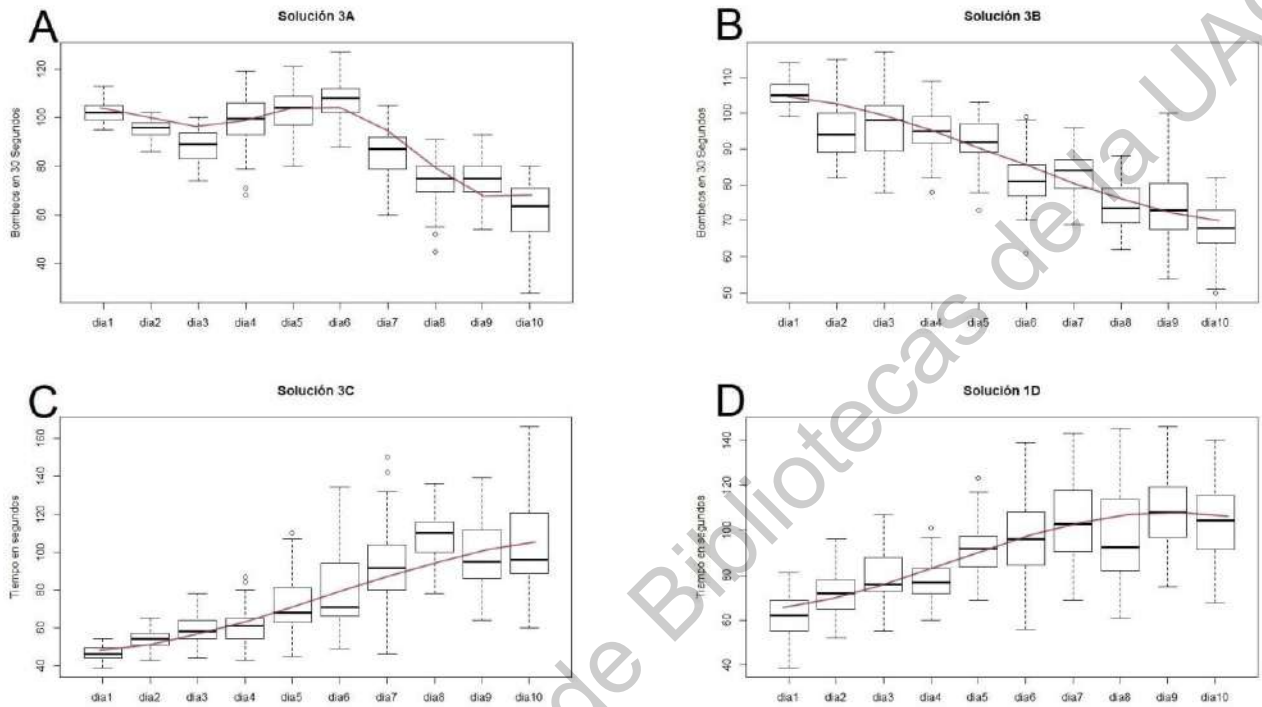


Figura 14. Soluciones escogidas para cada ensayo. En esta figura se encuentran las soluciones seleccionadas para cada ensayo. **A:** Ajuste de la solución 3A para bombeo a 20 grados. **B:** Ajuste de la solución 3B para bombeo a 15 grados. **C:** Ajuste de la solución 3C para defecación a 20 grados. **D:** Ajuste de la solución 1D para defecación a 15 grados.

4.4.2 Ajuste de los modelos

Para el ajuste de los modelos se realizó una regresión no lineal, específica para cada ecuación, que estima los mejores parámetros para los datos. Para el caso de los modelos de saturación fue necesario aumentar el número de días en los ensayos, con datos que replican la media de los últimos días. Esto debido a que la función de regresión ajusta el parámetro AF a un valor muy alto, lejano a la realidad. Para el modelo de defecación a 20 grados se agregaron 3 días, mientras que para el de defecación a 15 grados fueron 2, aunque en este último hubo un buen ajuste con solo diez días, por lo cual se tomaron en cuenta los dos modelos, ya que debido a la dispersión y a la falta de los días posteriores se desconoce cual sería más adecuado.

Las estadísticas de las estimaciones para los parámetros son significativas (tabla 6), fueron obtenidas de ajustes con los datos completos; también se realizaron estimaciones teniendo como datos las medias y medianas. Estos modelos también obtuvieron significancia, pero los parámetros

estimados son diferentes, esto se puede explicar con el tamaño de muestra, ya que los parámetros obtenidos son muy similares (tabla S17) y es difícil distinguir unos modelos de otros de forma gráfica (figuras S8, S9, S10 y S11). Los modelos ajustados y los modelos estimados se pueden comparar en las figuras: 15, 16 y 17

Dirección General de Bibliotecas de la UAQ

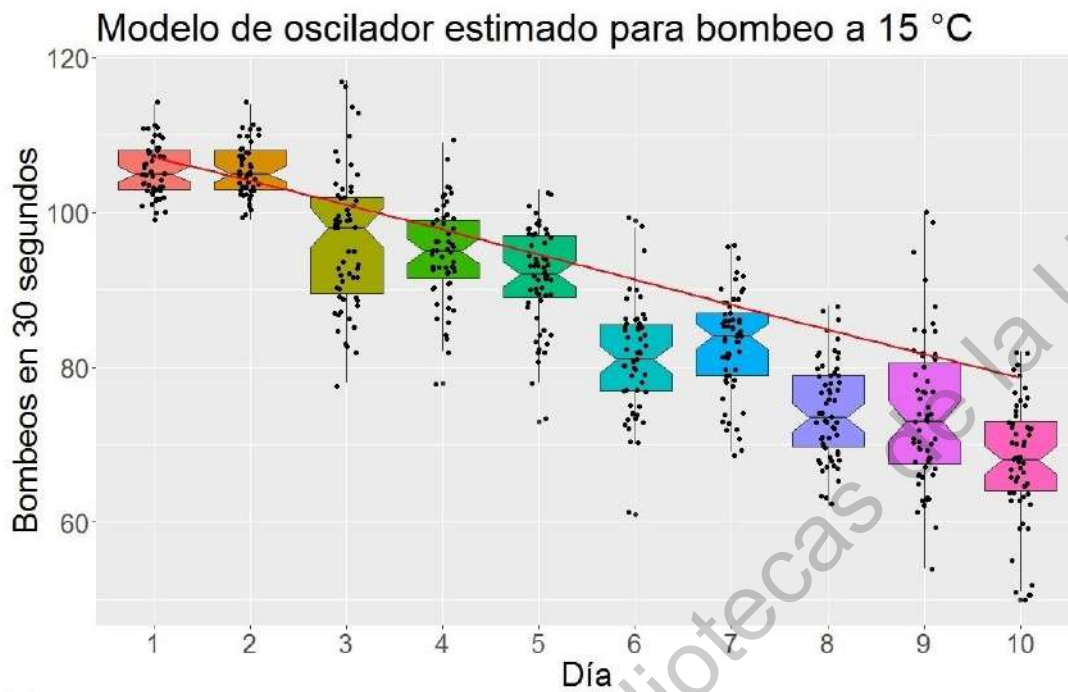
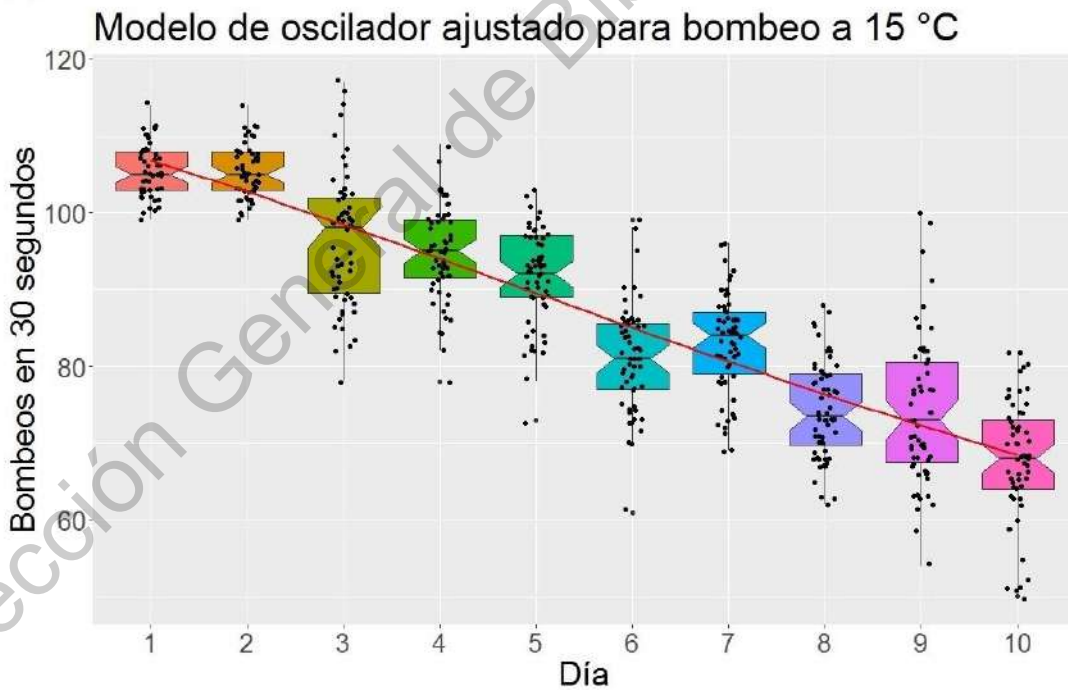
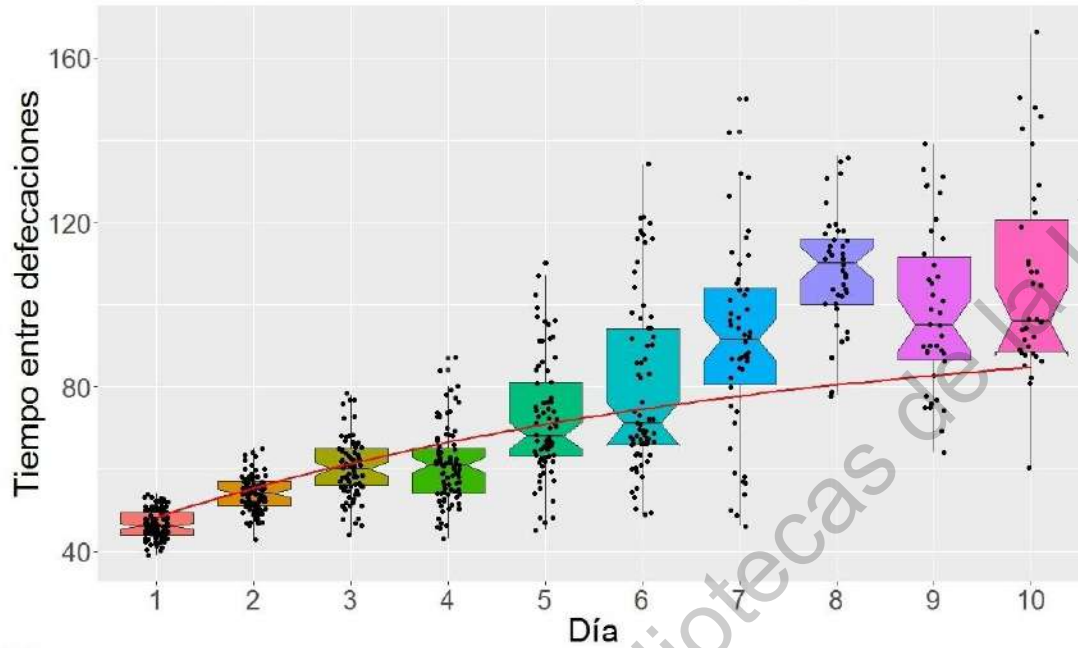
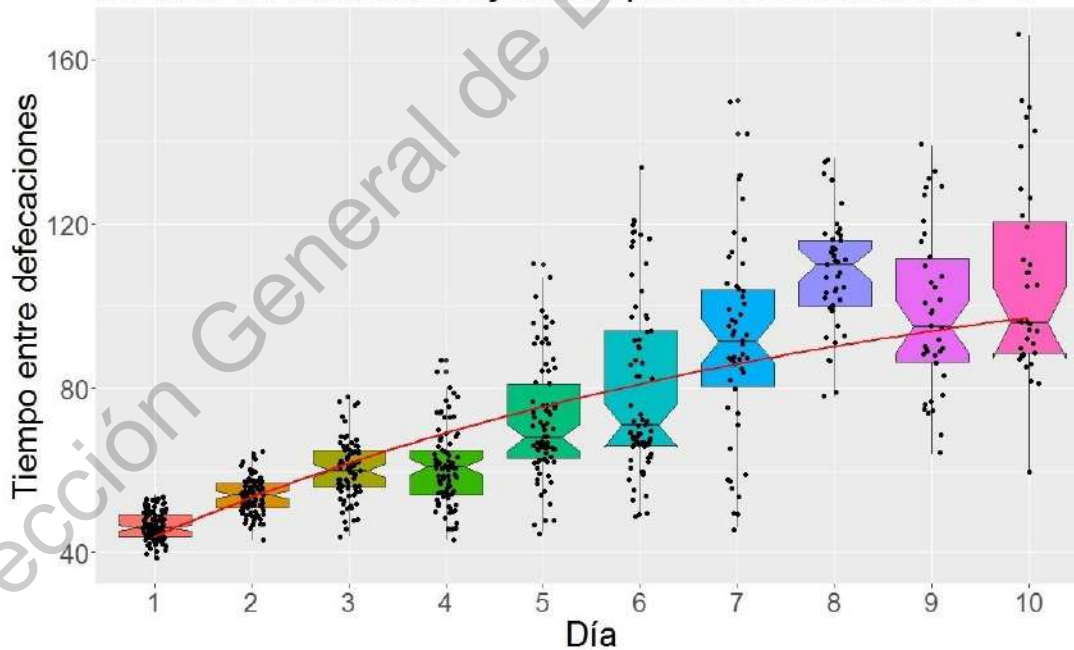
A**B**

Figura 15. Modelos de oscilador amortiguado para bombeo a 15 grados. **A:** Modelo estimado. **B:** Modelo ajustado.

A**Modelo de saturación estimado para defecación a 20 °C****B****Modelo de saturación ajustado para defecación a 20 °C****Figura 16.** Modelo de saturación para defecación a 20 grados. **A:** Modelo estimado. **B:** Modelo ajustado.

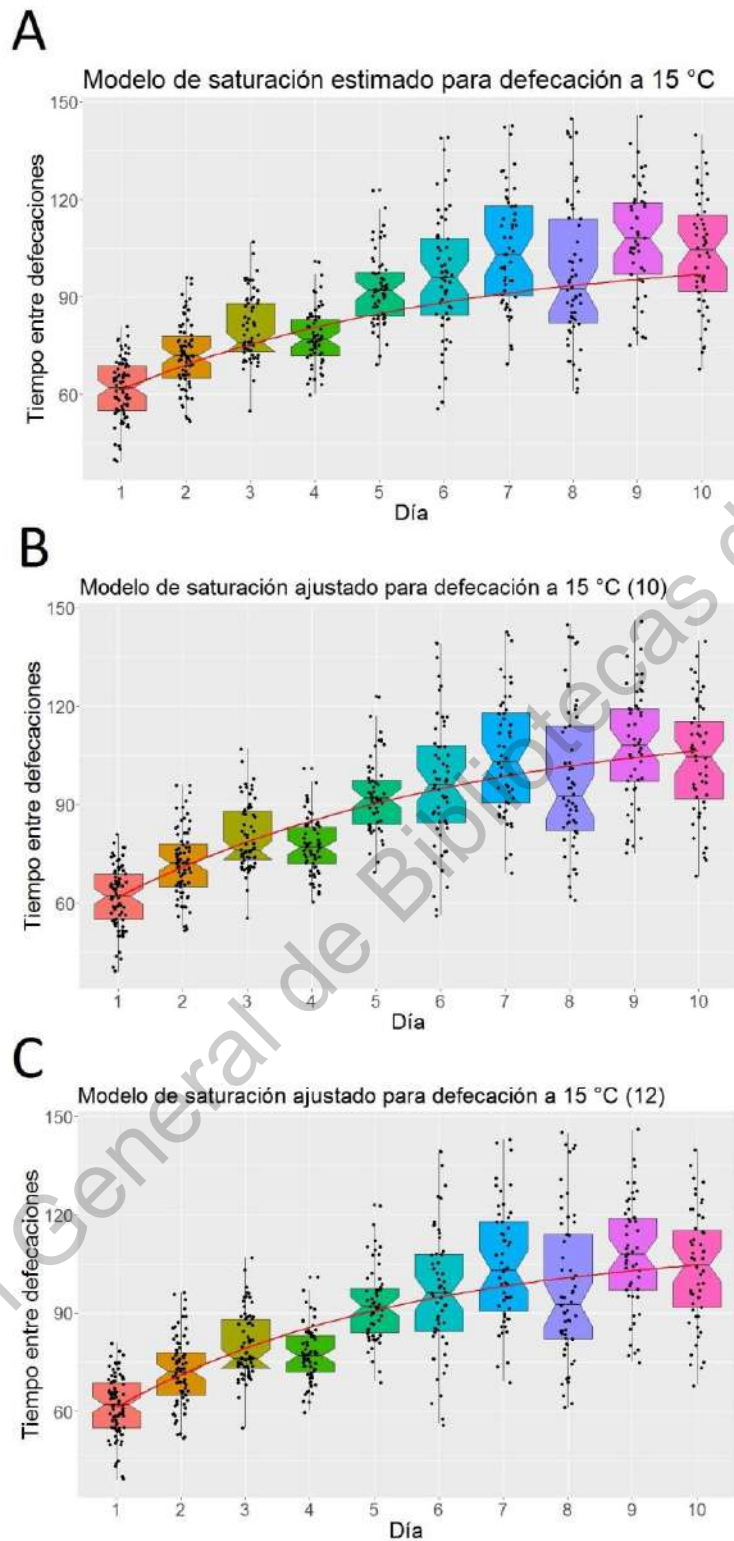


Figura 17. Modelo de saturación para defecación a 15 grados. Se muestran los modelos ajustado y estimado para el ensayo de defecación. **A:** Modelo estimado. **B:** Modelo ajustado con 15 días. **C:** Modelo ajustado con 12 días.

Tabla 6. Estadísticas de parámetros. Esta tabla muestra las estadísticas obtenidas para el ajuste de los parámetros de cada modelo, el valor P indica una mayor significancia estadística al ser más pequeño, los códigos de significancia son los siguientes: $P0 = '***'$, $P < 0.001 = '**'$, $P < 0.01 = '*'$, $P < 0.05 = '.'$, $P < 0.1$ y $' = 1$.

Estadísticas de parámetros						
Modelo	Parámetro	Estimado	Ajuste	Error std.	t	P
Oscilación para bombeo a 15 grados	y	0.0502	0.0635	0.0094	6.70	5.06e-11***
	ω	.077841	0.1103	0.0048	22.80	<2e-16***
	$B0$	55	55.25	0.6116	90.34	<2e-16***
Exponencial para bombeo a 15 grados	y	0.0502	0.0494	0.0012	40.13	<2e-16***
	$B0$	105	113.6	0.771	146.15	<2e-16***
Saturación para defecación a 20 grados	AF	96	119.5715	4.5747	26.137	<2e-16***
	$A0$	40	32.9239	1.8619	17.683	<2e-16***
	β	0.16	0.1354	0.0158	8.538	<2e-16***
Saturación para defecación a 15 grados (10)	AF	104	117.5904	5.6917	20.66	<2e-16***
	$A0$	52	50.7384	2.8162	18.02	<2e-16***
	β	0.2	0.1799	0.0360	4.99	7.9e-07***
Saturación para defecación a 15 grados (12)	AF	104	111.4791	2.7499	40.540	<2e-16***
	$A0$	52	48.8409	2.8816	16.949	<2e-16***
	β	0.2	0.2211	0.0308	17.177	1.81e-12***

5. Discusión

5.1 Uso de regresión simbólica

Aunque fue la metodología principal y de la que se pensaba obtener los modelos, la regresión simbólica no es un método definitivo del que se pueda obtener un buen modelo directamente, esto se debe a que el algoritmo encuentra las soluciones que mejor se ajustan a los datos en lugar de las soluciones que mejor representan los datos y el fenómeno por consiguiente. Otro punto a tomar en cuenta es que las soluciones obtenidas pueden llegar a ser muy complejas, al grado de que incluso las soluciones simples o adecuadas son difíciles de modelar, cómo se puede ver en las tablas S14, S15 y S16.

A pesar de que las soluciones, obtenidas por regresión simbólica, no fueron utilizadas para modelar, fueron muy útiles como modelos base para determinar los modelos posteriores, ya que los tipos de solución y elementos de que están compuestas marcaron un indicio sobre los modelos utilizados.

5.2 Determinación de los modelos

La determinación de los modelos se basó tanto en la solución de la regresión como en las características del comportamiento. Tanto para el modelo de oscilador como para el modelo de saturación se tomó en cuenta que los gusanos mueren en algún momento, situación que no es compatible con las soluciones de regresión simbólica debido a que tienden a oscilar de forma infinita.

Para el caso del modelo de oscilador armónico amortiguado se tomó en cuenta que la solución de bombeo tiende a oscilar alrededor de un coseno, al igual que un oscilador armónico. Esto, sumado a que en algún momento el comportamiento va a detenerse, hacen al oscilador armónico amortiguado un modelo ideal.

Por otra parte, para los ensayos de defecación se obtuvo una ecuación muy similar en la solución, pero en estos casos la frecuencia de coseno es mucho más grande. Esta situación, sumada a que los últimos días tienen poca o nula diferencia, permite deducir que hay una situación de saturación. Este modelo, además de ajustarse, llega a un punto en el que ya no presenta cambios, lo cual es más factible para este comportamiento que seguir oscilando.

5.3 Interpretación de los modelos

Modelo de oscilador armónico amortiguado

El modelo de oscilador armónico simple se utiliza para describir sistemas que, al estar libremente fuera de su punto de equilibrio, tienden a oscilar alrededor de él. Cuando este sistema es amortiguado existe una fuerza, como la gravedad o fricción, que disminuye las oscilaciones hasta llegar al punto de equilibrio (como un péndulo). Este modelo añade al oscilador simple los principios de la segunda ley de Newton, la cual consiste en que el movimiento de un objeto es directamente proporcional a las fuerzas que actúan sobre él.

En cuanto a sistemas biológicos, se han descubierto nuevos genes, involucrados en el ciclo circadiano de *Neurospora*, gracias a que la expresión de estos genes no sigue un ciclo de

oscilación normal sino que lo hace por medio de un oscilador amortiguado o forzado (De los Santos et al., 2017). Otro ejemplo es un modelo que se realizó para describir la interacción entre los receptores de insulina e IGF 1, su interacción es tan compleja, en comparación con otros receptores, que el modelo que describe esta interacción utiliza un oscilador armónico (Kiselyov et al., 2009).

Estos modelos muestran que los osciladores armónicos pueden llegar a ser más comunes de lo que se cree en sistemas biológicos, ¿pero qué es lo que implica para el comportamiento de bombeo de *C. elegans*? Aun faltando información que confirme los estimadores de los parámetros de este modelo, se tiene un buen ajuste del cual se puede hacer una interpretación. Al ser un modelo de oscilador amortiguado se entiende que el sistema puede estar oscilando o no y esto dependerá de los parámetros γ y ω . Estos dos parámetros, en términos del sistema, representan una tasa de envejecimiento (γ) y una frecuencia de alimentación (ω), ambos muestran en la ecuación a qué velocidad se deteriora el comportamiento y de qué forma.

El modelo que se obtuvo es un oscilador sobreamortiguado, lo que significa que se acerca a su punto de equilibrio sin oscilar, pero es cercano a ser subamortiguado, en donde el sistema llega a su punto de equilibrio oscilando. El modelo obtenido se acerca a su punto de equilibrio sin oscilar hasta los últimos días cuando hay una oscilación y luego alcanza el punto de equilibrio (figura S12). Los datos correspondientes con los días de esta oscilación no están disponibles, tampoco los días correspondientes al punto de equilibrio, por lo cual se desconoce si este modelo se ajusta en su totalidad, pero se ajusta muy bien a los datos disponibles, por lo cual es probable que ese sea el comportamiento. Aun difiriendo la realidad con el modelo, bastaría con hacer un nuevo ajuste de parámetros para eliminar esta diferencia.

Entendiendo el modelo de esta forma, el parámetro γ engloba de forma cuantitativa el efecto del tiempo y la temperatura sobre el gusano. El parámetro ω indica la frecuencia de oscilación del comportamiento. Este último parámetro resulta de gran interés ya que se desconoce a qué puede deberse que el sistema llegue a oscilar; una posible explicación es la inducción de un ciclo circadiano o ultradiano. Se ha visto que este gusano tiene la capacidad de desarrollar un ciclo circadiano en condiciones de precondicionamiento con luz o temperatura (Simonetta et al., 2009), también se ha visto que este ciclo circadiano se ve reflejado, tanto en los comportamientos de bombeo y defecación (Migliori et al., 2011), como en la expresión genética. En este último caso se han visto, incluso, genes que se expresan de forma diferencial aún sin precondicionamiento (van der Linden et al., 2010).

Si bien el modelo ajustado solo muestra una oscilación, ésta podría llegar a explicarse por la expresión genética relacionada a los ciclos circadianos. Por otro lado, si esta oscilación no apareciera en ensayos posteriores podría ajustarse el parámetro ω u optar por el modelo exponencial (figura S13). Aun en esta circunstancia el modelo de oscilador puede ser útil en un ensayo en que se induzca un ciclo circadiano, debido a que se puede observar y modelar el efecto del envejecimiento, sobre el ciclo circadiano, al ver oscilaciones decrecientes.

Este modelo solo se ha ajustado al comportamiento de bombeo a 15 grados ya que los resultados del ensayo a 20 grados muestran un comportamiento diferente con un aumento de varios días. Es

posible que este comportamiento se deba más a la bacteria utilizada como alimento que a la temperatura, ya que al envejecer el gusano adquiere dificultad para moler la bacteria y esta coloniza el intestino, induciendo una respuesta inmune (Kumar et al., 2019). Este efecto se puede ver amplificado a una temperatura de 20 grados ya que se favorece el crecimiento de la bacteria, en comparación con una temperatura más baja. De ser esta la situación se podría modelar el comportamiento como un oscilador forzado, en el que la bacteria actúa como una segunda fuerza modificando el sistema, pero primero es necesario demostrarlo con otros ensayos.

Modelo de saturación

El comportamiento de saturación se ha utilizado para definir una gran variedad de fenómenos: la cinética enzimática, difusión facilitada, comportamiento de depredador presa, crecimiento bacteriano o transmisión de infecciones. Todos estos ejemplos comparten el mismo principio pero no utilizan el mismo modelo (Kepner, 2010). Por ejemplo, en la cinética enzimática se utiliza el modelo de Michaelis-Menten, mientras que para el comportamiento depredador presa se puede utilizar el modelo de Lotka-Volterra, ambos utilizan ecuaciones diferentes pero también muestran un comportamiento de saturación. En el caso del modelo de Michaelis-Menten se muestra la saturación de la velocidad enzimática al haber exceso de sustrato; en una modificación del modelo de Lotka-Volterra (Gruber, 1976) la saturación ocurre cuando los depredadores solo pueden consumir una limitada cantidad de presas en determinado tiempo.

Estos modelos llegan a ser de gran utilidad en áreas como: ingeniería metabólica, ecología o, en un caso más concreto, la farmacología, pues se ha utilizado este modelo para ver la cinética de péptidos antimicrobianos (Melo & Castanho, 2007). Por estas razones no es raro encontrar este modelo en los comportamientos de *C. elegans*, pero aún queda averiguar cuál es el mecanismo por el que se induce la saturación.

El modelo utilizado requiere como parámetros los valores inicial y final de defecación y el coeficiente β . Este último parámetro es el que indica a qué velocidad se acerca el comportamiento de defecación a su punto de saturación, también es el que podría mostrar los efectos de la temperatura en el comportamiento, pero es el parámetro que menos difiere entre los ensayos y los ajustes en comparación con los otros dos (tabla 6). Lo que esta situación puede sugerir es que ambas temperaturas afectan de forma diferente a los gusanos, pero no afecta la forma en que cambian a lo largo del tiempo. Esta hipótesis también puede explicar porque los ajustes tienen curvas muy similares pero puntos iniciales y de saturación diferentes (figuras S14 y S15).

Dado que podría haber un problema en el ensayo a 20 grados, similar al de bombeo, se puede suponer también que este comportamiento tiene una baja sensibilidad a la temperatura y pocos mecanismos que responden a esta, ya que también se ha visto que la mutante del gen *clk-1* afecta tanto a bombeo como la defecación, pero en este último hay una pérdida de sensibilidad a la temperatura (Liu et al., 2017). De todo esto se puede deducir que el comportamiento de defecación se ve poco afectado por condiciones ambientales como la temperatura o el alimento (en comparación con bombeo) y que los mecanismos que lo regulan son diferentes a los de otros comportamientos.

5.4 Posibles usos

De entre todas las aplicaciones que pueden tener estos modelos, la más importante es seguir comprendiendo al organismo, usualmente estas herramientas se utilizan para interpretar toda la información que se ha obtenido hasta el momento, pero también se pueden utilizar para mejorar la búsqueda de información. Al tener englobado en una ecuación todo lo que sucede en la vida de un organismo, se pueden entender mejor los cambios metabólicos y fisiológicos que ocurren durante el envejecimiento, complementando los ensayos de supervivencia y esperanza de vida, yendo más allá de interpretaciones subjetivas sobre características cualitativas. Al considerar un parámetro que representa de forma cuantitativa la magnitud y características de un cambio, se puede hacer una observación más objetiva sobre las variables que afectan a un fenómeno continuo.

Conociendo que estos comportamientos siguen un modelo específico, ahora pueden utilizarse como metodología para probar nuevas hipótesis. Sería de gran interés ver cómo cambian los parámetros en una mutante e, incluso, si cambian totalmente los resultados como para cambiar el modelo. Un ejemplo son las mutantes de *daf-16* y *daf-2* que prolongan la esperanza de vida; podría cambiar el parámetro γ en el modelo de oscilador para bombeo y prolongar el descenso de este comportamiento, también podría seguir igual prolongando el tiempo que dura en el punto de equilibrio antes de morir. Esto sería importante para establecer una diferencia entre esperanza de vida y calidad de vida, ya que el ensayo más utilizado para evaluar los efectos del envejecimiento es el ensayo de supervivencia.

Si se llegaran a estandarizar los modelos, con diferentes mutantes y variables, también sería posible llegar a modelar los componentes celulares y moleculares, de la misma forma que lo hizo el grupo de McMullen y colaboradores, pero conectando el modelo molecular al modelo de comportamiento. Otra alternativa es evaluar las interacciones por medio de una red booleana que acople las principales cascadas de señalización con las neuronas anfidas.

6. Perspectivas y conclusiones

Modificaciones y mejoras

Lo primero es cambiar la bacteria o matarla una vez que haya crecido, debido a que al envejecer el gusano presenta dificultad para molerla y ocasiona un efecto patógeno (Kumar et al., 2019), que puede alterar los resultados. En cuanto a los tamaños de muestra, es conveniente aumentarlos para reducir la dispersión o para obtener una homogeneidad de varianzas, ya que si bien con solo diez gusanos se obtiene un buen resultado, para evaluar el comportamiento de adultos de un día es necesario aumentar la muestra conforme se alarga el ensayo, siendo necesario tener una muestra de al menos 36 gusanos pero se recomienda de 60 o más (Simonetta et al., 2009).

En consecuencia con lo anterior es necesario aumentar la cantidad de personas haciendo mediciones o cambiar el método manual por un rastreador de gusanos, de esta forma se aumentaría la cantidad de mediciones simultáneas y se reduciría el tiempo en que se toman, evitando desfases de hasta dos horas entre los primeros gusanos medidos y los últimos.

Por último, es conveniente descartar del ensayo los gusanos que sufrieron de “bagging” o perdieron la integridad de la vulva ya que al aproximarse a esta situación se pueden alterar los resultados. Para prevenir este problema es necesario aumentar aún más el tamaño de muestra por la probabilidad de que esto suceda, ya que es más frecuente que se pierda la integridad de la vulva en gusanos que se encuentran a 15 grados (Leiser et al., 2016).

Conclusiones

En este trabajo pudimos mostrar que es posible implementar el uso de modelos matemáticos para el análisis de comportamientos en el nematodo *C. elegans*. Los modelos son una herramienta muy útil para el estudio del envejecimiento, tanto en la esperanza como en la calidad de vida, al poder comprimir el registro de todo el ciclo de un gusano en un par de parámetros. Sin embargo, aún es necesario ajustar la metodología para controlar los ensayos aún más, con medidas como: cambiar o inactivar la bacteria, aumentar el tamaño de muestra, descartar los gusanos con problemas y mantener las mediciones individuales.

Con base a los resultados obtenidos se puede ver que el comportamiento de bombeo, así como el de defecación, tienden a disminuir su frecuencia con el tiempo. El comportamiento de bombeo se ajustó fácilmente al modelo de oscilador armónico amortiguado, mientras que el comportamiento de defecación se ajustó al modelo de saturación (conforme aumenta el tiempo entre defecaciones).

De estos modelos se puede interpretar que los comportamientos neuromusculares de *C. elegans* siguen un cambio constante y definido. En cuanto al modelo de oscilador armónico, implica que bajo circunstancias específicas (como inducción de ciclos circadianos o ultradianos), el comportamiento de bombeo podría oscilar de forma subamortiguada. En cambio, el modelo de saturación indica que hay un tiempo máximo de defecación y este comportamiento deja de cambiar después de cierta edad en los gusanos.

Perspectivas

Uno de los principales problemas fue la dispersión en los datos al avanzar el tiempo, ya que esto aumenta considerablemente el intervalo de confianza en donde puede encontrarse la media y el tamaño mínimo de muestra necesario. Pero se espera que al tomar en cuenta las consideraciones anteriores, se reduzca notablemente la dispersión, provocada por factores ajenos al envejecimiento y la temperatura. Con lo anterior los estimadores de los parámetros serían mucho más precisos.

Es importante mencionar que una de las ventajas del modelaje, que se vio aquí, es la flexibilidad que existe para interpretar los datos, ya que en otro tipo de trabajo los resultados obtenidos habrían sido insuficientes para hacer una conclusión con respecto a los efectos de una variable. En cambio, fue posible realizar el modelo con estos datos, debido a que un modelo siempre es una aproximación que no llega a ser exacta y, aunque la precisión es menor debido a los estimadores, el modelo no se basa en decisiones arbitrarias.

En cuanto a la elaboración de los modelos, se esperaba que la regresión simbólica fuera el método definitivo para determinar las ecuaciones pero no resultó así; al final sus soluciones no resultaron ser lo que se esperaba. No obstante, fue una herramienta de gran utilidad para determinar los modelos finales. Tanto la regresión simbólica como el modelaje de los comportamientos resultaron ser herramientas eficientes, cuyo alcance ahora es más amplio. En consecuencia, ahora es posible pensar en los métodos de modelaje, no solo como herramientas para analizar la información existente, sino también como técnicas para obtener más información durante un experimento.

Finalmente, esta tesis muestra que es posible modelar los comportamientos de un organismo como es el nematodo *C. elegans*. También, muestra las múltiples técnicas que pueden utilizarse como modelos, así como modelos que se conocen muy bien en el área de la física, pero son de aplicación novedosa en sistemas biológicos. El siguiente paso, en el modelaje de los comportamientos, debe enfocarse en integrar modelos a escala celular y molecular. También, se espera que estos modelos no solo sean útiles para interpretar la información existente, ya que también pueden ayudar a generar información empírica durante una investigación.

7. Anexo: Otros ensayos

Ensayos de coleteo

Al momento de determinar los comportamientos a modelar se realizó un un ensayo con solo diez gusanos para cada comportamiento, uno de estos ensayos fue el ensayo de coleteo, el cual sufre cambios similares a los de bombeo pero es un ensayo más complicado en su medición. Los resultados obtenidos se muestran en las figuras S2 y S3.

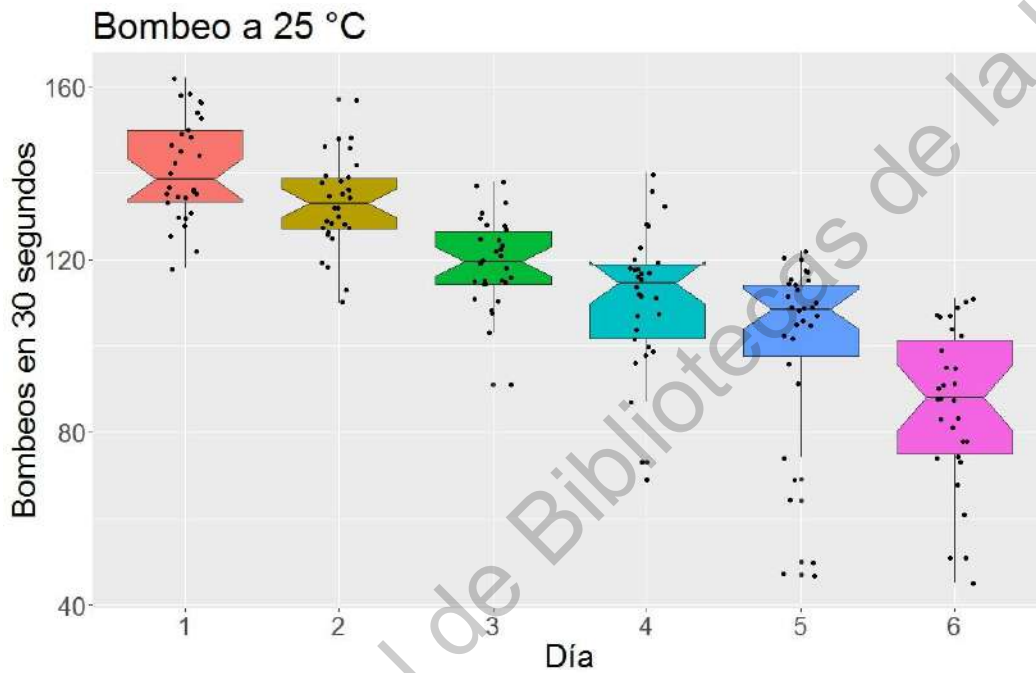


Figura S1. Resultados del ensayo de bombeo a 25 grados

Ensayos a 25 grados

A 25 grados solo se pudo realizar el ensayo de bombeo, debido a la disponibilidad de equipos en laboratorio y a la temperatura ambiental, que llegó a ser más alta de lo necesario para una incubadora que no tiene sistema de enfriado. Los resultados de este ensayo se muestran en la figura S1. A pesar de estar incompletos se nota una clara diferencia con el ensayo a 20 grados(Figura 13).

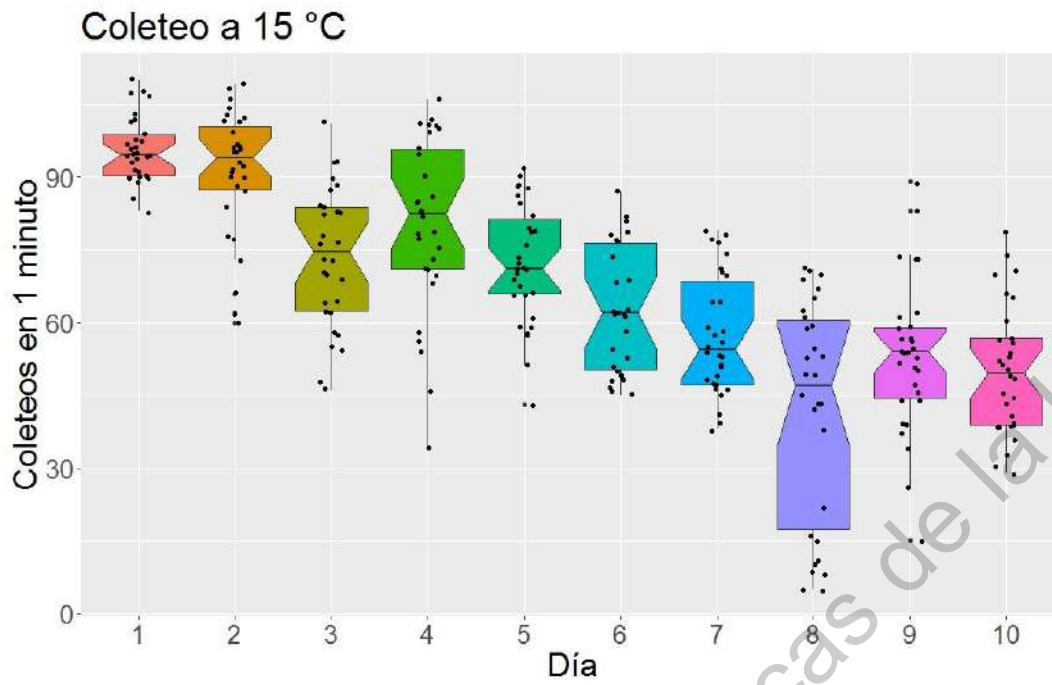


Figura S2. Resultados del ensayo de coleteo a 15 grados

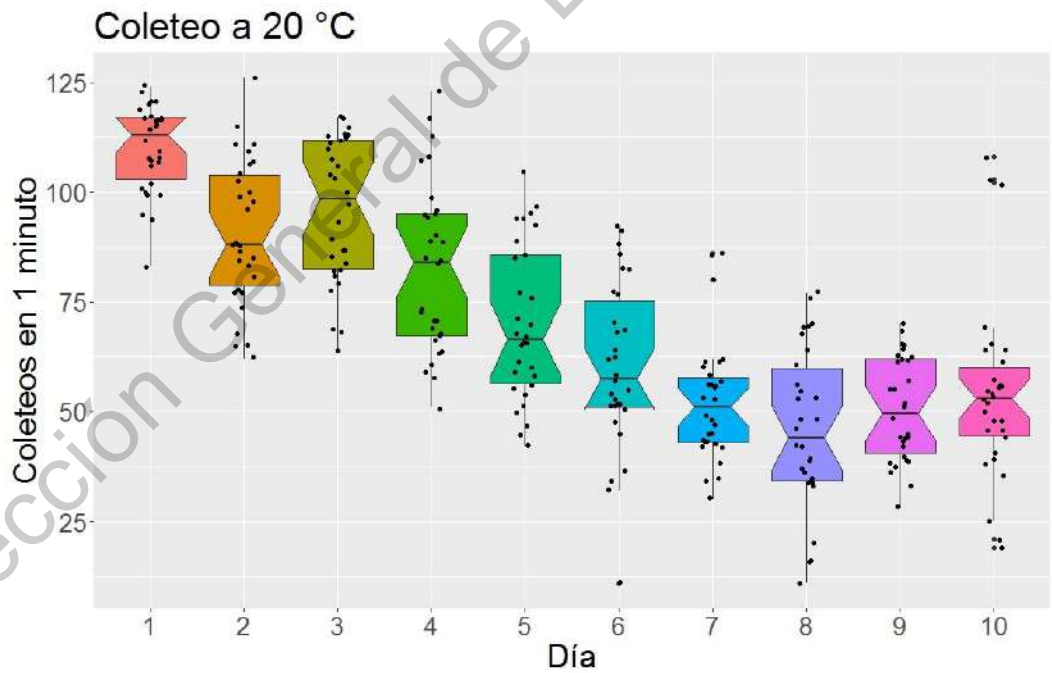


Figura S3. Resultados del ensayo de coleteo a 20 grados

8. Anexo: Estadísticas

A continuación se presentan todas las estadísticas aplicadas a los datos. Comenzando por las estadísticas generales, se encuentran las tablas S1, S2, S3 y S4. En éstas se muestran las medidas de centralidad, las medidas de dispersión, los intervalos de confianza, pruebas de poder y las pruebas de distribución. Para cada ensayo.

Después está la tabla S5, en donde se muestran las pruebas de homocedasticidad de los grupos de días que obtuvieron el mejor resultado (con homogeneidad de varianza) en cada ensayo.

Por último se encuentran las pruebas de wilcoxon (tablas S6, S7, S8 y S9), en donde se muestran las pruebas de cada día con el resto de los días en cada ensayo. Estas pruebas se realizaron de esta forma, debido a que no fue posible realizar una prueba ANOVA, al no haber una homocedasticidad total en ningún ensayo.

Tabla S5. Pruebas de Fligner. En la primera columna se muestran los ensayos a los que se aplicó la prueba; en la segunda se encuentran el máximo de días con homocedasticidad para cada ensayo; en la tercera columna el valor P correspondiente.

Pruebas de Fligner		
Ensayo	Días	P
Bombeo a 20 grados	1 a 7	0.2209
Defecación a 20 grados	1 a 5	0.1473
Bombeo a 15 grados	1 a 7	0.4349
Defecación a 15 grados	1 a 5	0.4266
Defecación a 15 grados	6 a 10	0.4413

Tabla S1: Estadísticas de bombeo a 20 grados. En la primera columna se muestran los días que se están analizando, después en la sección de pruebas de dispersión están los coeficientes de dispersión calculados por media y cuartiles. Las siguientes dos columnas son las medidas de centralidad de mediana y media. La siguiente sección contiene los intervalos de confianza estimados para la media y el tamaño que hay entre estos intervalos, el tamaño deseado es de cuatro máximo. La siguiente sección es para el tamaño de muestra, la primera columna presenta el tamaño de muestra de cada día y la segunda el tamaño de muestra estimado para llegar a determinar el tamaño de intervalo deseado. La última columna muestra el tipo de distribución de los datos con base a la prueba de Shapiro-wilk

Estadísticas de bombeo a 20 grados												
Día / prueba	Pruebas de dispersión		Mediana		Media		Intervalos de confianza		Tamaño de muestra		Distribución	
	Por media	Por cuartiles			Estimado	Tamaño	Actual	Mínimo	P	Tipo		
1	3.68%	2.94%	102	101.83	100.90 a 102.7	1.8	60	14	0.0194	No normal		
2	3.97%	2.61%	96	95.71	94.78 a 96.66	1.88	59	14	0.0581	Normal		
3	8.10%	5.81%	89	88.11	86.37 a 89.95	3.58	60	49	0.0141	No normal		
4	10.47%	6.39%	99.5	98.42	95.76 a 100.91	5.15	54	103	0.0521	Normal		
5	9.21%	5.85%	104	102.81	100.3 a 105.4	5.1	53	87	0.3727	Normal		
6	7.43%	4.67%	108	107.37	105.3 a 109.5	4.2	54	62	0.4373	Normal		
7	12.35%	7.60%	87	85.17	82.37 a 88.8	6.43	52	107	0.1102	Normal		
8	13.93%	7.02%	75	73.66	70.88 a 76.45	5.57	51	102	0.0717	Normal		
9	13.10%	6.53%	75	74.47	71.75 a 77.25	5.5	48	92	0.3038	Normal		
10	23.24%	12.25%	63.5	60.87	57.04 a 64.94	7.9	48	193	0.0014	No normal		

Tabla S2: Estadísticas de defecación a 20 grados. En la primera columna se muestran los días que se están analizando, después en la sección de pruebas de dispersión están los coeficientes de dispersión calculados por media y cuartiles. Las siguientes dos columnas son las medidas de centralidad de mediana y media. La siguiente sección contiene los intervalos de confianza estimados para la media y el tamaño que hay entre estos intervalos, el tamaño deseado es de cinco máximo. La siguiente sección es para el tamaño de muestra, la primera columna presenta el tamaño de muestra de cada día y la segunda el tamaño de muestra estimado para llegar a determinar el tamaño de intervalo deseado. La última columna muestra el tipo de distribución de los datos con base a la prueba de shapiro-wilk.

Estadísticas de defecación a 20 grados											
Día / prueba	Pruebas de dispersión		Mediana	Media	Intervalos de confianza		Tamaño de muestra		Distribución		
	Por media	Por cuartiles			Estimado	Tamaño	Actual	Mínimo	P	Tipo	
1	7.37%	5.63%	46	46.66	46.04 a 47.28	1.24	116	8	0.0144	No normal	
2	7.90%	5.55%	54	53.85	53.04 a 54.7	1.66	98	12	0.3651	Normal	
3	12.76%	8.47%	58	58.91	57.40 a 60.50	3.1	90	35	0.1629	Normal	
4	15.12%	9.24%	61	60.82	58.84 a 62.73	3.89	85	53	0.0363	No normal	
5	20.08%	12.50%	68	72.3	68.88 a 75.52	6.64	75	130	0.0144	No normal	
6	26.83%	17.50%	71	80.05	75 a 84.89	9.89	71	284	6.51E-05	No normal	
7	26.09%	12.73%	91.5	91.24	84.62 a 97.76	13.14	50	349	0.3313	Normal	
8	12.78%	7.40%	110	108.14	104 a 112.4	8.4	41	118	0.6839	Normal	
9	20.07%	12.62%	95	98.57	92.37 a 104.66	12.29	38	241	0.2064	Normal	
10	22.80%	15.31%	96	106.11	98 a 113.8	15.8	35	360	0.0106	No normal	

Tabla S3: Estadísticas de bombeo a 15 grados. En la primera columna se muestran los días que se están analizando, después en la sección de pruebas de dispersión están los coeficientes de dispersión calculados por media y cuartiles. Las siguientes dos columnas son las medidas de centralidad de mediana y media. La siguiente sección contiene los intervalos de confianza estimados para la media y el tamaño que hay entre estos intervalos, el tamaño deseado es de cuatro máximo. La siguiente sección es para el tamaño de muestra, la primera columna presenta el tamaño de muestra de cada día y la segunda el tamaño de muestra estimado para llegar a determinar el tamaño de intervalo deseado. La última columna muestra el tipo de distribución de los datos con base a la prueba de shapiro-wilk.

Estadísticas de bombeo a 15 grados										
Día / prueba	Pruebas de dispersión		Mediana	Media	Intervalos de confianza		Tamaño de muestra		Distribución	
	Por media	Por cuartiles			Estimado	Tamaño	Actual	Mínimo	P	Tipo
1	3.21%	2.37%	105	105.51	104.6 a 106.4	1.8	52	12	0.2735	Normal
2	8.23%	5.82%	94	95.13	93.10 a 97.05	3.95	60	59	0.0056	No Normal
3	9.10%	6.52%	98	96.58	94.27 a 98.69	4.41	59	75	0.4543	Normal
4	6.54%	3.93%	95	94.61	92.98 a 96.22	3.24	55	37	0.8907	Normal
5	6.87%	4.30%	92	91.52	89.96 a 93.19	3.23	57	39	0.1259	Normal
6	8.68%	5.23%	81	81.16	79.29 a 83	3.71	55	48	0.3839	Normal
7	7.82%	4.81%	84	82.98	81.34 a 84.61	3.27	59	41	0.3108	Normal
8	8.43%	6.21%	73.5	74.35	72.8 a 75.9	3.1	60	38	0.4765	Normal
9	12.96%	8.78%	73	74.11	71.69 a 76.53	4.84	59	89	0.1214	Normal
10	11.70%	6.56%	68	67.91	65.86 a 69.96	4.1	57	61	0.059	Normal

Tabla S4: Estadísticas de defecación a 15 grados. En la primera columna se muestran los días que se están analizando, después en la sección de pruebas de dispersión están los coeficientes de dispersión calculados por media y cuartiles. Las siguientes dos columnas son las medidas de centralidad de mediana y media. La siguiente sección contiene los intervalos de confianza estimados para la media y el tamaño que hay entre estos intervalos, el tamaño deseado es de cinco máximo. La siguiente sección es para el tamaño de muestra, la primera columna presenta el tamaño de muestra de cada día y la segunda el tamaño de muestra estimado para llegar a determinar el tamaño de intervalo deseado. La última columna muestra el tipo de distribución de los datos con base a la prueba de shapiro-wilk.

Estadísticas de defecación a 15 grados										
Día / prueba	Pruebas de dispersión		Mediana	Media	Intervalos de confianza		Tamaño de muestra		Distribución	
	Por media	Por cuartiles			Estimado	Tamaño	Actual	Mínimo	P	Tipo
1	14.74%	11.11%	62	61.65	59.74 a 63.65	3.91	82	51	0.6309	Normal
2	14.51%	9.09%	72	72.06	69.68 a 74.4	4.72	77	68	0.4996	Normal
3	12.70%	9.14%	76	80.16	77.65 a 82.58	4.93	66	64	0.0102	No normal
4	10.95%	7.09%	77	77.45	75.39 a 79.47	4.08	62	45	0.7043	Normal
5	12.06%	7.43%	92	92.38	89.4 a 95.29	5.89	55	77	0.3116	Normal
6	20.23%	12.20%	96	96.67	91.51 a 101.85	10.34	55	236	0.8458	Normal
7	17.13%	13.18%	103	104.78	99.9 a 109.7	9.8	51	199	0.5373	Normal
8	22.72%	16.32%	92.5	97.26	91.52 a 102.98	11.46	56	301	0.0315	No normal
9	15.78%	10.18%	108	107.87	103.1 a 112.7	9.6	49	179	0.7274	Normal
10	16.79%	11.35%	104.5	103.61	98.9 a 108.3	9.4	52	187	0.8783	Normal

Tabla S6. Pruebas de Wilcoxon. En cada celda se muestra el resultado de las pruebas de Wilcoxon entre los diferentes días de ensayo (filas por columnas). En color verde se aprecian los días con una diferencia significativa ($P < .05$) y en rojo los días que no cumplen esta característica.

Pruebas de Wilcoxon para el ensayo de bombeo a 20 grados									
Día/Día	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	7.10E-13	2.20E-16	0.0922	0.4415	3.05E-06	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16
2		1.49E-09	0.0088	4.10E-06	9.81E-14	1.29E-09	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16
3			8.58E-09	4.68E-13	2.20E-16	0.1296	3.46E-12	4.81E-11	2.20E-16
4				0.04301	4.41E-06	4.77E-15	1.41E-15	9.62E-15	2.20E-16
5					0.0134	1.56E-12	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16
6						2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16
7							2.37E-07	1.83E-06	1.96E-13
8								0.8664	2.51E-06
9									2.67E-06

Tabla S7. Pruebas de Wilcoxon. En cada celda se muestra el resultado de las pruebas de Wilcoxon entre los diferentes días de ensayo (filas por columnas). En color verde se encuentran los días con una diferencia significativa ($P < .05$), en rojo los días que no cumplen esta característica y en amarillo las pruebas que no tuvieron una muestra lo suficientemente grande.

Pruebas de Wilcoxon para el ensayo de defecación a 20 grados									
Día/Día	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16
2		5.98E-10	9.35E-09	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16
3			0.9527	2.19E-09	5.14E-12	1.83E-12	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16
4				2.79E-08	1.63E-10	1.55E-12	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16
5					0.0597	3.31E-06	4.36E-10	4.90E-10	2.85E-11
6						0.00915	2.48E-09	1.48E-05	1.58E-06
7							5.58E-05	0.1606	0.0154
8								0.0102	0.1943
9									0.2416

Tabla S8. Pruebas de Wilcoxon. En cada celda se muestra el resultado de las pruebas de Wilcoxon entre los diferentes días de ensayo (filas por columnas). En color verde se encuentran los días con una diferencia significativa ($P < .05$) y en rojo los días que no cumplen esta característica.

Pruebas de Wilcoxon para el ensayo de bombeo a 15 grados									
Día/Día	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	5.41E-10	5.44E-10	1.42E-15	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16
2		0.3463	0.7176	0.07596	2.95E-15	7.59E-14	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16
3			0.3231	0.0021	7.91E-15	1.30E-13	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16
4				0.01494	1.84E-14	9.00E-14	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16
5					3.87E-11	8.77E-10	2.20E-16	5.12E-15	2.20E-16
6						0.1117	6.32E-07	8.33E-06	1.69E-13
7							6.90E-10	4.72E-08	6.88E-16
8								0.5162	2.11E-05
9									0.00152

Tabla S9. Pruebas de Wilcoxon En cada celda se muestra el resultado de las pruebas de Wilcoxon entre los diferentes días de ensayo (filas por columnas). En color verde se encuentran los días con una diferencia significativa ($P < .05$) y en rojo los días que no cumplen esta característica.

Pruebas de Wilcoxon para el ensayo de defecación a 15 grados									
Día/Día	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	5.58E-09	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16	2.20E-16
2		2.19E-05	0.0012	9.42E-16	7.35E-13	2.20E-16	4.04E-12	2.20E-16	2.20E-16
3			0.251	3.69E-08	1.73E-07	2.13E-12	4.65E-06	2.05E-14	5.16E-12
4				1.42E-11	3.29E-09	1.22E-14	3.94E-08	1.71E-15	1.30E-13
5					0.1512	0.0001	0.4974	2.01E-06	0.0002
6						0.0398	0.8157	0.0023	0.057
7							0.0311	0.3139	0.8638
8								0.0042	0.052
9									0.2396

9. Anexo: Modelos y soluciones

9.1 Soluciones de regresión simbólica

En las soluciones obtenidas predominan tres tipos de ecuaciones, cada tipo consta de la suma o resta de varios elementos; el primer tipo contiene una constante, la multiplicación de un parámetro por la variable de tiempo y una función trigonométrica. El segundo tipo consiste en una constante con una función trigonométrica; el tercero en una constante con la multiplicación de un parámetro por la variable de tiempo (Tabla S10).

Tabla S10. Soluciones de regresión simbólica. En la primera columna se encuentran los términos asignados para cada solución, en la segunda el ensayo al que pertenecen y en la última la ecuación de la solución.

Soluciones		
Solución	Ensayo	Ecuación
1A	Bombeo a 20 grados	$B = 105 + 10.4\cos(0.685 + T) - 0.326T^2$
2A	Bombeo a 20 grados	$B = 102 + 9.13\cos(0.663 + T) - 0.0339T^3$
3A	Bombeo a 20 grados	$B = 89.6 + 11.1\cos(T) + 16.7\sin(6.77T)$
4A	Bombeo a 20 grados	$B = 99.3 - 0.0354T^3$
1B	Bombeo a 15 grados	$B = 112 - 4.42T - 3.33\sin(-3.84T)$
2B	Bombeo a 15 grados	$B = 112 - 4.37T$
3B	Bombeo a 15 grados	$B = 87 + 18.9\cos(-0.279T)$
1C	Defecación a 20 grados	$D = 34.4 + 7.49T + 6.07\sin(T)$
2C	Defecación a 20 grados	$D = 39.4 + 6.57T$
3C	Defecación a 20 grados	$D = 77.1 - 30.3\cos(75.1T)$
1D	Defecación a 15 grados	$D = 84.7 - 21.1\cos(5.93T)$
2D	Defecación a 15 grados	$D = 61.1 + 4.97T$
3D	Defecación a 15 grados	$D = 59.7 + 5.18T + 21.1\sin(3.11T)$

Bombeo a 20 °C

En el caso de bombeo a 20 °C las soluciones son un poco más complejas, debido a que los resultados muestran un comportamiento irregular, con un aumento en el día cuatro. Las primeras dos soluciones (1A y 2A) son del primer tipo, pero el elemento con la variable de tiempo está elevado a una potencia; estas dos soluciones son las que mejor describen el aumento de bombeo y su disminución posterior (Figura S4 A y B), las soluciones uno y dos tienen una R^2 de 0.65 y 0.66 respectivamente.

La tercera solución (3A) es la solución más simple y que mejor se adapta describiendo el descenso final (Figura S4 C), esta solución está compuesta de una constante y dos funciones trigonométricas, su R^2 es de 0.62.

Debido a la gran cantidad de soluciones para este ensayo se seleccionó una cuarta ecuación que es la más sencilla, pero tiene el menor ajuste, con una R^2 de 0.53, no muestra el aumento del día cuatro pero describe una disminución constante (Figura S4 D).

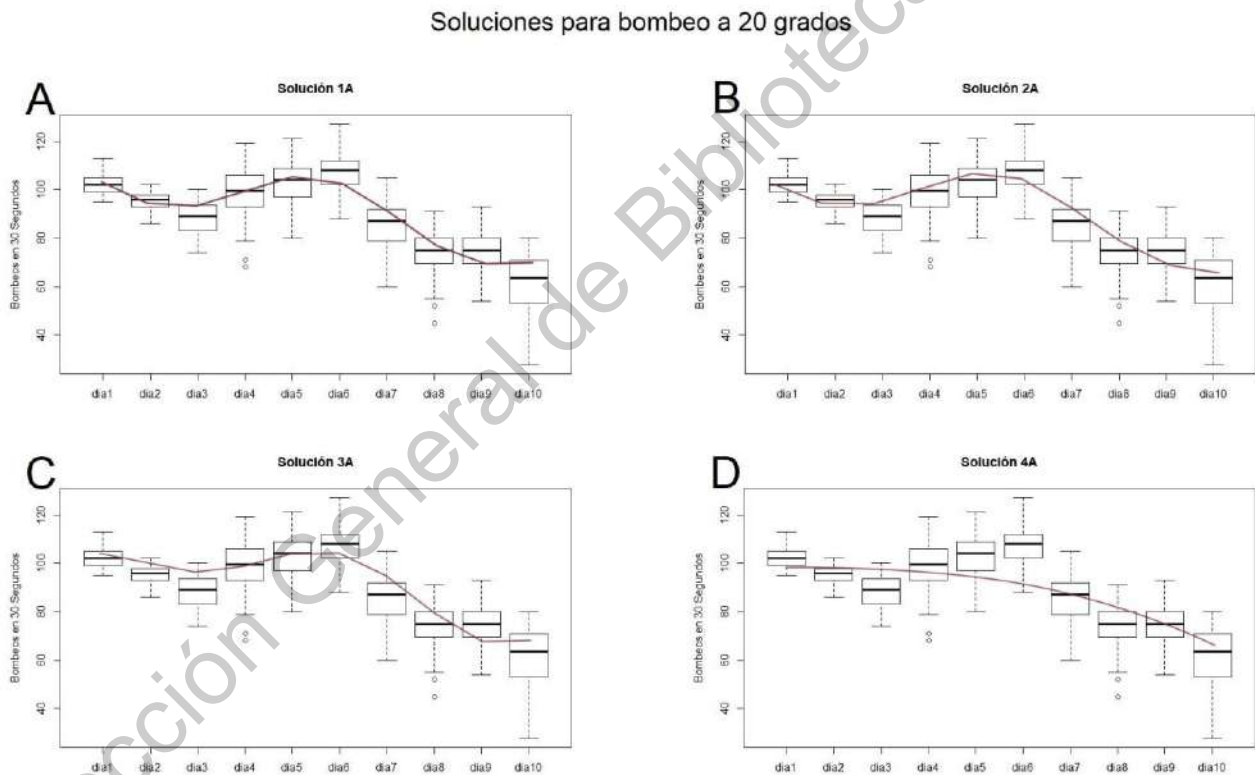


Figura S4. Soluciones para bombeo a 20 grados. En esta figura se ajustaron las soluciones a los datos del ensayo de bombeo a 20 °C. **A:** Ajuste de la solución 1A. **B:** Ajuste de la solución 2A. **C:** Ajuste de la solución 3A. **D:** Ajuste de la solución 4A.

Bombeo a 15 °C

Los resultados que se vieron en este ensayo son los menos dispersos, pero de cambio más lento, por lo que sus ecuaciones tienen poca pendiente (Figura S5). La primera ecuación (1B) es la que mejor ajuste tiene con una R^2 de 0.77 pero es la más irregular (Figura S5 A), esto refleja la variabilidad de los datos pero difícilmente representa la realidad de los gusanos (podría disminuir su significancia con una muestra más grande). La segunda y tercera ecuaciones tienen una R^2 de 0.75 y no tienen esa tendencia irregular que se ve en la primera ecuación (Figura S5 B y C).

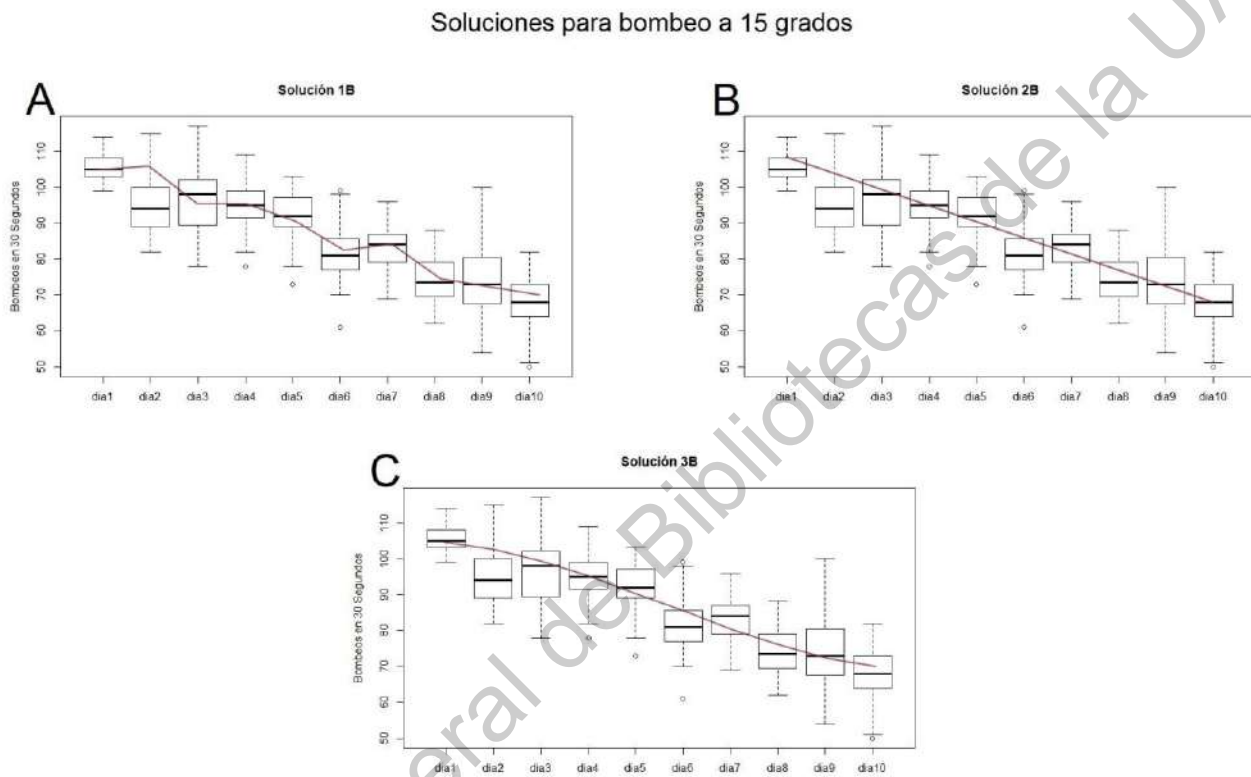


Figura S5. Soluciones para bombeo a 15 grados. En esta figura se ajustaron las soluciones a los datos del ensayo de bombeo a 15 °C. **A:** Ajuste de la solución 1B. **B:** Ajuste de la solución 2B. **C:** Ajuste de la solución 3B.

Defecación a 20 °C

El ajuste de estos datos no fue tan complicado como los de bombeo a 20 °C. Las tres soluciones (1C, 2C y 3C) mostraron un aumento bajo en los últimos tres días (Figura S6), los cuales tienen medias e intervalos muy similares. La primera solución obtuvo un R^2 de 0.64, la segunda de 0.62 y la tercera de 0.63.

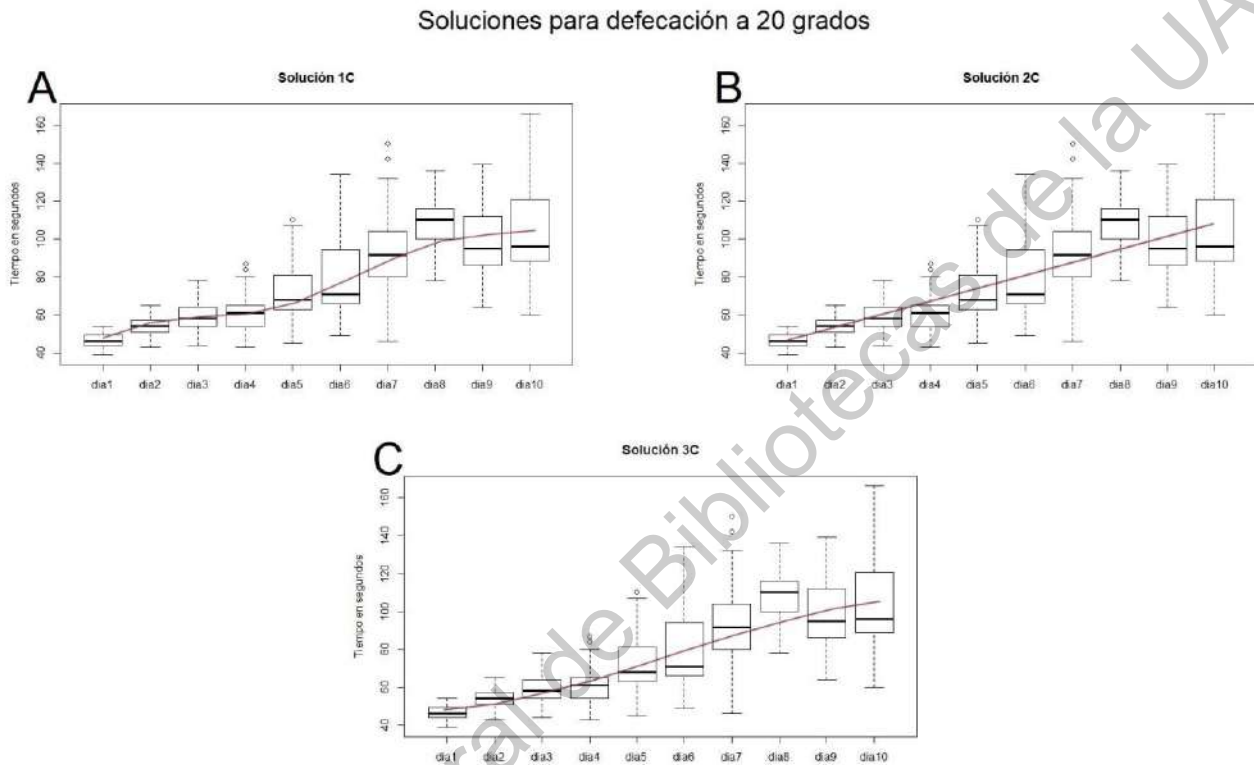


Figura S6. Soluciones para defecación a 20 grados. En esta figura se ajustaron las soluciones a los datos del ensayo de Defecación a 20 °C. **A:** Ajuste de la solución 1C. **B:** Ajuste de la solución 2C. **C:** Ajuste de la solución 3C.

Defecación a 15 °C

Al igual que el caso de defecación a 20 °C el ajuste fue muy similar, pero debido a que el aumento tiende a detenerse en los últimos días, los niveles de ajuste para los modelos fueron más bajos; todas las soluciones (1D, 2D y 3D) tienden a aumentar con el tiempo (Figura S7), aunque sea poco, por lo que la R^2 de estas soluciones es menor: el de la primera y tercera es de 0.49 y el de la segunda es de 0.47.

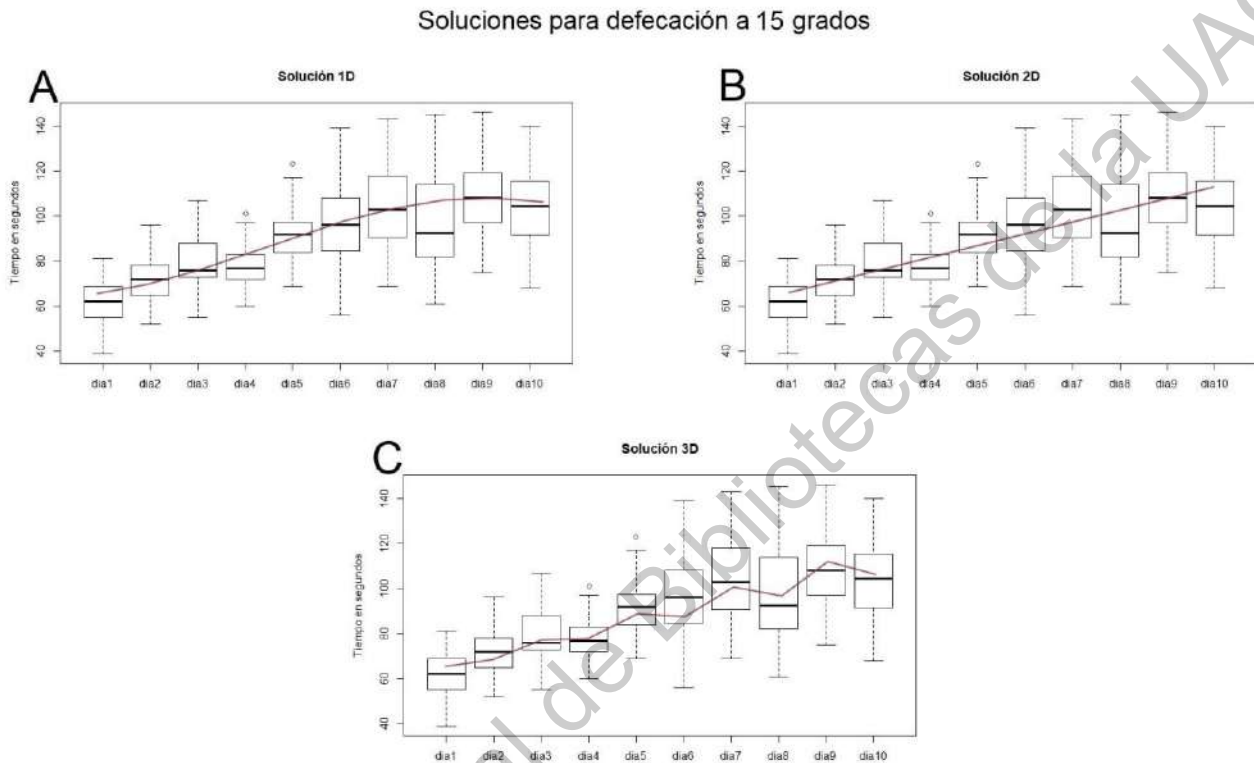


Figura S7. Soluciones para defecación a 15 grados. En esta figura se ajustaron las soluciones a los datos del ensayo de Defecación a 15 °C. **A:** Ajuste de la solución 1D. **B:** Ajuste de la solución 2D. **C:** Ajuste de la solución 3D.

Las estadísticas correspondientes a todas las soluciones seleccionadas se encuentran en la tabla S11, estas estadísticas pertenecen a los resultados del proceso de regresión simbólica.

Tabla S11. En esta tabla se encuentran las estadísticas correspondientes a las soluciones obtenidas por regresión simbólica.

Estadísticas de soluciones					
Solución	R²	Coefficiente de correlación	Error máximo	Error cuadrado medio	Error absoluto medio
1A	0.65	0.81	40.72	95.62	7.19
2A	0.66	0.81	36.98	93.39	7.15
3A	0.62	0.79	35.99	103.40	7.62
4A	0.53	0.73	35.92	129.35	8.59
1B	0.77	0.87	27.26	46.29	5.20
2B	0.75	0.86	26.62	49.98	5.44
3B	0.75	0.86	27.28	50.01	5.41
1C	0.64	0.80	60	209.49	9.70
2C	0.62	0.79	64.59	218.99	10.19
3C	0.63	0.80	62.20	213	10.12
1D	0.49	0.70	43.90	223.93	11.52
2D	0.47	0.69	48.09	233.70	11.67
3D	0.49	0.70	51.59	225.83	11.39

9.2 Modelos de regresión simbólica

Las soluciones obtenidas en la regresión simbólica son las derivadas de los modelos que representan. Para poder obtener estos modelos es necesario integrar las soluciones, este proceso se hizo manualmente; las integrales de las soluciones se pueden ver en la tabla S12.

Tanto las soluciones como las integrales obtenidas están en términos de tiempo y bombeo o defecación, pero el modelo debe estar únicamente en términos de bombeo o defecación, por lo cual se despejó el tiempo de las soluciones y el despeje se utilizó para sustituir el tiempo en las integrales. El resultado de todo esto fue el modelo de estas soluciones (tablas S14, S15 y S16).

Fue complicado despejar las soluciones con funciones trigonométricas, ya que para despejar una variable (o incógnita) de una función trigonométrica es necesario aplicar la inversa de dicha función, lo cual es muy problemático al estar la variable también fuera de esta función. Esta situación hace casi imposible despejar estas ecuaciones; en los casos donde son posibles los despejes dan resultados muy complicados. Para poder despejar el tiempo de estas ecuaciones se utilizaron series de Taylor, que reemplazaron las funciones trigonométricas por una serie de potencias que las aproxima. Gracias a este procedimiento fue posible despejar estas ecuaciones.

Una vez despejadas las ecuaciones con funciones trigonométricas, también se procedió a utilizar series de Taylor con sus integrales para disminuir la complejidad del modelo (tabla S13). Con este método se obtuvieron tres tipos de soluciones: las soluciones exactas, en donde no se utilizaron aproximaciones para despejar (tabla S14); las soluciones aproximadas 1, en donde se utilizaron series de Taylor para despejar (tabla S15); las soluciones aproximadas 2, en donde, además de utilizar series de Taylor, se convirtieron los senos a cosenos (con identidades trigonométricas) para obtener expansiones de hasta segundo grado en lugar de tercer grado. Estas últimas aumentan considerablemente la complejidad del despeje. Gracias a este procedimiento se obtuvieron soluciones menos complejas (tabla S16).

En conclusión, estos modelos pierden precisión conforme aumenta la complejidad de la solución, ya que es necesario hacer más aproximaciones en proporción a dicho aumento. Además de las razones ya mencionadas, esta es otra razón por la que estos modelos no se tomaron en cuenta.

Tabla S12. Integrales exactas. En esta tabla se encuentran las integrales correspondientes a las soluciones, sin aplicarles series de Taylor

Integrales exactas	
Solución	Integral
1A	$\underline{B} = \int . B(T) = 105T - 0.108T^3 + 8.053 \sin(T) + 6.579 \cos(T)$
2A	$\underline{B} = \int B(T) = 102T - 0.0084T^4 + 7.195\sin(T) + 5.619\cos(T)$
3A	$\underline{B} = \int B(T) = 89.6T + 11.1\sin(T) - 2.466\cos(6.77T)$
4A	$\underline{B} = \int B(T) = 99.3T - 0.00885T^4$
1B	$\underline{B} = \int B(T) = 112T - 0.71T^2 - 0.867\cos(3.84T)$
2B	$\underline{B} = \int B(T) = 112T - 2.185T^2$
3B	$\underline{B} = \int B(T) = 87T + 67.74\sin(0.279T)$
1C	$\underline{D} = \int D(T) = 3.745T^2 + 34.4T - 6.07\cos(T)$
2C	$\underline{D} = \int D(T) = 3.285T^2 + 39.4T$
3C	$\underline{D} = \int D(T) = 77.1T - 0.403\sin(75.1T)$
1D	$\underline{D} = \int D(T) = 84.7T - 3.55\sin(5.93T)$
2D	$\underline{D} = \int D(T) = 2.485T^2 + 61.1T$
3D	$\underline{D} = \int D(T) = 2.59T^2 + 59.7T - 6.784\cos(3.11T)$

Tabla S13. Integrales aproximadas. En esta tabla se encuentran las integrales correspondientes a las soluciones en donde se aplicaron series de Taylor.

Integrales aproximadas	
Solución	Integral
1A	$\underline{B} = \int B(T) = 6.579 + 113.053T - 3.289T^2 - 1.45T^3$
2A	$\underline{B} = \int B(T) = 5.61 + 109.19T - 2.8T^2 - 1.19T^3 + 0.225T^4$
3A	$\underline{B} = \int B(T) = 100.7T - 2.46 + 56.51T^2 - 1.85T^3$
1B	$\underline{B} = \int B(T) = 112T - 0.867 + 5.68T^2$
3B	$\underline{B} = \int B(T) = 105.89T - 0.245T^3$
1C	$\underline{D} = \int D(T) = 34.4T - 6.07 + 6.78T^2$
3C	$\underline{D} = \int D(T) = 46.84T + 28449.4T^3$
1D	$\underline{D} = \int D(T) = 63.65T + 123.37T^3$
3D	$\underline{D} = \int D(T) = 59.7T - 6.78 + 35.39T^2$

Tabla S14: Modelos exactos. En esta tabla se muestran los despejes de tiempo y modelos de las soluciones de las soluciones que no requirieron de series de Taylor.

Modelos exactos			
Solución	Despeje de T	Integral	Modelo
4A	$T = \frac{5(\pm 2)^{2/3} \sqrt[3]{993 - 10B}}{\sqrt[3]{177}}$	$\underline{B} = \int B(T) = 99.3T - 0.00885T^4$	$\underline{B} = 99.3 \frac{5(\pm 2)^{2/3} \sqrt[3]{993 - 10B}}{\sqrt[3]{177}} - 0.00885 \left(\frac{5(\pm 2)^{2/3} \sqrt[3]{993 - 10B}}{\sqrt[3]{177}} \right)^4$
2B	$T = \frac{112}{4.37} - \frac{B}{4.37}$	$\underline{B} = \int B(T) = 112T - 2.185T^2$	$\underline{B} = \frac{2.185B^2}{4.37} - \frac{112B}{4.37} + 1435.24$
2C	$T = \frac{D}{6.57} - \frac{39.4}{6.57}$	$\underline{D} = \int D(T) = 3.285T^2 + 39.4T$	$\underline{D} = \frac{3.285D^2}{6.57} + \frac{39.4D}{6.57} - 117.88$
2D	$T = \frac{D}{4.97} - \frac{61.1}{4.97}$	$\underline{D} = \int D(T) = 2.485T^2 + 61.1T$	$\underline{D} = \frac{2.485D^2}{4.97} + \frac{61.1D}{4.97} - 375.57$

Tabla S15: Modelos aproximados 1. En esta tabla se muestran los despejes de tiempo y modelos de las soluciones que requirieron de series de Taylor.

Modelos Aproximados 1			
Solución	Despeje de T	Integral	Modelo
1A	$T = \frac{\pm\sqrt{3}\sqrt{622787747 - 536000000} - 536000000}{8040}$	$\underline{B} = \int B(T) = 6.579 + 113.053T - 3.289T^2 - 1.45T^3$	$\underline{B} = 6.579 + 113.053 \frac{\pm\sqrt{3}\sqrt{622787747 - 536000000} - 536000000}{8040} - 3.289 \left(\frac{\pm\sqrt{3}\sqrt{622787747 - 536000000} - 536000000}{8040} \right)^2 - 1.45 \left(\frac{\pm\sqrt{3}\sqrt{622787747 - 536000000} - 536000000}{8040} \right)^3$
3B	$T = \pm \frac{2}{7} \sqrt{\frac{50B}{1765 - \frac{50B}{3}}}$	$\underline{B} = \int B(T) = 105.89T - 0.245T^3$	$\underline{B} = 105.89 \left(\pm \frac{2}{7} \sqrt{\frac{50B}{1765 - \frac{50B}{3}}} \right) - 0.245 \left(\pm \frac{2}{7} \sqrt{\frac{50B}{1765 - \frac{50B}{3}}} \right)^3$
3C	$T = \pm \frac{\sqrt{5D - 234}}{3\sqrt{47470}}$	$\underline{D} = \int D(T) = 46.84T + 28449.4T^3$	$\underline{D} = 46.84 \frac{\sqrt{5D - 234}}{3\sqrt{47470}} + 28449.4 \left(\frac{\sqrt{5D - 234}}{3\sqrt{47470}} \right)^3$
1D	$T = \pm \frac{1}{9} \sqrt{\frac{10}{229} \sqrt{5D - 318}}$	$\underline{D} = \int D(T) = 63.65T + 123.37T^3$	$\underline{D} = 63.65 \left(\pm \frac{1}{9} \sqrt{\frac{10}{229} \sqrt{5D - 318}} \right) + 123.37 \left(\pm \frac{1}{9} \sqrt{\frac{10}{229} \sqrt{5D - 318}} \right)^3$

Tabla S16: Modelos aproximados 2. En esta tabla se muestran los despejes de tiempo y modelos de las soluciones que requirieron de series de Taylor y uso de identidades trigonométricas.

Modelos Aproximados 2			
Solución	Despeje de T	Integral	Modelo
3A	$T = \frac{113059 \pm \sqrt{5\sqrt{2929799013} - 3708800B}}{9272}$	$\underline{B} = \int B(T) = 100.7T - 2.46 + 56.51T^2 - 1.85T^3$	$\underline{B} = 100.7 \frac{113059 \pm \sqrt{5\sqrt{2929799013} - 3708800B}}{9272} - 2.46 + 56.51 \left(\frac{113059 \pm \sqrt{5\sqrt{2929799013} - 3708800B}}{9272} \right)^2 - 1.85 \left(\frac{113059 \pm \sqrt{5\sqrt{2929799013} - 3708800B}}{9272} \right)^3$
1B	$T = \pm \frac{2}{29} (\sqrt{1498054} - 3625B \pm 1045)$	$\underline{B} = \int B(T) = 112T - 0.867 + 5.68T^2$	$\underline{B} = 112 \left[\pm \frac{2}{29} (\sqrt{1498054} - 3625B \pm 1045) \right] + 5.68 \left[\pm \frac{2}{29} (\sqrt{1498054} - 3625B \pm 1045) \right]^2$
1C	$T = \frac{1}{7} (\pm \sqrt{7000D} + 45659965 - 6775)$	$\underline{D} = \int D(T) = 34.4T - 6.07 + 6.78T^2$	$\underline{D} = 34.4 \left[\frac{1}{7} (\pm \sqrt{7000D} + 45659965 - 6775) \right] + 6.78 \left[\frac{1}{7} (\pm \sqrt{7000D} + 45659965 - 6775) \right]^2$
3D	$T = \frac{5}{81} (\pm \sqrt{2\sqrt{540D} + 2752589} - 2360)$	$\underline{D} = \int D(T) = 59.7T - 6.78 + 35.39T^2$	$\underline{D} = 59.7 \left[\frac{5}{81} (\pm \sqrt{2\sqrt{540D} + 2752589} - 2360) \right] + 35.39 \left[\frac{5}{81} (\pm \sqrt{2\sqrt{540D} + 2752589} - 2360) \right]^2$

9.3 Modelo de oscilador armónico amortiguado

La ecuación y tipo de estabilidad de este modelo se obtuvieron a partir de las soluciones de la ecuación del movimiento, de la segunda ley de Newton:

$$ma + cv + kx = 0$$

Se toman en cuenta la fuerza de amortiguamiento y velocidad (cv), la masa (m) y la fuerza del muelle (kx) en el resorte. Una de las soluciones de esta ecuación es:

$$x = e^{\gamma t}$$

Pero para determinar la estabilidad de la ecuación se recurre a resolver la ecuación de segundo orden mediante dos ecuaciones de primer orden, de la siguiente forma:

$$m\dot{x} + kx + v\dot{x} = 0$$

En donde:

$$a = \dot{x}$$

$$\dot{x} = -\omega x - \frac{v}{m}x$$

$$\omega = \frac{k}{m}$$

Se hace el cambio de variables:

$$z = x$$

$$y = \dot{z}$$

Entonces:

$$\dot{y} = -\omega z - \frac{v}{m}y$$

Debido a que es un sistema lineal, el único punto de equilibrio es $(0,0)$ y los elementos de la matriz jacobiana son los siguientes:

$$M_{11} = 0$$

$$M_{12} = 1$$

$$M_{21} = -\omega$$

$$M_{22} = -\frac{v}{m}$$

De la matriz jacobiana se calcula la determinante y la traza que son:

$$\det(M) = 0 + \omega > 0$$

$$\text{tr}(M) = -\frac{v}{m} = \gamma < 0$$

Estos dos valores demuestran que el único punto de equilibrio puede ser (0,0). Después, para determinar el tipo de estabilidad se utiliza la siguiente fórmula:

$$\text{tr}(M)^2 - 4\det(M)$$

Si el valor resultante es mayor a cero entonces el sistema no oscila (sobreamortiguado), pero si es menor a cero entonces hay oscilaciones (subamortiguado). Los valores obtenidos para el modelo estimado y ajustado fueron -2.11 y -0.43 respectivamente, por lo cual se puede decir que son subamortiguados.

9.4 Modelo de saturación

En el modelo de saturación fue utilizada la siguiente ecuación:

$$y(t) = A(1 - e^{-\beta t}) + A_0$$

$$A = AF - A_0$$

Este modelo funciona gracias al exponente, ya que este se está restando a uno y va a llegar un punto en el que siempre va a resultar uno esta resta; entonces, al estar multiplicándose este resultado (uno) con el valor final, siempre va a ser la solución el valor final:

$$\text{con } t \rightarrow \infty$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} = A + A_0 = A_F$$

Pero si el tiempo es cero entonces el exponente va a ser igual a uno y el resultado de la operación será cero, dejando como resultado el valor inicial:

$$y(0) = A(1 - 1) + A_0 = A_0$$

9.5 Otras gráficas y estadísticas

Al ajustar los modelos también se realizó un ajuste, tomando como datos las medias y medianas de cada día de los ensayos. Estos resultados tuvieron poca diferencia con los ajustes hechos a partir de los datos completos (figuras S8, S9, S10 y S11), pero la significancia de los parámetros estimados disminuyó debido a la baja cantidad de datos (tabla S17).

También se graficaron los modelos estimados y los ajustados, con una extensión de tiempo, para ver su comportamiento después del día diez. Para los ensayos a 20 grados se aumentó el tiempo a 35 días; para los ensayos a 15 grados se aumentó a 40. Todo esto con base a lo que viven los gusanos en estas temperaturas (Zhang et al., 2015). Los modelos correspondientes a cada ensayo se pueden ver en las figuras S12, S13, S14 y S15.

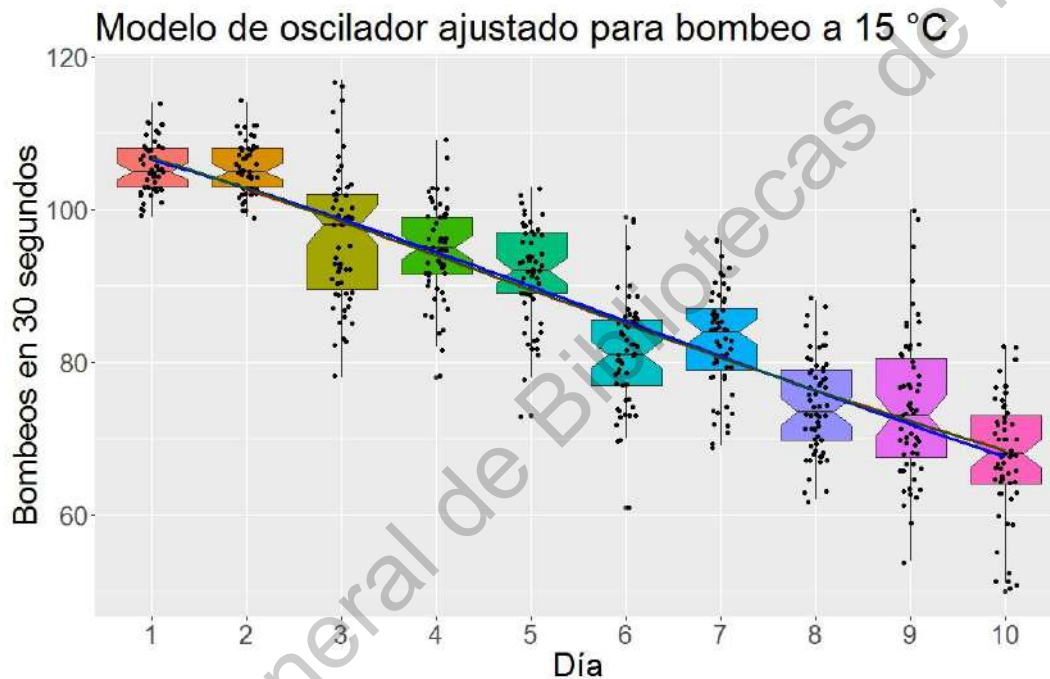


Figura S8. Modelo de oscilador ajustado para bombeo a 15 grados. En esta figura se ajustó el modelo de oscilador armónico amortiguado a las medidas de centralidad del ensayo de bombeo a 15 grados. En color rojo se encuentra el modelo ajustado a los datos completos, en color azul el modelo ajustado a la mediana y en color verde el modelo ajustado a la media.

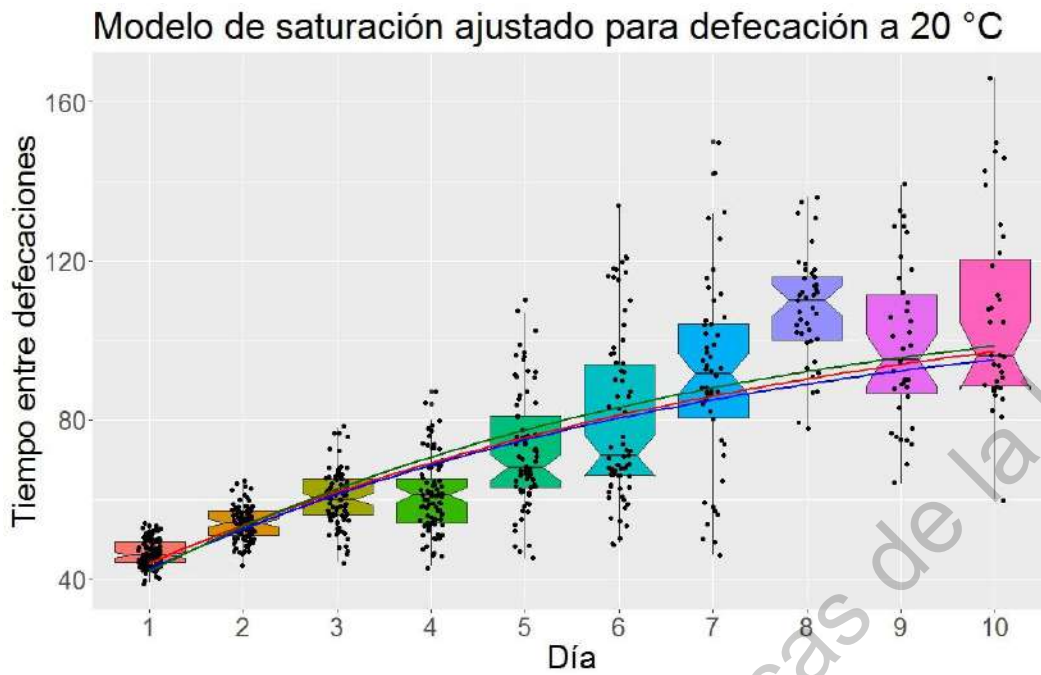


Figura S9. Modelo de saturación para defecación ajustados a 15 grados. En esta figura se ajustó el modelo de saturación a las medidas de centralidad del ensayo de defecación a 20 grados. En color rojo se observa el modelo ajustado a los datos completos, en color azul el modelo ajustado a la mediana y en color verde el modelo ajustado a la media.

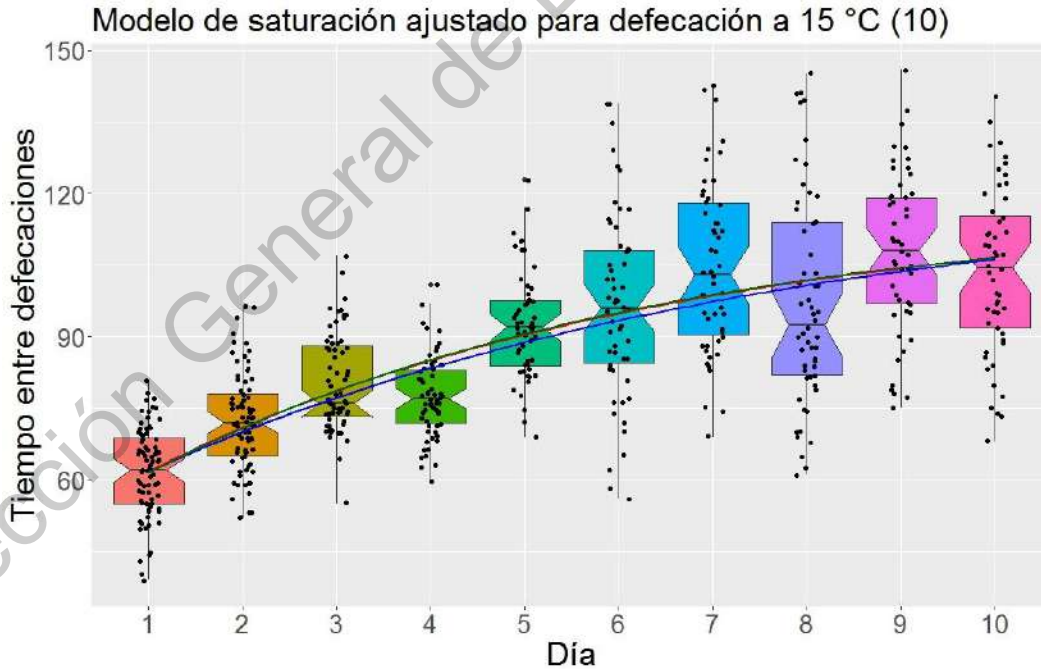


Figura S10. Modelo de saturación ajustado para defecación a 15 grados. En esta figura se ajustó el modelo de saturación a las medidas de centralidad del ensayo de defecación a 15 grados con diez días. En color rojo se observa el modelo ajustado a los datos completos, en color azul el modelo ajustado a la mediana y en color verde el modelo ajustado a la media.

Tabla S17. Esta tabla muestra las estadísticas obtenidas para el ajuste de los parámetros por media y mediana de cada modelo, el valor pr indica una mayor significancia estadística al ser más pequeño, los códigos de significancia son los siguientes: $P0 = '***'$, $P < 0.001 = '**'$, $P < 0.01 = '*'$, $P < 0.05 = '.'$, $P < 0.1$ y $' = 1$

Estadísticas de parámetros por medidas de centralidad					
Ensayo	Parámetro	Ajuste	Error std.	t	P
Bombeo a 15 grados por media	γ	0.0636	0.025	2.543	0.0385*
	ω	0.1105	0.0129	8.526	6.06e-5***
	B0	55.28	1.591	34.748	4.24e-9***
Bombeo a 15 grados por mediana	γ	0.0535	0.0245	2.177	0.0659 .
	ω	0.1161	0.0115	10.099	2.00e-5***
	B0	54.86	1.6185	33.989	5.04e-9***
Defecación a 20 grados por media	AF	114.7604	13.6362	8.416	7.53e-6***
	A0	28.656	10.4713	2.737	0.021*
	β	0.1671	0.0725	2.303	0.0441*
Defecación a 20 grados por mediana	AF	112.1280	17.3495	6.463	7.23e-5***
	A0	30.3934	11.7683	2.583	0.0273*
	β	0.1576	0.0874	1.803	0.1016
Defecación a 15 grados (10) por media	AF	117.1988	12.7346	9.203	3.69e-5***
	A0	50.2274	7.4825	6.713	0.0002***
	β	0.1847	0.0867	2.131	0.0706 .
Defecación a	AF	122.0704	21.3757	5.711	0.0007***

15 grados (10) por mediana	A0	52.0607	7.8811	6.606	0.0003***
	β	0.1488	0.0957	1.552	0.1645
Defecación a 15 grados (12) por media	AF	111.0506	5.3670	20.692	6.72e-9***
	A0	47.9909	6.9196	6.936	6.79e-5***
	β	0.2292	0.0666	3.439	0.0074**
Defecación a 15 grados (12) por mediana	AF	110.7644	6.9953	15.834	7.04e-8***
	A0	49.0269	7.7194	6.351	0.0001***
	β	0.2127	0.0768	2.769	0.0217*

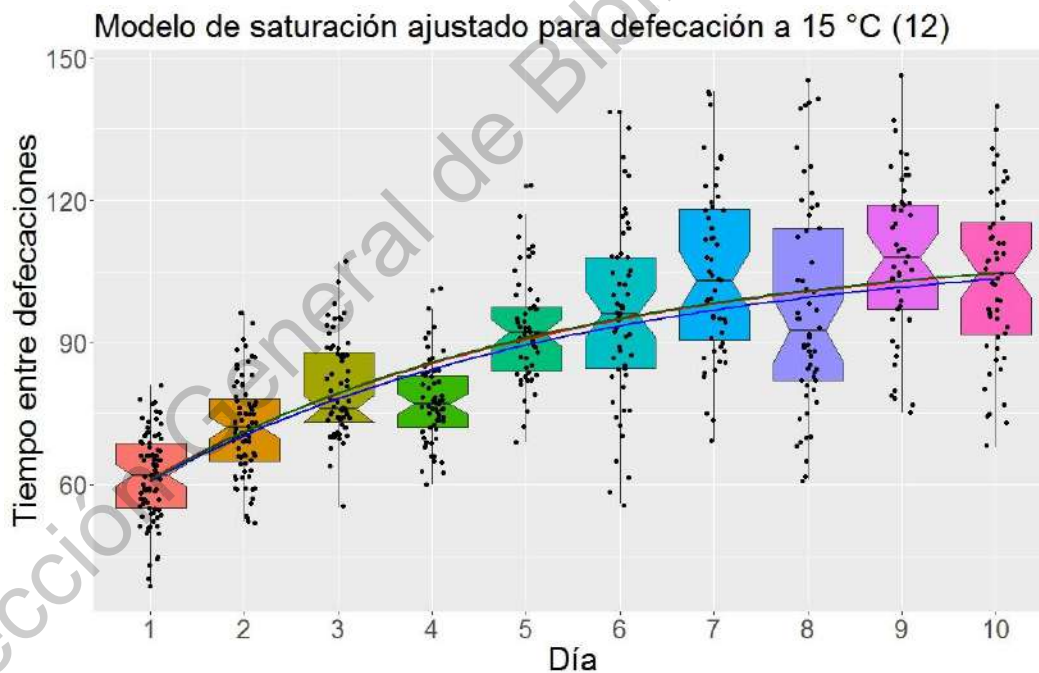


Figura S11. Modelo de saturación ajustado para defecación a 15 grados. En esta figura se ajustó el modelo de saturación a las medidas de centralidad del ensayo de defecación a 15 grados con doce días. En color rojo se ilustra el modelo ajustado a los datos completos, en color azul el modelo ajustado a la mediana y en color verde el modelo ajustado a la media.

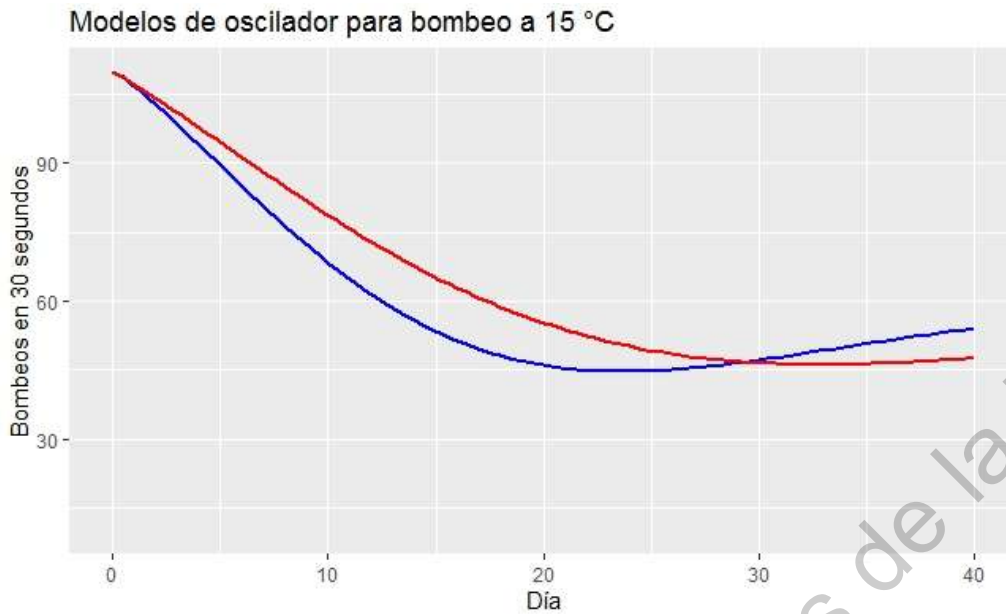


Figura S12. Modelos de oscilador para bombeo a 15 grados. En esta figura se muestran los modelos extendidos de oscilador armónico amortiguado para el ensayo de bombeo a 15 grados. En color rojo se observa el modelo estimado y en color azul el modelo ajustado.

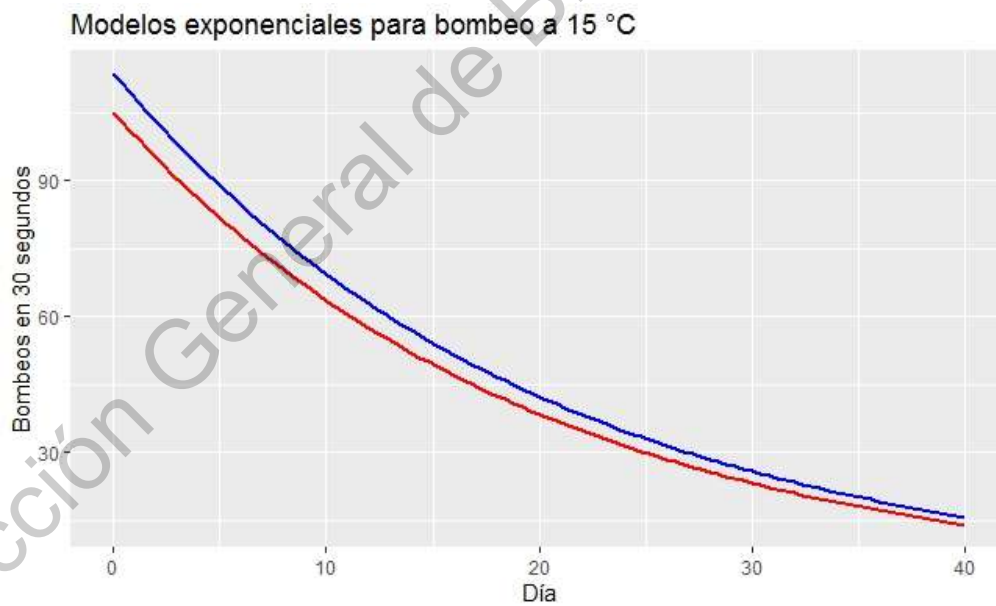


Figura S13. Modelos exponenciales para bombeo a 15 grados. En esta figura se muestran los modelos exponenciales extendidos para el ensayo de bombeo a 15 grados. En color rojo se encuentra el modelo estimado y en color azul el modelo ajustado.

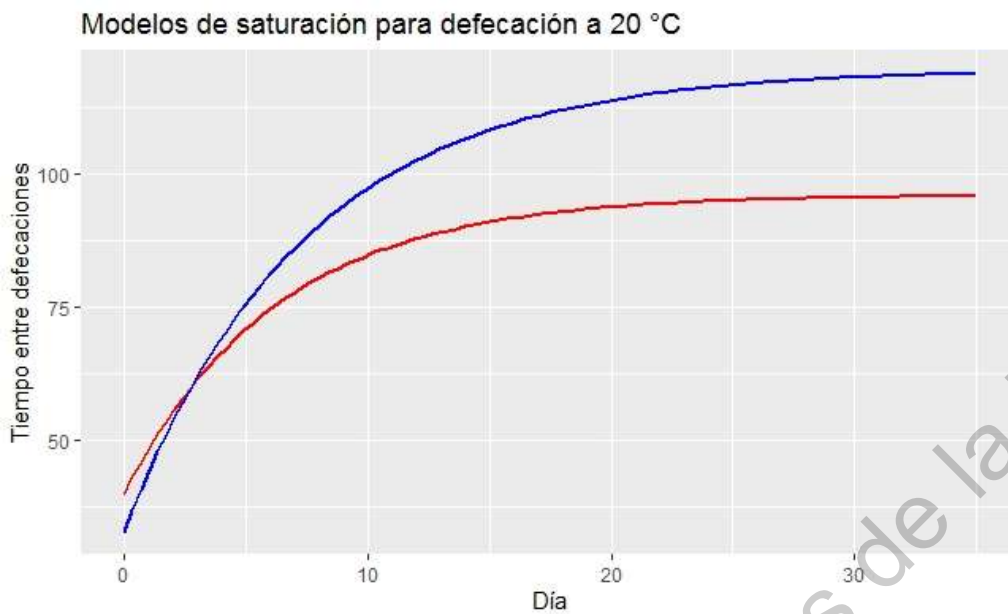


Figura S14. Modelos de saturación para defecación a 20 grados. En esta figura se muestran los modelos extendidos de saturación para el ensayo de defecación a 20 grados. En color rojo se observa el modelo estimado y en color azul el modelo ajustado.

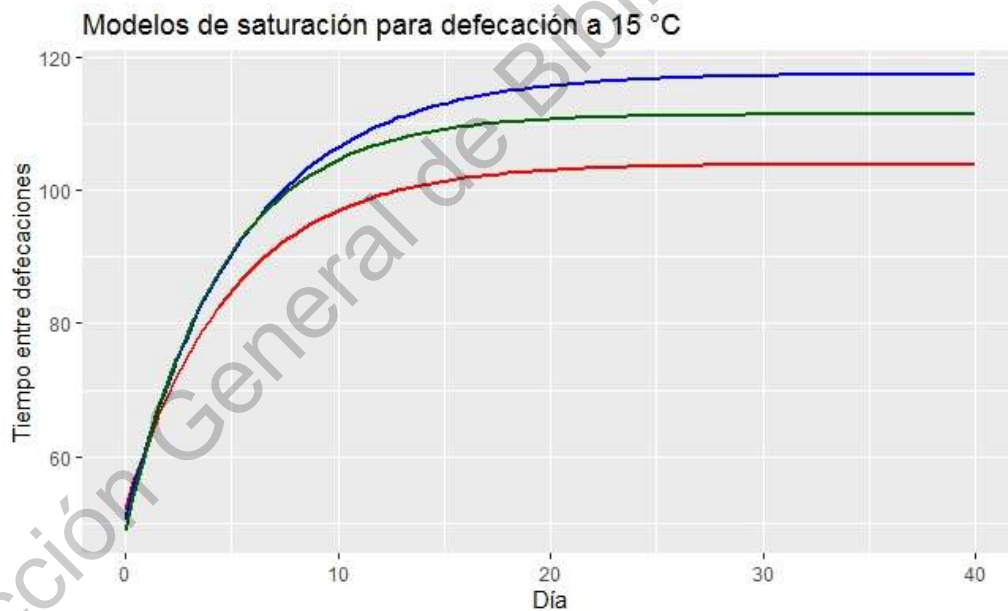


Figura S15. Modelos de saturación para defecación a 15 grados. En esta figura se muestran los modelos extendidos de saturación para el ensayo de defecación a 15 grados. En color rojo se ilustra el modelo estimado, en color azul el modelo ajustado con diez días y en color verde el modelo ajustado con doce días.

10. Anexo: Programas computacionales diseñados

Con el siguiente enlace, se puede acceder a los códigos diseñados para este proyecto:

<https://github.com/JAcarracedo/Modelos-C.elegans.git>

Dirección General de Bibliotecas de la UAQ

Referencias

Alon U., Milo R., Shen-Orr S., Itzkovitz S., Kashtan N., Chklovskii D. (2002). Network Motifs: Simple Building Blocks of Complex Networks. *Science* 298, 824.

Avery, L., Ingalls, B., & Artyukhin, A. (2018). Numerical Modelling of *C. elegans* L1 Aggregation. *IFAC-PapersOnLine*, 51(19), 12–15.

Avery Leon y You Young-Jai. (2012). *C. elegans* feeding. *WormBook*

Bailey, N. T. J. *The Mathematical Theory of Infectious Diseases and Its Applications*. 2nd edn 1–413 (Griffin, London, 1975).

Barabási, A.-L., & Oltvai, Z. N. (2004). Network biology: Understanding the cell's functional organization. *Nature Reviews Genetics*, 5(2), 101–113.

Bartels, J., Golec-Biernat, K., & Kowalski, H. (2002). Modification of the saturation model: Dokshitzer-Gribov-Lipatov-Altarelli-Parisi evolution. *Physical Review D*, 66(1), 014001.

Beigy Maani (2019). *cvcqv: Coefficient of Variation (CV) with Confidence Intervals (CI)*. R package version 1.0.0. <https://CRAN.R-project.org/package=cvcqv>

Benigni romualdo y Giuliani Alessandro. (1994). Quantitative modeling and biology: the multivariate approach. *American Physiological Society*. R1697- R1704.

Canty Angelo and Ripley Brian (2019). *boot: Bootstrap R (S-Plus) Functions*. R package version 1.3-24.

Chatzigeorgiou, M., Yoo, S., Watson, J. D., Lee, W.-H., Spencer, W. C., Kindt, K. S., Hwang, S. W., Miller III, D. M., Treinin, M., Driscoll, M., & Schafer, W. R. (2010). Specific roles for DEG/ENaC and TRP channels in touch and thermosensation in *C. elegans* nociceptors. *Nature Neuroscience*, 13(7), 861–868.

Chow, D., Glenn, C., Johnston, J., Goldberg, I., & Wolkow, C. (2006). Sarcopenia in the *Caenorhabditis elegans* pharynx correlates with muscle contraction rate over lifespan. *Experimental Gerontology*, 41(3), 252–260.

Cohen Netta y Ranner Thomas. (2017). A NEW COMPUTATIONAL METHOD FOR A MODEL OF *C. ELEGANS* BIOMECHANICS: INSIGHTS INTO ELASTICITY AND LOCOMOTION PERFORMANCE. *physics.bio-ph*.

Collins James J., Huang Cheng, Hughes Stacie, Kornfeld Kerry. (2007). The measurement and analysis of age-related changes in *Caenorhabditis elegans*. *WormBook*.

Conti, B. (2008). Considerations on Temperature, Longevity and Aging. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65(11), 1626–1630.

- Corsi Ann K., Wightman Bruce, Chalfie Martin. (2015). A Transparent window into biology: A primer on *Caenorhabditis elegans*. WormBook
- Dall Kathrine B. y Færgeman Nils J. (2019). Metabolic regulation of lifespan from a *C. elegans* perspective. *Genes & Nutrition*. 14:25
- De los Santos, H., Collins, E. J., Hurley, J. M., & Bennett, K. P. (2017). Circadian Rhythms in *Neurospora* Exhibit Biologically Relevant Driven and Damped Harmonic Oscillations. *Proceedings of the 8th ACM International Conference on Bioinformatics, Computational Biology, and Health Informatics*, 455-463.
- Edelman Gerald M. y Gally Joseph A. (2001). Degeneracy and complexity in biological systems. *PNAS*. vol. 98 no. 24. 13763–13768
- Eureqa (1.24.0). (2015). [Software]. Nutonian Inc. <http://52.45.171.32/products/eureqa-desktop/>
- Flavell, S. W., Pokala, N., Macosko, E. Z., Albrecht, D. R., Larsch, J., & Bargmann, C. I. (2013). Serotonin and the Neuropeptide PDF Initiate and Extend Opposing Behavioral States in *C. elegans*. *Cell*, 154(5), 1023–1035.
- Feinberg, E. H., VanHoven, M. K., Bendesky, A., Wang, G., Fetter, R. D., Shen, K., & Bargmann, C. I. (2008). GFP Reconstitution Across Synaptic Partners (GRASP) Defines Cell Contacts and Synapses in Living Nervous Systems. *Neuron*, 57(3), 353–363.
- Gao, A. W., Chatzisprou, I. A., Kamble, R., Liu, Y. J., Herzog, K., Smith, R. L., van Lenthe, H., Vervaart, M. A. T., van Cruchten, A., Luyf, A. C., van Kampen, A., Pras-Raves, M. L., Vaz, F. M., & Houtkooper, R. H. (2017). A sensitive mass spectrometry platform identifies metabolic changes of life history traits in *C. elegans*. *Scientific Reports*, 7(1), 2408.
- Garigan, D., Hsu, A.-L., Fraser, A. G., Kamath, R. S., Ahringer, J., & Kenyon, C. (2002). Genetic analysis of tissue aging in *Caenorhabditis elegans*: A role for heat-shock factor and bacterial proliferation. *Genetics*, 161(3), 1101–1112.
- Glynn Patric, Sathya D. Unudurthi Sathya D, Hund Thomas J. (2014). Mathematical modeling of physiological systems: An essential tool for discovery. *Life Sciences* 111 1–5.
- Golden Tamara R. y Melov Simon. (2007). Gene expression changes associated with aging in *C. elegans*. WormBook
- Gómez-Orte Eva, Cornes Eric, Zheleva Angelina, Sáenz-Narciso Beatriz, de Toro María, Iñiguez María, López Rosario, San-Juan Juan-Félix, Ezcurra Begoña, Sacristán Begoña, Sánchez-Blanco Adolfo, Cerón Julián, Cabello Juan. (2018). Effect of the diet type and temperature on the *C. elegans* transcriptome. *Oncotarget*. Vol. 9, No. 11, 9556-9571.
- Grassly Nicholas C. y Fraser Christophe. (2008). Mathematical models of infectious disease transmission. *nature reviews microbiology*. volume 6

- Gross Juergen and Ligges Uwe (2015). nortest: Tests for Normality. R package version 1.0-4. <https://CRAN.R-project.org/package=nortest>
- Gruber, B. (1976). The influence of saturation on the predator-prey relations. *Theoretical Population Biology*, 10(2), 173-184.
- Hart, A. (2006). Behavior. WormBook.
- Hastings Janna , Mains Abraham, Virk Bhupinder, Rodriguez Nicolas, Murdoch Sharlene, Pearce Juliette, Bergmann Sven, Le Novère Nicolas, Casanueva Olivia. (2019). Multi-Omics and Genome-Scale Modeling Reveal a Metabolic Shift During *C. elegans* Aging. *Frontiers in Molecular Biosciences*. Volume 6, Article 2
- Hedgecock, E. M., & Russell, R. L. (1975). Normal and mutant thermotaxis in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(10), 4061–4065.
- Herndon, L. A., Schmeissner, P. J., Dudaronek, J. M., Brown, P. A., Listner, K. M., Sakano, Y., Paupard, M. C., Hall, D. H., & Driscoll, M. (2002). Stochastic and genetic factors influence tissue-specific decline in ageing *C. elegans*. *Nature*, 419(6909), 808–814.
- Hodgkin, A. L., & Huxley, A. F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *The Journal of Physiology*, 117(4), 500–544.
- Huang Jichang, Wu Zhen, Wang Jie, Zhang Xumin. (2018). Quantitative phosphoproteomics reveals GTBP-1 regulating *C.elegans* lifespan at different environmental temperatures. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1-6
- HyperPhysics Concepts. (s/f). Recuperado el 16 de febrero de 2021, de <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/oscd.html>
- Institut de Biologie du Développement de Marseille-Luminy, CNRS, France, & Barrière, A. (2014). Isolation of *C. elegans* and related nematodes. WormBook, 1–19.
- Israel, G D. "Determining Sample Size." Program Evaluation and Organizational Development, Fact Sheet PEOD-6 (1992).
- Jarrell, T. A., Wang, Y., Bloniarz, A. E., Brittin, C. A., Xu, M., Thomson, J. N., Albertson, D. G., Hall, D. H., & Emmons, S. W. (2012). The Connectome of a Decision-Making Neural Network. *Science*, 337(6093), 437–444.
- Karr, J. R., Sanghvi, J. C., Macklin, D. N., Gutschow, M. V., Jacobs, J. M., Bolival, B., Assad-Garcia, N., Glass, J. I., & Covert, M. W. (2012). A Whole-Cell Computational Model Predicts Phenotype from Genotype. *Cell*, 150(2), 389-401.
- Kepner, G. R. (2010). Saturation Behavior: A general relationship described by a simple second-order differential equation. *Theoretical Biology and Medical Modelling*, 7(1), 11.

Kim Byounghun, Lee Jongsun, Kim Younghun, Lee Seung-Jae V. (2020). Regulatory systems that mediate the effects of temperature on the lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Neurogenetics*.

Kimata Tsubasa, Sasakura Hiroyuki, Ohnishi Noriyuki, Nishio Nana, Mori Ikuo. (2012). Thermotaxis of *C. elegans* as a model for temperature perception, neural information processing and neural plasticity. *Worm*.1:1, 31-41,

Kiselyov, V. V., Versteijhe, S., Gauguin, L., & De Meyts, P. (2009). Harmonic oscillator model of the insulin and IGF1 receptors' allosteric binding and activation. *Molecular Systems Biology*, 5(1), 243.

Kuhara, A., Ohnishi, N., Shimowada, T., & Mori, I. (2011). Neural coding in a single sensory neuron controlling opposite seeking behaviours in *Caenorhabditis elegans*. *Nature Communications*, 2(1), 355.

Kumar Sandeep, Egan Brian M., Kocsisova Zuzana, Schneider Daniel L., Murphy John T., Diwan Abhinav, Kornfeld Kerry (2019). Lifespan Extension in *C. elegans* Caused by Bacterial Colonization of the Intestine and Subsequent Activation of an Innate Immune Response. *Developmental Cell* 49. 100–117

Leiser, S. F., Jafari, G., Primitivo, M., Sutphin, G. L., Dong, J., Leonard, A., Fletcher, M., & Kaeberlein, M. (2016). Age-associated vulval integrity is an important marker of nematode healthspan. *AGE*, 38(5-6), 419-431.

Leiser, S. F., Rossner, R., & Kaeberlein, M. (2016). New insights into cell non-autonomous mechanisms of the *C. elegans* hypoxic response. *Worm*, 5(2), e1176823.

Li Guang, Gong Jianke, Liu Jie, Liu Jinzhi, Li Huahua, Hsu Ao-Lin, Liu Jianfeng, Xu X.Z. Shawn. (2019). Genetic and pharmacological interventions in the aging motor nervous system slow motor aging and extend life span in *C. elegans*. *SCIENCE ADVANCES*. 5 : eaau5041

Liu Ju-Ling, Yee Callista, Wang Ying, Hekimi Siegfried. (2017). A single biochemical activity underlies the pleiotropy of the aging-related protein CLK-1. *Scientific Reports*. 7: 859.

Loeb, J., & Northrop, J. H. (1916). Is There a Temperature Coefficient for the Duration of Life? *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2(8), 456–457.

Lund, J., Tedesco, P., Duke, K., Wang, J., Kim, S. K., & Johnson, T. E. (2002). Transcriptional Profile of Aging in *C. elegans*. *Current Biology*, 12(18), 1566–1573.

Ma Xiang y Shen Yu. (2012). Structural Basis for Degeneracy among Thermosensory Neurons in *Caenorhabditis elegans*. *The Journal of Neuroscience*. 32(1):1–3

Manitz Juliane, contributions by Mark Hempelmann, Goeran Kauermann, Helmut Kuechenhoff, Shuai Shao, Cornelia Oberhauser, Nina Westerheide and Manuel Wiesenfarth (2017). *samplingbook: Survey Sampling Procedures*. R package version 1.2.2. <https://CRAN.R-project.org/package=samplingbook>

McGhee James D. (2007). The *C. elegans* intestine. *WormBook*.

- McKenzie, F. E., Jeffery, G. M., & Collins, W. E. (2002). PLASMODIUM VIVAX BLOOD-STAGE DYNAMICS. *Journal of Parasitology*, 88(3), 521–535.
- McMullen Patrick D., Aprison Erin Z., Winter Peter B., Amaral Luis A. N., Morimoto Richard I., Ruvinsky Ilya. (2012). Macro-level Modeling of the Response of *C. elegans* Reproduction to Chronic Heat Stress. *PLoS Computational Biology*. Volume 8, Issue 1. e1002338
- Melo, M. N., & Castanho, M. A. R. B. (2007). Omiganan interaction with bacterial membranes and cell wall models. Assigning a biological role to saturation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1768(5), 1277-1290.
- Migliori, M. L., Simonetta, S. H., Romanowski, A., & Golombek, D. A. (2011). Circadian rhythms in metabolic variables in *Caenorhabditis elegans*. *Physiology & Behavior*, 103(3-4), 315-320.
- Milliken, G. A. (1990). *Nonlinear Regression Analysis and Its Applications*. *Technometrics*, 32(2), 219–220.
- Motta Santo y Pappalardo Francesco. (2012). Mathematical modeling of biological systems. *BRIEFINGS IN BIOINFORMATICS*. VOL 14. NO 4. 411- 422.
- Pan, C.-L., Peng, C.-Y., Chen, C.-H., & McIntire, S. (2011). Genetic analysis of age-dependent defects of the *Caenorhabditis elegans* touch receptor neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(22), 9274–9279.
- Pickett, C. L., Dietrich, N., Chen, J., Xiong, C., & Kornfeld, K. (2013). Mated Progeny Production Is a Biomarker of Aging in *Caenorhabditis elegans*. *Genes|Genomes|Genetics*, 3(12), 2219–2232.
- R Core Team (2020). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Raizen, D. M., Lee, R. Y., & Avery, L. (1995). Interacting genes required for pharyngeal excitation by motor neuron MC in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 141(4), 1365–1382.
- Rawlings, J. O., Pantula, S. G., & Dickey, D. A. (2001). *Applied Regression Analysis: A Research Tool* {Springer Texts in Statistics}. Springer-Verlag New York Inc.
- Ritu Dhawan, David B. Dusenbery, Ph. (1999). COMPARISON OF LETHALITY, REPRODUCTION, AND BEHAVIOR AS TOXICOLOGICAL ENDPOINTS IN THE NEMATODE CAENORHABDITIS ELEGANS. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 58(7), 451–462.
- Rosenau da Costa, M., Caldeira, A. O., Dutra, S. M., & Westfahl, H. (2000). Exact diagonalization of two quantum models for the damped harmonic oscillator. *Physical Review A*, 61(2), 022107.
- Russell Joshua C., Kim Taek-Kyun, Noori Ayush, Merrihew Gennifer E., Robbins Julia E., Golubeva Alexandra, Wang Kai, MacCoss Michael J., Kaeberlein Matt. (2020). Composition of

- Caenorhabditis elegans* extracellular vesicles suggests roles in metabolism, immunity, and aging. GeroScience.
- Shaye, D. D., & Greenwald, I. (2011). OrthoList: A Compendium of *C. elegans* Genes with Human Orthologs. PLoS ONE, 6(5), e20085.
- Shen Lulu, Hu Yaou, Cai Ting, Lin Xingfeng, Wang Dayong. (2010). Regulation of longevity by genes required for the functions of AIY interneuron in nematode *Caenorhabditis elegans*. Mechanisms of Ageing and Development 131. 732–738.
- Simonetta, S. H., Migliori, M. L., Romanowski, A., & Golombek, D. A. (2009). Timing of Locomotor Activity Circadian Rhythms in *Caenorhabditis elegans*. PLoS ONE, 4(10), e7571.
- Son, H. G., Altintas, O., Kim, E. J. E., Kwon, S., & Lee, S. V. (2019). Age- dependent changes and biomarkers of aging in *Caenorhabditis elegans*. Aging Cell, 18(2).
- Stelling Jörg. (2004). Mathematical models in microbial systems biology. Current Opinion in Microbiology. 7:513–518.
- Sterken, M. G., Bevers, R. P. J., Volkens, R. J. M., Riksen, J. A. G., Kammenga, J. E., & Snoek, B. L. (2020). Dissecting the eQTL Micro-Architecture in *Caenorhabditis elegans*. Frontiers in Genetics, 11, 501376.
- Stiernagle T. Maintenance of *C. elegans*. (2006) In: WormBook: The Online Review of *C. elegans* Biology [Internet]. Pasadena (CA): WormBook; 2005-2018.
- Sugi, T., Nishida, Y., & Mori, I. (2011). Regulation of behavioral plasticity by systemic temperature signaling in *Caenorhabditis elegans*. Nature Neuroscience, 14(8), 984–992.
- Swierczek, N. A., Giles, A. C., Rankin, C. H., & Kerr, R. A. (2011). High-throughput behavioral analysis in *C. elegans*. Nature Methods, 8(7), 592–598.
- Takeishi Asuka, Yu Yanxun V., Hapiak Vera M., Bell Harold W., O'Leary Timothy, Sengupta Piali (2016). Receptor-type Guanylyl Cyclases Confer Thermosensory Responses in *C. elegans*. Neuron 90. 235–244.
- Takeuchi, Y., Du, N. H., Hieu, N. T., & Sato, K. (2006). Evolution of predator–prey systems described by a Lotka–Volterra equation under random environment. Journal of Mathematical Analysis and Applications, 323(2), 938–957. <https://doi.org/10.1016/j.jmaa.2005.11.009>
- Tank, E. M. H., Rodgers, K. E., & Kenyon, C. (2011). Spontaneous Age-Related Neurite Branching in *Caenorhabditis elegans*. Journal of Neuroscience, 31(25), 9279–9288.
- Tanaka Tamotsu, Ikita Kouji, Ashida Tetsuji, Motoyama Yoshiaki, Yamaguchi Yasunori, Satouchi Kiyoshi. (1996). Effects of Growth Temperature on the Fatty Acid Composition of the Free-Living Nematode *Caenorhabditis elegans*. Lipids. Vol. 31, no. 11.

Towlson, E. K., Vértés, P. E., Yan, G., Chew, Y. L., Walker, D. S., Schafer, W. R., & Barabási, A.-L. (2018). *Caenorhabditis elegans* and the network control framework—FAQs. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 373(1758), 20170372.

Uno Masaharu y Nishida Eisuke. (2016). Lifespan-regulating genes in *C. elegans*. *npj Aging and Mechanisms of Disease*. 2, 16010

Uyanik, G. K., & Güler, N. (2013). A Study on Multiple Linear Regression Analysis. *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 106, 234–240.

van der Linden, A. M., Beverly, M., Kadener, S., Rodriguez, J., Wasserman, S., Rosbash, M., & Sengupta, P. (2010). Genome-Wide Analysis of Light- and Temperature-Entrained Circadian Transcripts in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Biology*, 8(10), e1000503.

Wickham H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York, 2016.

Winter Peter B., Brielmann Renee M., Timkovich Nicholas P., Navarro Helio T., Teixeira-Castro Andreia, Morimoto Richard I., Amaral Luis A. N. (2016). A network approach to discerning the identities of *C. elegans* in a free moving population. *Scientific Reports*. 6:34859

Xu, X. (1987). The biological foundation of the Gompertz model. *International Journal of Bio-Medical Computing*, 20(1–2), 35–39.

Yemini, E., Jucikas, T., Grundy, L. J., Brown, A. E. X., & Schafer, W. R. (2013). A database of *Caenorhabditis elegans* behavioral phenotypes. *Nature Methods*, 10(9), 877–879.

Zhang Bi, Xiao Rui, Ronan Elizabeth A., He Yongqun, Hsu Ao-Lin, Liu Jianfeng, Xu X.Z. Shawn. (2015). Environmental Temperature Differentially Modulates *C. elegans* Longevity through a Thermosensitive TRP Channel. *Cell Reports* 11, 1414–1424.

Zhang Mi, Chung Samuel H., Fang-Yen Chris, Craig Caroline, Kerr Rex A., Suzuki Hiroshi, Samuel Aravinthan D.T., Mazur Eric, Schafer William R. (2008). A Self-Regulating Feed-Forward Circuit Controlling *C. elegans* Egg-Laying Behavior. *Current Biology* 18, 1445–1455.