



DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

**TESIS**

**MODELO COMPUTACIONAL DE LA SECRECIÓN  
PULSÁTIL DE INSULINA EN ISLOTES  
PANCREÁTICOS DE TIPO HUMANO**

Que para obtener el grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS (INGENIERÍA BIOMÉDICA)

Presenta:

Rodolfo Misael López Labastida

Asesores:

Dr. en C. José Rafael Godínez Fernández

Dr. en C. Gerardo Jorge Félix Martínez

# Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico, gracias al cual fue posible desarrollar este proyecto.

A la Universidad Autónoma Metropolitana y su planta docente, por haberme brindado las herramientas necesarias para adquirir el conocimiento y las habilidades que permitieron llevar a cabo el desarrollo de este proyecto.

A mis asesores, el Dr. en C. José Rafael Godínez Fernández y el Dr. en C. Gerardo Jorge Félix Martínez por todo el apoyo y enseñanza que me brindaron durante el desarrollo de este proyecto, por ser parte fundamental de esta etapa de mi formación y por todos los consejos que me brindaron.

Al M. en C. Aurelio Nicolás Mata, un gran amigo y colega que me brindó ayuda en cuestiones de cómputo y guió mediante consejos que me permitieron llevar a cabo este proyecto.

A mi familia; a mis padres Cintia Labastida y Rodolfo López, a mi hermana Yaneli Elideth, a mi esposa Elba Cristina, a mi sobrino Giuseppe Roldán y a mi hijo Dante Fernando por su apoyo incondicional.

# Índice

Índice de figuras . . . . .	III
Índice de tablas . . . . .	IV
Resumen . . . . .	1
<b>1. Introducción</b>	<b>2</b>
<b>2. Marco Teórico</b>	<b>4</b>
2.1. Fundamentos . . . . .	4
2.1.1. Páncreas endocrino . . . . .	4
2.1.2. Célula $\beta$ . . . . .	5
2.1.3. Diabetes Mellitus . . . . .	8
2.1.4. Efectos de la Diabetes Mellitus Tipo II . . . . .	9
2.2 Antecedentes . . . . .	10
2.3 Justificación . . . . .	11
2.4 Hipótesis . . . . .	12
2.5 Objetivo General . . . . .	12
2.5.1 Objetivos Específicos . . . . .	12
<b>3. Metodología</b>	<b>12</b>
3.1. Reconstrucción de la arquitectura de los islotes pancreáticos humanos . . . . .	13
3.2. Detección de los contactos entre células $\beta$ en los islotes humanos reconstruidos	14
3.3. Simulando la pérdida de células $\beta$ . . . . .	16
3.4. Análisis cuantitativo de la conectividad de los islotes pancreáticos humanos utilizando teoría de redes . . . . .	18
3.5. Implementación del modelo de osciladores acoplados de Kuramoto para simular la secreción pulsátil de insulina . . . . .	20
3.6. Aspectos computacionales . . . . .	21
<b>4. Resultados</b>	<b>23</b>
4.1. Características de los islotes pancreáticos reconstruidos . . . . .	23
4.2. Análisis de la conectividad de las células $\beta$ en los islotes humanos reconstruidos	28
4.3. Impacto de la pérdida de células en la sincronización de la secreción pulsátil de insulina en islotes humanos . . . . .	28
<b>5. Discusión</b>	<b>34</b>
<b>6. Conclusiones</b>	<b>35</b>
<b>7. Perspectivas</b>	<b>35</b>
<b>Referencias</b>	<b>37</b>

# Índice de figuras

Figura 1	Estructura de los islotes pancreáticos. . . . .	3
Figura 2	Páncreas e islote pancreático. . . . .	5
Figura 3	Homeostasis de la glucosa ante alta y baja glucosa. . . . .	6
Figura 4	Proceso de secreción de insulina de la célula $\beta$ . . . . .	7
Figura 5	Comparación entre sujetos del mismo grupo (sanos y diabéticos): composición total de las células de los islotes en individuos no diabéticos y pacientes con DMT2 . . . . .	10
Figura 6	Resumen de la metodología general . . . . .	13
Figura 7	Metodología general de la reconstrucción de los islotes. . . . .	14
Figura 8	Islotes pancreáticos reconstruidos computacionalmente . . . . .	15
Figura 9	Islotes pancreáticos de humano reconstruidos computacionalmente . . . . .	15
Figura 10	Ejemplo gráfico de los contactos entre células $\beta$ y la matriz de conectividad. . . . .	17
Figura 11	Matriz de conectividad cuando no hay contacto entre células $\beta$ en el islote . . . . .	17
Figura 12	Ejemplo de la arquitectura del islote pancreático en condiciones normales y patológicas. . . . .	18
Figura 13	Ejemplo de la conectividad de las células del islote pancreático en condiciones normales y patológicas. . . . .	19
Figura 14	Interacciones de las células $\beta$ pancreáticas . . . . .	20
Figura 15	Diagrama de flujo general del proceso de simulación. . . . .	22
Figura 16	Islotes pancreáticos reconstruidos: 1 a 10 . . . . .	25
Figura 17	Islotes pancreáticos reconstruidos: 11 a 20 . . . . .	26
Figura 18	Islotes pancreáticos reconstruidos: 21 a 28 . . . . .	27
Figura 19	Redes de las conexiones $\beta$ - $\beta$ : 1 a 10 . . . . .	30
Figura 20	Redes de las conexiones $\beta$ - $\beta$ : 11 a 20 . . . . .	31
Figura 21	Redes de las conexiones $\beta$ - $\beta$ : 21 a 28 . . . . .	32
Figura 22	Métricas de redes de los islotes pancreáticos humanos control y alterados . . . . .	33
Figura 23	Índice de sincronización de la secreción pulsátil de insulina en islotes pancreáticos control y alterados. . . . .	34

# Índice de tablas

Tabla 1	Contactos totales célula a célula en los islotes humanos reconstruidos ( $n = 28$ ) . . . . .	17
Tabla 2	Características básicas de los islotes pancreáticos . . . . .	23
Tabla 3	Estadísticas del proceso de reconstrucción de los islotes humanos . . . . .	24
Tabla 4	Número de células de los islotes pancreáticos control y alterados. . . . .	24
Tabla 5	Número de contactos de los islotes pancreáticos reconstruidos: control y alterados. . . . .	29

# Resumen

La comunicación intercelular en los islotes pancreáticos es clave para la regulación de los niveles de glucosa en sangre y se ve alterada como consecuencia de la diabetes. Dado el gran número de señales paracrinas involucradas en la regulación de la secreción de glucagon, insulina y somatostatina, los islotes pancreáticos constituyen un sistema biológico sumamente complejo. El trabajo experimental en los islotes pancreáticos se ve limitado por consideraciones técnicas que impiden el estudio detallado de la interacción de todas las señales involucradas. Es por esto que, como complemento al trabajo experimental, es pertinente construir un modelo computacional que nos permita dilucidar las implicaciones funcionales de las señales intercelulares en los islotes pancreáticos tanto en condiciones normales como patológicas. Una de los principales problemas de salud pública a nivel mundial es la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2), enfermedad que afecta tanto la arquitectura de los islotes pancreáticos como el funcionamiento de las células que los conforman, y con esto, alterando la comunicación intercelular. Una de las alteraciones producidas en la arquitectura de los islotes pancreáticos como consecuencia de la DMT2 es la pérdida de masa de las células  $\beta$ , que es uno de los objetos de estudio de esta tesis. Existe evidencia experimental que ha mostrado que la secreción de insulina es pulsátil, lo que es originado por la sincronización de la actividad secretoria de las células  $\beta$  dentro de los islotes, como resultado de la comunicación eléctrica a través de uniones comunicantes por un lado, y la regulación paracrina y autocrina por el otro. Tomando en cuenta todo lo mencionado, en este trabajo se propone el estudio de la sincronización de la secreción de insulina en islotes humanos reconstruidos computacionalmente evaluando la importancia de la comunicación intercelular y el efecto de la pérdida de masa de células  $\beta$ , emulando etapas tempranas de la DMT2.

# 1. Introducción

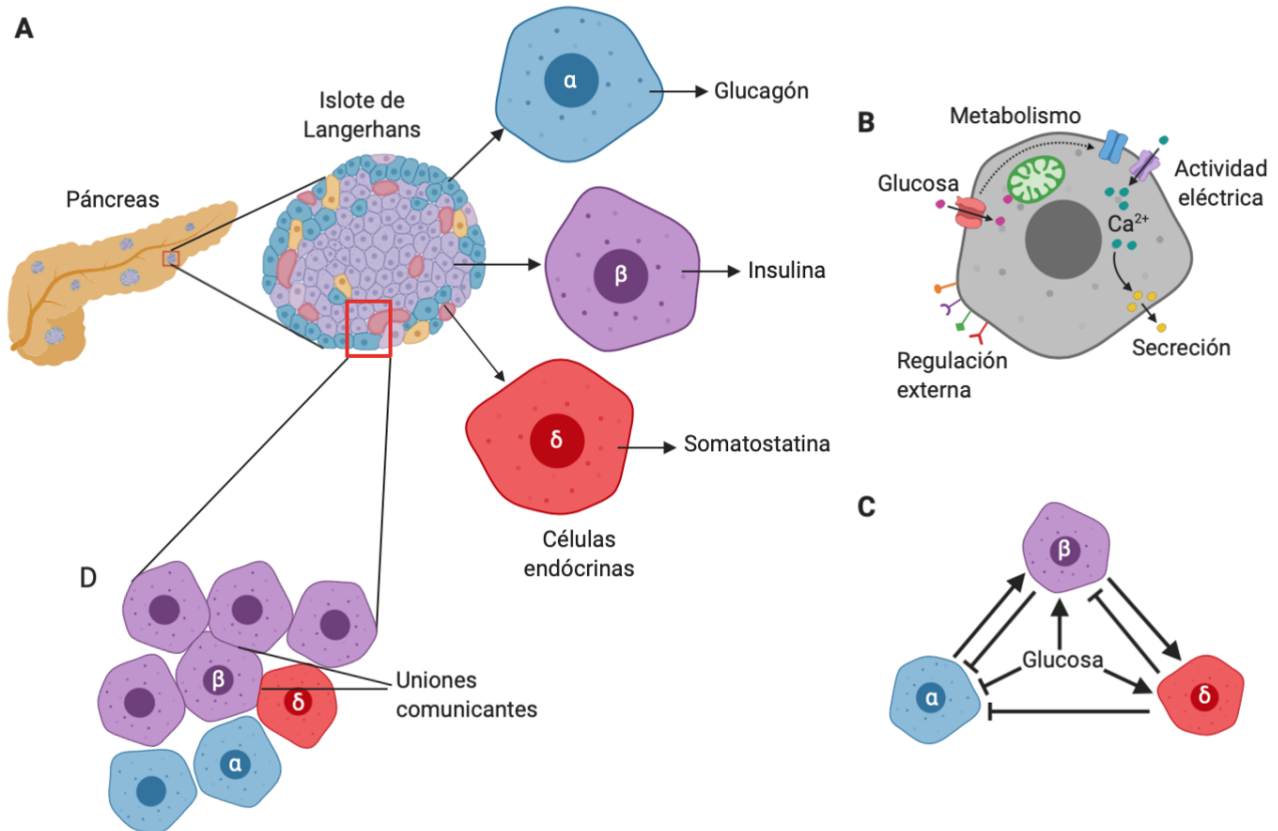
Las células  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$  pancreáticas, secretoras de glucagón, insulina y somatostatina, respectivamente, son las principales células endocrinas del páncreas (Fig. 1A) y son clave para la regulación de los niveles de glucosa en la sangre. Mientras el glucagón promueve la liberación de glucosa del hígado ante un estado de hipoglucemia, la insulina juega un papel opuesto al secretar insulina y promover el consumo y almacenamiento de glucosa en células hepáticas, musculares y adiposas [1]. La somatostatina, por otro lado, secretada al igual que la insulina en respuesta a un aumento en la concentración de glucosa, participa de manera indirecta en la homeostasis de la glucosa mediante la regulación de la secreción de insulina y glucagón [2].

Las células endocrinas pancreáticas son células excitables, y como tales, dependen de la producción de actividad eléctrica la cual activa su función secretora [2–4]. Las células  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$  pancreáticas comparten un mecanismo general de secreción (esquemático en la Figura 1B) que consiste en el transporte y metabolismo de la glucosa, esto desencadena la producción de actividad eléctrica y como consecuencia la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  a la célula, este flujo de  $\text{Ca}^{2+}$  al interior de la célula actúa como señal que promueve la función de exocitosis de las hormonas pancreáticas. A pesar de esto, a la fecha muchas de las particularidades asociadas a la estimulación y regulación de las células  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$  son aún materia de debate.

Dentro del páncreas, las células  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$  están organizadas en grupos de células conocidos como islotes pancreáticos (Figura 1A) también denominados Islotes de Langerhans debido a que las primeras descripciones de dichos islotes fueron realizadas por Paul Langerhans [18,19]. En los humanos, las células  $\beta$  representan entre un 50 y 75% de los islotes, las células  $\alpha$  entre 25 y 35% y las células  $\delta$  entre 5 y 10% [5]. Los islotes pancreáticos constituyen la parte endocrina del páncreas y se encuentran dispersos en el páncreas exocrino [6]. En ellos, las células  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$  (y otras células presentes en porcentajes menores), comparten un ambiente propicio para la interacción paracrina y eléctrica entre ellas, lo que permite les permite llevar a cabo su función de regulación de la homeostasis de la glucosa entre ellas [3, 7, 8]. Estas interacciones intercelulares, que en los islotes dependen fuertemente del número, localización y organización de las diferentes células (es decir, de la arquitectura de los islotes pancreáticos) [9–11], son en la actualidad tema de intenso estudio por su importancia para la regulación de la glucosa tanto en condiciones normales como patológicas.

Las células endocrinas pancreáticas responden a una multitud de señales provenientes de las células vecinas (regulación paracrina). Como se muestra en la Figura 1.C, las hormonas secretadas por las células  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$ , tienen efectos regulatorios en las células vecinas con implicaciones funcionales que siguen siendo materia de investigación. Hasta donde se conoce, el glucagón secretado por las células  $\alpha$  promueve la secreción de insulina de las células  $\beta$ . La insulina secretada por las células  $\beta$  inhibe la secreción de glucagón de las células  $\alpha$ , al mismo tiempo que promueve la secreción de somatostatina de las células  $\delta$ . La somatostatina, por su parte, inhibe la secreción tanto de glucagón como de insulina [8].

Otras moléculas secretadas por las mismas células pancreáticas participan en la señalización dentro de los islotes. Como se describe en una revisión reciente sobre el tema [8], estas se pueden clasificar en activadores e inhibidores de las diferentes células pancreáticas endocrinas. Entre los inhibidores de la célula  $\alpha$  se han encontrado moléculas secretadas por las células  $\beta$ , como la insulina, serotonina y el ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), además de la



**Figura 1.** Los islotes de pancreáticos constituyen la parte endocrina del páncreas y se encuentran dispersos en el tejido exocrino. **A.** Los islotes se forman principalmente por células  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$  secretoras de glucagón, insulina y somatostatina, respectivamente. **B.** Aunque con sus particularidades que les permiten responder de diferente manera a los cambios de glucosa, las células  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$  comparten un mecanismo general de secreción. **C.** Dentro de los islotes pancreáticos las células  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$  se encuentran inmersas en un ambiente propicio para la señalización paracrina. **D.** Las células  $\beta$  se comunican eléctricamente entre ellas (y tentativamente con las células  $\delta$ ) por medio de uniones comunicantes.



somatostatina secretada por la células  $\delta$ . Las células  $\beta$ , por otro lado, son activadas por el glucagón, la acetilcolina y la hormona liberadora de corticotropina (todas estas secretadas por las células  $\alpha$ ), y son inhibidas por la somatostatina. Además, el glutamato, secretado por las células  $\alpha$ , pero también formado en las células  $\beta$ , tiene un papel funcional contradictorio que aún es considerado pregunta de investigación abierta [8, 12]. Finalmente, las células  $\delta$  son inhibidas por la acetilcolina secretada por las células  $\alpha$  y son activadas por el urocortin 3, producido y secretado por la célula  $\beta$ , y el glutamato, secretado por las células  $\alpha$  [8].

Es desde hace décadas conocido que células  $\beta$  vecinas, además de las señales paracrinas, pueden tener comunicación eléctrica directa entre ellas, lo que les permite, en condiciones normales, sincronizar su actividad eléctrica y, por lo tanto, su actividad secretora [7]. Por otro lado, recientemente se demostró que células  $\beta$  y  $\delta$  también pueden estar comunicadas eléctricamente, lo que permitiría que las células  $\beta$  regulen indirectamente a las células  $\alpha$  vía la secreción de somatostatina de las células  $\delta$  estimuladas por la conexión eléctrica con las células  $\beta$  vecinas [7, 13, 14]. Aunque todas estas señales son importantes para el control y regulación de las hormonas pancreáticas asociadas a la homeostasis de glucosa, en este trabajo de tesis únicamente se tomará en cuenta la comunicación entre células  $\beta$  vecinas.

En presencia de diabetes se han descrito alteraciones en la arquitectura de los islotes pancreáticos, como la pérdida de masa de células  $\beta$  y  $\delta$  con un posible aumento del número de células  $\alpha$ , lo que comúnmente se ve acompañado de deposición péptido amiloide en el espacio intersticial de los islotes pancreáticos, el cual tiene un efecto citotóxico [10, 15]. Además de esto, se ha demostrado que la diabetes resulta en la pérdida de múltiples señales paracrinas. Ejemplo de esto es la pérdida de las señales derivadas de la células  $\beta$ , ya sea por la pérdida de estas, o bien por una funcionalidad alterada, lo que tendría no solo efectos negativos en la secreción de insulina, sino también en la regulación de las células  $\alpha$  y  $\beta$  en los islotes. La pérdida de masa de células  $\beta$  y su efecto en la comunicación entre ellas en los islotes humanos será el objeto principal de estudio de este trabajo de tesis.

Como complemento al trabajo experimental, los modelos computacionales han sido ampliamente utilizados para el estudio de la fisiología de las células pancreáticas [36–38, 40, 41, 44, 47], y recientemente, la interacción entre ellas en los islotes [39, 42, 49]. Es por lo anterior que en esta tesis evaluamos, por medio de un modelo computacional, los efectos funcionales de la pérdida de masa de células  $\beta$  en islotes pancreáticos humanos, emulando los efectos de etapas tempranas de la diabetes tipo 2.

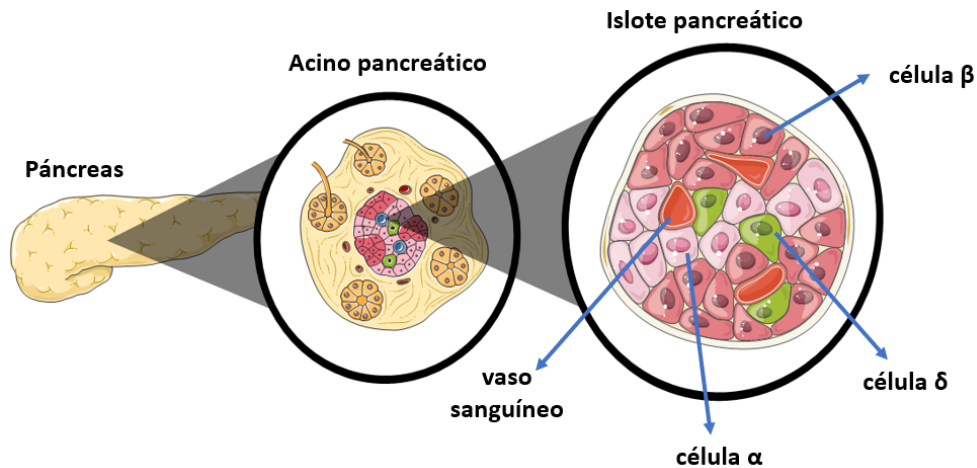
## 2. Marco Teórico

### 2.1. Fundamentos

#### 2.1.1. Páncreas endocrino

El páncreas está constituido por dos tipos de tejidos [16], el tejido exocrino, que secreta enzimas digestivas y  $\text{HCO}_3^-$  al intestino [17], y el tejido endocrino, constituido por los islotes pancreáticos, que secreta una variedad de hormonas cuya principal función es regular el metabolismo de la glucosa.

Los islotes pancreáticos son pequeños grupos de células endocrinas (ver Figura 2) dispersos en el páncreas, la cual, en el humano contiene aproximadamente entre 3.2 millones y 14.8 millones de islotes [19, 21], cada uno con un diámetro promedio de  $108.92 \mu\text{m}$  ( $\pm 6.27 \mu\text{m}$ ) y volumen promedio de  $0.00069 \mu\text{L}$  ( $\pm 0.00011 \mu\text{L}$ ) [24]. Los islotes pancreáticos humanos se componen aproximadamente de 25 % a 35 % de células  $\alpha$ , 50 % a 75 % de células  $\beta$ , 5 % a 10 % de células  $\delta$  con un porcentaje menor de otras células como las  $\gamma$  o PP, encargadas de secretar polipéptido pancreático [5, 19, 22, 23]. A diferencia de los islotes de roedor, en los que las células  $\beta$  se localizan predominantemente en el centro de los islotes con las células  $\alpha$  en la periferia, en los islotes humanos las diversas células endocrinas se distribuyen de forma más heterogénea, diferencia que desde el punto de vista funcional constituye una incógnita aún por resolver.

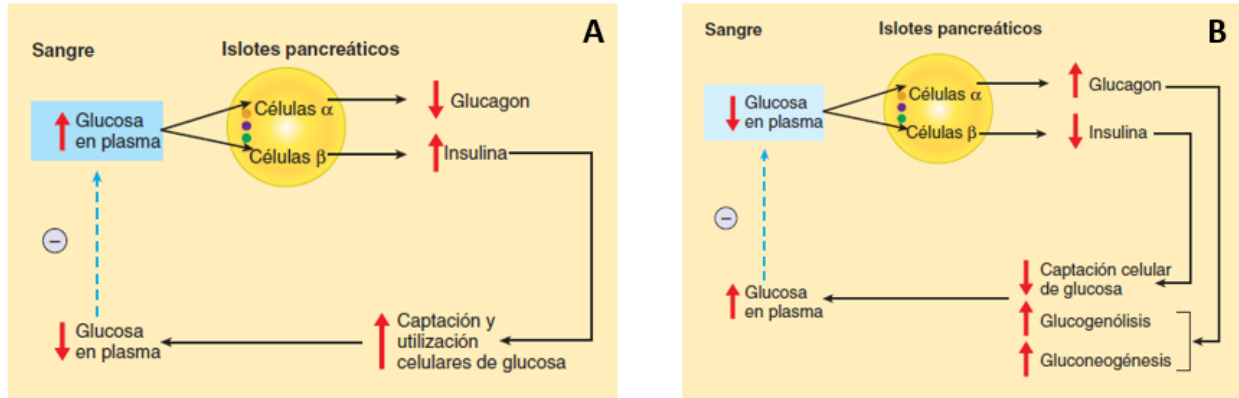


**Figura 2.** Páncreas e islote pancreático. Dentro del islote pancreático se observan las células que lo conforman, en color rosa las células  $\alpha$ , en rojo las células  $\beta$  y en color verde las células  $\delta$ . Imagen tomada y modificada de: <https://smart.servier.com/category/anatomy-and-the-human-body/digestive-system/pancreas/>.

La regulación de la glucosa en la sangre depende en mayor medida del glucagon e insulina secretados por las células  $\alpha$  y  $\beta$  respectivamente. Como se muestra en la Figura 3.A, las células  $\beta$  secretan insulina como respuesta al aumento de la glucosa en sangre (hiperglucemia), por ejemplo después de la ingesta de alimentos, lo que conduce a la absorción de glucosa de la circulación principalmente en tejido muscular y adiposo. El glucagon, secretado por las células  $\alpha$ , se libera como respuesta a bajos niveles de glucosa en sangre y como respuesta restablece los niveles de glucosa mediante los procesos de gluconeogénesis y glucogenólisis que se dan principalmente en el hígado y músculos [25] (Figura 3.B).

### 2.1.2. Célula $\beta$

Las células  $\beta$  son el componente principal de los islotes pancreáticos [26]. Debido a la importancia de la insulina para la regulación de la glucosa sanguínea, la célula  $\beta$  ha sido sin duda la más estudiada en las últimas décadas. Como se ha mencionado anteriormente, su función principal es secretar insulina ante un aumento de la glucosa sanguínea. La secreción



**Figura 3.** La homeostasis de la glucosa se mantiene por medio de la insulina y el glucagón: **A.** Cuando la concentración plasmática de glucosa aumenta después de la ingesta de alimentos, las células  $\beta$  secretan insulina (y se inhibe la secreción de glucagón por las células  $\alpha$ ). La insulina secretada promueve la captación celular de glucosa sanguínea, lo que reduce la concentración plasmática de glucosa para mantener la homeostasis de la glucosa en sangre. **B.** Cuando la concentración plasmática de glucosa disminuye, se inhibe la secreción de insulina y se estimula la de glucagón. El glucagón promueve la glucogenólisis y la gluconeogénesis, liberando como consecuencia glucosa al torrente sanguíneo que restablecer los niveles de glucosa en sangre. *Imagen tomada y modificada de:* [21].

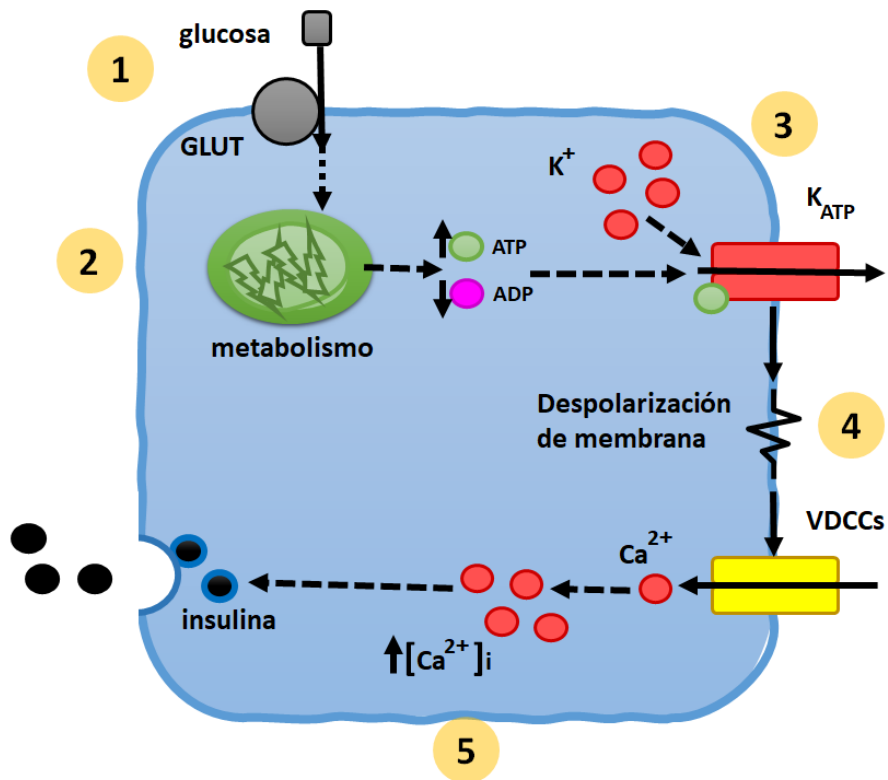
de insulina depende de la generación de actividad eléctrica que permite la entrada de calcio a la célula, lo que finalmente promueve la secreción de insulina al exterior de la célula.

En la Figura 4 se esquematiza el proceso de secreción de insulina estimulada por glucosa de las células  $\beta$  [18–20] que se puede resumir en los siguientes pasos:

1. **Transporte de la glucosa al interior de la célula  $\beta$ :** la célula  $\beta$ , en su membrana plasmática, contiene un transportadores específicos de glucosa llamados GLUT (GLUT-1 o GLUT-3) que la llevan al interior de la célula por difusión facilitada.
2. **Metabolismo de la glucosa:** La glucosa penetra las células  $\beta$  por medio de transportadores de glucosa GLUT-3 y es fosforilada a glucosa-6-fosfato por la glucocinasa para metabolizarse hasta la forma de piruvato en el citoplasma. El piruvato entra en la mitocondria y es metabolizado hasta generar dióxido de carbono y agua a través del ciclo del ácido cítrico, con la formación de trifosfato de adenosina (ATP) por medio de fosforilación oxidativa. El ATP se incorpora al citoplasma, donde inhibe los conductos de potasio ( $K^+$ ) sensibles al ATP y de este modo reduce la salida de  $K^+$ .
3. **Cierre de los canales de  $K^+$  sensibles al ATP (KATP):**

El cierre de los canales KATP inicia una despolarización lenta del potencial de membrana que, cuando alcanza alrededor de -40 mV, aumenta la probabilidad de abrir los canales de  $Na^+$  y  $Ca^{2+}$  tipo T dependientes de voltaje, aumentando la entrada de  $Na^+$  y  $Ca^{2+}$  en las células y causando una fuerte despolarización.

4. **Apertura de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  dependientes de voltaje:** en la membrana de la célula  $\beta$  también existen canales de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L, los cuales son regulados por cambios en el voltaje de la membrana celular. Una vez que la despolarización iniciada por el cierre de los canales  $\text{K}^{+}$  ATP, los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  abren (se activan con potenciales de membrana de  $-20$  mV) permitiendo el paso de  $\text{Ca}^{2+}$  al interior de la célula, dando como resultado el incremento de la concentración intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  [67].
5. **Secreción de insulina:** el aumento de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular activa la maquinaria de exocitosis, promoviendo la secreción de insulina al exterior de la célula para posteriormente ser liberada a la circulación sistémica.
6. **Repolarización celular:** En las células  $\beta$  estudiadas hasta la fecha se han descrito varios tipos de canales de  $\text{K}^{+}$  dependientes del voltaje ( $\text{K}_v$ ) y dependientes del voltaje sensibles al  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{KCa}^{2+}$ ). Estos canales muestran propiedades dinámicas similares a las registradas en las neuronas, y su activación se asocia predominantemente con la repolarización. La actividad del canal de potasio es necesaria para la repolarización del potencial de acción lo que reduce la secreción de insulina de la célula  $\beta$  [67].



**Figura 4.** Proceso de secreción de insulina de la célula  $\beta$ : **1.** Transporte de la glucosa al interior de la célula, **2.** Metabolismo de la glucosa en el interior de la célula  $\beta$ , **3.** El ATP cierra los canales de  $\text{K}^{+}$  sensibles al ATP, **4.** La despolarización de la membrana abre los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  sensibles al voltaje, **5.** El aumento del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular produce la secreción de insulina.

La concentración normal de insulina medida mediante radioinmunoanálisis, en el plasma venoso periférico del ser humano normal en ayuno es de 0 a 70  $\mu\text{U}/\text{ml}$  (0 a 502 pmol/L). La cantidad de insulina secretada en el estado basal se acerca a 1 U/h, con un incremento cinco a 10 veces mayor en la fase posprandial. Por consiguiente, la cantidad promedio que una persona normal secreta al día es de casi 40 U (287 nmol) [52–54].

Se conoce que en condiciones normales la secreción de insulina ocurre de forma pulsátil con un período de 5 a 10 minutos, debido a que hay una retroalimentación positiva, mediada por la enzima fosfofructoquinasa. Esto produce oscilaciones en la síntesis de ATP que influyen sobre los canales de  $\text{K}^+$  tipo M. Esta secreción pulsátil es importante y se relaciona con oscilaciones en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  y el potencial de membrana, que cae de -60 mV a -40 mV, lo que genera un potencial de acción [66]. Este comportamiento pulsátil que se origina por la pulsatilidad de la secreción a nivel celular, que se ve reflejada en el comportamiento secretorio de los islotes pancreáticos [3] como resultado de la sincronización de la secreción de las células  $\beta$  gracias a la comunicación paracrina y eléctrica entre ellas.

Este comportamiento pulsátil se ve alterado en personas con diabetes [52–54], lo que resalta su importancia para la adecuada regulación de los niveles de glucosa. Además, se ha sugerido que el deterioro de la pulsatilidad de la insulina contribuye al desarrollo de resistencia a la insulina en estos pacientes [53]. Los pulsos de insulina se han observado en muestras de sangre obtenidas de animales vivos, así como en páncreas perfundido (con glucosa) e islotes [54–56]. Se piensa que la pulsatilidad es una propiedad intrínseca de las células  $\beta$ , ya que las células  $\beta$  aisladas son capaces de generar oscilaciones de la concentración intracelular de calcio [57,58], un desencadenante de la secreción de insulina.

### 2.1.3. Diabetes Mellitus

La diabetes es una condición patológica caracterizada por un estado de hiperglucemia crónico como consecuencia de una insuficiente secreción de insulina y/o resistencia a la insulina [26]. Hay dos tipos principales de esta enfermedad, la diabetes tipo 1 y la diabetes tipo 2 [27], descritos a continuación:

- La diabetes tipo 1 (DMT1) es un trastorno autoinmune crónico en el que el sistema inmunitario ataca a las células  $\beta$  pancreáticas, lo que resulta en la ausencia de secreción de insulina e hiperglucemia crónica [26]. La DMT1 anteriormente conocida como insulino dependiente, juvenil o de inicio en la niñez, requiere la administración diaria de insulina. En 2017 había 9 millones de personas con diabetes tipo 1; la mayoría de ellos vive en países de ingresos altos. No se conocen ni su causa ni los medios para prevenirlo [64].
- La diabetes tipo 2 (DMT2) es un trastorno metabólico progresivo caracterizado por resistencia a la insulina e hiperglucemia. En la DMT2 los niveles insuficientes de insulina no logran satisfacer la demanda elevada causada por una mayor resistencia a la insulina. Actualmente la mayoría de los tratamientos clínicos de DMT2 apuntan a la resistencia a la insulina o a elevar los niveles de insulina aumentando la función de secreción de las células  $\beta$  [26]. La DMT2 es el resultado del uso ineficaz de la insulina por parte del cuerpo. Más del 95 % de las personas con diabetes tienen DMT2. Este tipo

de diabetes es en gran parte el resultado del exceso de peso corporal y la inactividad física [64].

La DMT2 es el tipo más común de diabetes (más del 90 % de los casos). Actualmente, la DMT2 se ha convertido en un problema de salud pública a nivel global con un marcado paralelismo a la epidemia de obesidad. La Federación Internacional de Diabetes estimó para el 2019 una prevalencia de diabetes a nivel mundial de 9.3 %. Esta prevalencia corresponde a 463 millones de adultos con diabetes y se calcula que aumente a 700 millones para el año 2045, con una prevalencia de 10.9 % (11.1 % en hombres y 10.8 % en mujeres) [29].

En México la DMT2 es también uno de los grandes problemas de salud pública. En las últimas décadas, la prevalencia de diabetes en México se ha incrementado consistentemente, pasando del 4 % en 1993 [61] a 10.2 % en 2021 [62] En la actualidad la diabetes ocupa el segundo lugar como causa de muerte en México tanto en hombres como en mujeres. [30].

#### 2.1.4. Efectos de la Diabetes Mellitus Tipo II

En las últimas décadas, nuestra comprensión del establecimiento y progresión de la DMT2 ha evolucionado rápidamente. Su principal causa es el deterioro progresivo de la secreción de insulina por las células  $\beta$  pancreáticas, generalmente en un contexto de resistencia a la insulina preexistente en el músculo esquelético, hígado y el tejido adiposo [28].

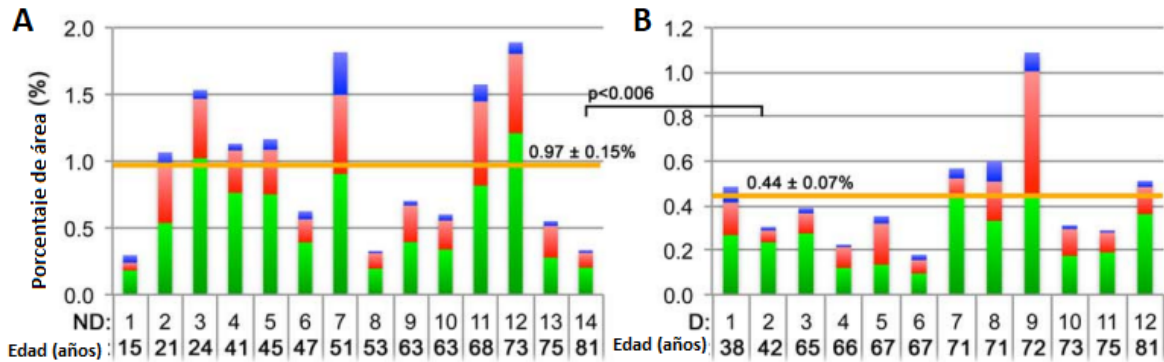
El deterioro de la secreción de insulina en DMT2 es causado por la disfunción de las células  $\beta$  pancreáticas debido a la lipotoxicidad, glucotoxicidad y resistencia a las incretinas (hormonas intestinales que estimulan la secreción de insulina). La resistencia a la insulina en órganos periféricos como el hígado, músculos y riñones, por otro lado, conduce a una reducción de la captación de glucosa en la sangre, una reabsorción excesiva de glucosa en el riñón y un aumento de la gluconeogénesis, contribuyendo así al estado de hiperglucemia crónica [28].

Las alteraciones de la secreción de insulina en la DMT2 podrían ser el resultado de alteraciones en la función de las células  $\beta$ , pérdida de masa de las células  $\beta$ , o ambos. Es probable que una disminución de la masa de células  $\beta$  desempeñe un papel en la patogénesis de la DMT2 [32, 33] ya que se ha observado una reducción de entre 25 % y 50 % en la masa de células  $\beta$ , según mediciones postmortem en pacientes diabéticos con DMT2. Debido a que la masa de células  $\beta$  no se puede medir *in vivo*, no está claro si los pacientes diabéticos con DMT2 tienen una masa de células  $\beta$  disminuida a principios de la vida, no pudieron aumentar su masa de células  $\beta$  frente a la resistencia a la insulina, o tuvieron una pérdida progresiva de células  $\beta$  [31].

En un estudio realizado por Kilimnik y colaboradores [34] se examinaron cuantitativamente los cambios patológicos de los islotes pancreáticos en pacientes con DMT2 en comparación con islotes de personas sanas. Como parte del estudio los autores realizaron un análisis a gran escala de secciones pancreáticas obtenidas de cadáveres de pacientes con DMT2 ( $n = 12$ ) y no diabéticos ( $n = 14$ ) en combinación con análisis basado en procesamiento digital de imágenes para cuantificar los cambios en la arquitectura de los islotes.

La composición total de las células de los islotes (células  $\beta$  en verde, células  $\alpha$  en rojo y células  $\delta$  en azul) en cada espécimen se compara entre sujetos no diabéticos (Figura 5A) y DMT2 (Figura 5B). Los autores encontraron que el área total ocupada por los islotes se redujo

significativamente en los pacientes con DMT2 en comparación con los sujetos no diabéticos ( $0.5 \pm 0.08\%$  y  $1.08 \pm 0.18\%$ , respectivamente,  $P < 0.008$ ). Esta disminución se debió a la pérdida total de células  $\beta$  ( $0.29 \pm 0.04\%$  y  $0.65 \pm 0.11\%$ , respectivamente,  $P < 0.006$ ) así como a la pérdida total de células alfa ( $0.16 \pm 0.04\%$  y  $0.35 \pm 0.06\%$ , respectivamente,  $P < 0.02$ ).



**Figura 5.** Comparación entre sujetos del mismo grupo (sanos y diabéticos): composición total de las células de los islotes (células  $\beta$  en verde, células  $\alpha$  en rojo y células  $\delta$  en azul) en: **A.** individuos no diabéticos y **B.** pacientes con DMT2. Imagen tomada y modificada de: [34].

El análisis de la composición de las células de los islotes reveló que la fracción de células  $\beta$  en los islotes grandes se redujo en los pacientes con DMT2. Este cambio fue acompañado por un aumento recíproco en la fracción de células  $\alpha$ . Por otro lado, el área total de células  $\alpha$  se redujo junto con las células  $\beta$  en DMT2 mientras que tanto la fracción de células  $\delta$  y el área correspondiente se mantuvieron sin cambios.

En este trabajo se evaluarán, por medio de un modelo computacional, los efectos de la pérdida de masa de células  $\beta$  en la secreción pulsátil de insulina tomando en cuenta la arquitectura de islotes pancreáticos humanos reconstruidos a partir de datos experimentales y la conectividad entre células  $\beta$  vecinas.

## 2.2. Antecedentes

Desde algunos años después de que se observó por primera vez la actividad eléctrica de las células  $\beta$  pancreáticas, los modelos matemáticos han sido parte importante de la investigación en el campo de la fisiopatología de los islotes pancreáticos [35]. Prueba de esto son el gran número de modelos que buscaban explicar el origen del patrón eléctrico característico observado en registros experimentales de células  $\beta$  de roedor, y apenas en los últimos años, de células humanas (revisiones sobre este tema se pueden consultar en [36,37]. Por décadas, el trabajo de investigación tanto experimental como teórico se enfocó en el estudio de la célula  $\beta$  por su importancia como única célula responsable de la síntesis y secreción de insulina, dejando de lado otras células como las células  $\alpha$  y  $\delta$ , que poco a poco han ganado importancia como actores claves para el sistema de regulación de la glucosa, lo que ha llevado al desarrollo de modelos matemáticos de la actividad eléctrica

tanto de la célula  $\alpha$  [38–40] y la célula  $\delta$  [41]. Asimismo, en los inicios se pensaba que las células e islotes de roedor eran un modelo de estudio extrapolable a los humanos, lo cual ha sido seriamente cuestionado debido a las numerosas diferencias encontradas tanto desde el punto de vista estructural como funcional [9]. Es por esto que recientemente se han desarrollado modelos que toman en cuenta las diferencias entre especies, y más aún, modelos de la interacción tanto eléctrica como paracrina en los islotes pancreáticos [14,42,43]. Aspectos importantes no tomados en cuenta hasta ahora en el campo del modelado de islotes pancreáticos son la heterogeneidad del tamaño de las células pancreáticas en los islotes, así como las características electrofisiológicas y secretoras de las células humanas; ambos parte central de esta propuesta de proyecto.

En los últimos años, en el Laboratorio de Biofísica e Ingeniería de Tejidos de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, se ha llevado a cabo trabajo multidisciplinario enfocado en el estudio de la fisiopatología de la diabetes a nivel celular. Como ejemplo de esto, en 2014 se presentó un estudio de los posibles efectos de las alteraciones en el metabolismo de las células  $\beta$  humanas en la secreción de insulina [44]. Siguiendo la misma línea, se hicieron estudios de la contribución de las diferentes poblaciones de canales iónicos de la célula  $\beta$  humana en el patrón de actividad eléctrica [45], así como de la dinámica del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular asociada durante experimentos electrofisiológicos [46]. Posteriormente, en 2017 se propuso por primera vez un modelo computacional tridimensional de una célula  $\beta$  humana capaz de simular la actividad eléctrica y la dinámica del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular en condiciones fisiológicas [47]. En 2019 se construyeron los primeros modelos computacionales de la actividad eléctrica de las células  $\alpha$  y  $\delta$  humanas en los que se hace un amplio estudio de las propiedades electrofisiológicas de las células secretoras de glucagon y somatostatina [40,41]. Finalmente, recientemente se desarrolló una metodología para la reconstrucción de la arquitectura de los islotes pancreáticos con base en información experimental [48] con la que se pretende conjuntar los modelos de las células  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$  de humano con arquitecturas derivadas de información experimental, y con esto estudiar las interacciones paracrinas y eléctricas dentro de los islotes pancreáticos humanos.

Con base en estos antecedentes y dando continuidad al trabajo realizado en los últimos años es que se plantea en este proyecto desarrollar un modelo computacional con el cual se pueda simular la secreción pulsátil de insulina tanto a nivel celular como a nivel del islote pancreático y evaluar los efectos de la pérdida de masa de células  $\beta$  como consecuencia de la DMT2.

## 2.3. Justificación

Todos los mecanismos de comunicación intercelular en los islotes pancreáticos brevemente mencionados anteriormente, constituyen un sistema sumamente complejo, y como tal, es prácticamente imposible estudiarlo en su conjunto de manera experimental. Es por esto que en los últimos años se han desarrollado modelos computacionales para el estudio de las interacciones intercelulares en los islotes pancreáticos que, como complemento al trabajo experimental, tienen el objetivo de permitir alcanzar un mejor entendimiento de cómo cada una de las señales involucradas participa en la actividad de los islotes pancreáticos tanto en estado normal como patológico. Con el mismo objetivo, y con base en el trabajo



desarrollado en los últimos años en el Laboratorio de Biofísica e Ingeniería de Tejidos de la Universidad Autónoma Metropolitana, en este proyecto se propone el desarrollo de un modelo matemático-computacional de la secreción pulsátil de insulina de las células de los islotes pancreáticos de humano en el que se considerará explícitamente la arquitectura de los islotes pancreáticos, la conectividad entre células  $\beta$  y la secreción pulsátil de insulina.

## 2.4. Hipótesis

La sincronización de la actividad de la secreción pulsátil de insulina en los islotes pancreáticos se ve afectada por la pérdida de masa de células  $\beta$  como consecuencia de la DMT2, lo cual puede repercutir en la arquitectura y comunicación de las células de los islotes pancreáticos.

## 2.5. Objetivo General

Analizar la sincronización funcional de las células  $\beta$  pancreáticas empleando simulaciones de la secreción pulsátil de insulina en los islotes pancreáticos humanos reconstruidos *in silico* a partir de datos experimentales.

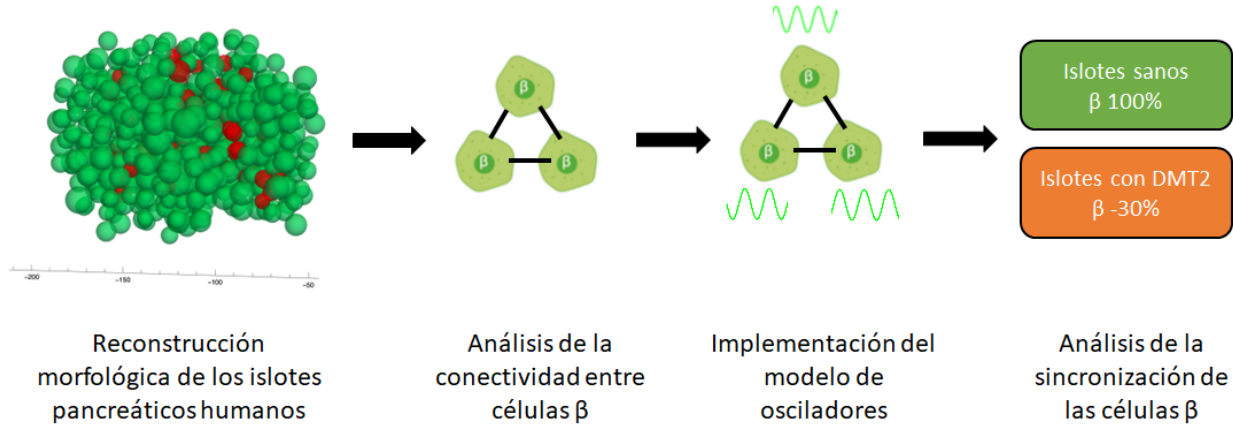
### 2.5.1. Objetivos Específicos

- 1) Reconstruir morfológicamente los islotes pancreáticos humanos partiendo de datos experimentales.
- 2) Simular la pérdida de 30 % de masa de células  $\beta$  en los islotes pancreáticos reconstruidos computacionalmente.
- 3) Analizar cuantitativamente la conectividad entre células  $\beta$  en los islotes humanos reconstruidos usando teoría de redes.
- 4) Simular la secreción pulsátil de insulina utilizando un modelo de osciladores acoplados.
- 5) Analizar la sincronización de las células  $\beta$  en condiciones normales y patológicas.

## 3. Metodología

El desarrollo del presente proyecto requirió de herramientas de modelado matemático y de cómputo en paralelo de alto desempeño. La metodología general del proyecto que se propone se resume esquemáticamente en la Figura 6 y se explica a continuación con mayor detalle.

En primer lugar, se reconstruyeron las arquitecturas de 28 islotes pancreáticos de humano compuestos de células  $\alpha$  y  $\beta$ , utilizando datos experimentales del grupo de Hoang y colaboradores [49, 50]. Con esto, se obtuvo la posición, tamaño celular y contactos entre las células de los islotes. A continuación, se simuló la pérdida del 30 % de células  $\beta$  de los islotes



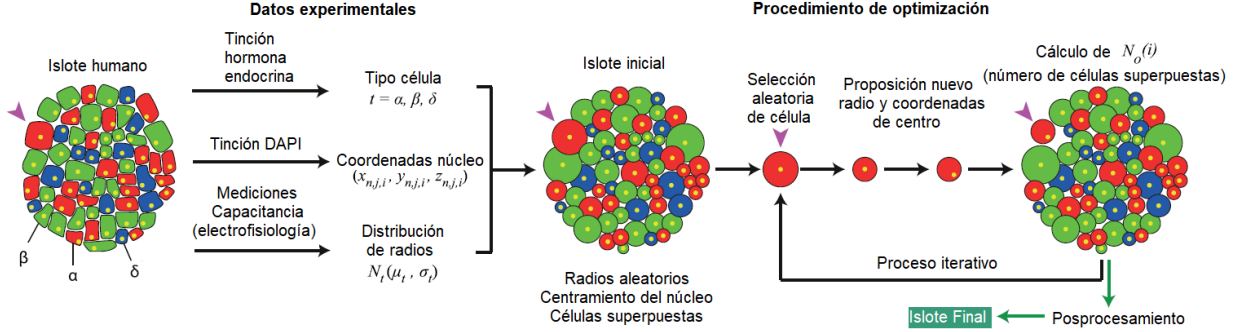
**Figura 6.** Resumen gráfico de la metodología general: las células  $\alpha$  se representan en color rojo y las  $\beta$  en verde.

reconstruidos para representar los efectos de la DMT2. Tanto en los islotes intactos como en los islotes con pérdida de masa celular se realizó el análisis de la conectividad de las células  $\beta$  basándose en teoría de redes. Posteriormente, se implementó el modelo de osciladores de Kuramoto (ver Sección 3.4) para evaluar la sincronización de la actividad de las células del islote tomando en cuenta la conectividad entre las células  $\beta$  en las arquitecturas reconstruidas. Finalmente se realizaron experimentos computacionales en los que se simulaban islotes pancreáticos normales y modificados (eliminación de células  $\beta$  como consecuencia de la DMT2) y se identificaron los efectos de la enfermedad en la comunicación y sincronización de la secreción de insulina de las células  $\beta$  pancreáticas.

### 3.1. Reconstrucción de la arquitectura de los islotes pancreáticos humanos

Los islotes pancreáticos humanos fueron reconstruidos usando el algoritmo de optimización iterativa desarrollado por Félix-Martínez y colaboradores [48]. En resumen, el algoritmo de reconstrucción consiste en proponer un islote inicial usando las coordenadas de los núcleos detectados experimentalmente [49, 50] por tinción con DAPI como coordenadas centrales de células esféricas, con radios asignados aleatoriamente a partir de distribuciones de radios celulares ( $\beta$ :  $6.49 \pm 1.6 \mu\text{m}$ ,  $\alpha$ :  $5.04 \pm 0.9 \mu\text{m}$ ) obtenidas experimentalmente por Camunas-Soler y colaboradores [60] por mediciones de la capacitancia de la membrana celular, e identificación del tipo celular por inmunotinción [49, 50]. Partiendo del islote propuesto inicialmente se comienza un proceso de optimización iterativa. En cada paso del proceso, una célula se selecciona al azar y se proponen nuevas coordenadas centrales y radio para la célula seleccionada, se calcula el número total de células superpuestas en el islote y se compara con el valor mínimo obtenido durante todo el proceso. Si el número de células superpuestas calculadas es menor, se acepta el cambio en el radio de la célula y las coordenadas del centro; de lo contrario, podría ser aceptado o rechazado con base en una probabilidad monótonicamente decreciente para prevenir que el algoritmo alcance un mínimo local. Este proceso se repite hasta que se alcanza la convergencia según un criterio previamente establecido o bien un

criterio de finalización (ver Figura 7). Se utilizó IsletLab [63] para implementar la reconstrucción de los islotes pancreáticos. Una descripción detallada del algoritmo de reconstrucción se puede consultar en el trabajo original al respecto [48].



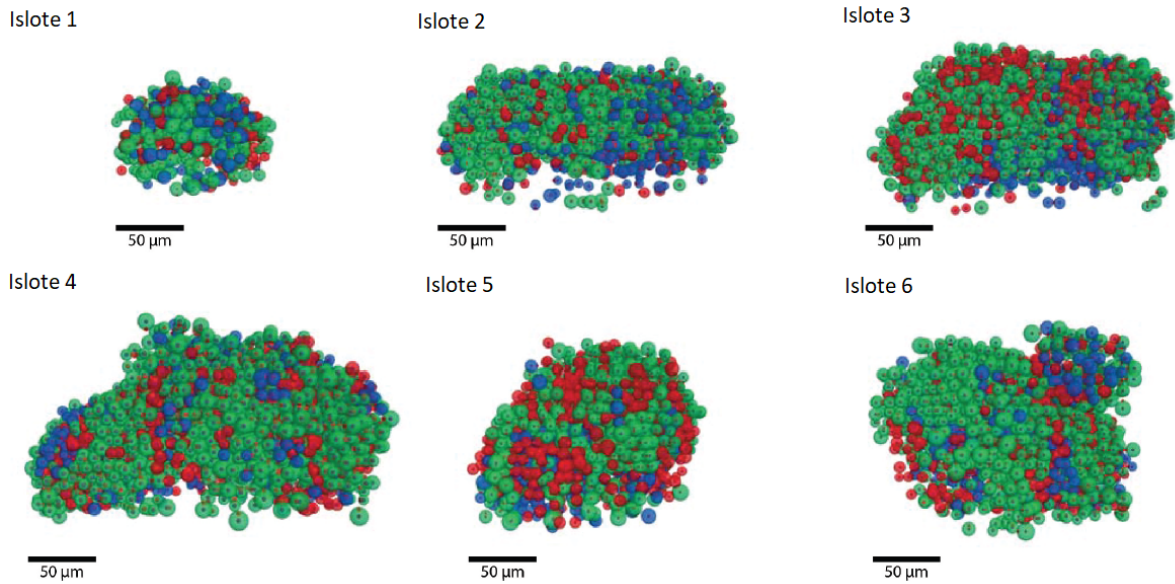
**Figura 7.** Reconstrucción de la arquitectura de los islotes humanos: se propone un islote pancreático inicial basándose en los datos experimentales como las coordenadas del núcleo de las células, el tipo de célula ( $\alpha$  en color rojo,  $\beta$  en color verde y  $\delta$  en color azul) y el radio de la célula. Posteriormente, se calcula el número de células superpuestas para el islote inicial  $N_o(0)$ . En cada iteración ( $i$ ), se selecciona una célula aleatoria y se modifican su radio y coordenadas de centro para generar un nuevo islote ligeramente diferente. Posteriormente se calcula el número de células superpuestas en la iteración  $i$  ( $N_o(i)$ ) y el nuevo islote se acepta o se rechaza de acuerdo con los criterios preestablecidos en el algoritmo. Finalmente, una vez que se cumple alguno de los criterio de finalización se obtiene un islote optimizado. *Imagen tomada y modificada de:* [48].

Félix-Martínez y colaboradores empleando el algoritmo brevemente descrito [48] han reconstruido islotes de humanos y de ratón [51]. Como muestra de los resultados obtenidos de la implementación del algoritmo, en la Figura 9 se muestran 4 islotes pancreáticos reportados [51], constituidos únicamente de células  $\alpha$  y  $\beta$ . Estos resultados demuestran que el algoritmo es capaz de reconstruir islotes pancreáticos tomando en cuenta el tamaño celular, la composición, distribución y localización de las células [51]. En este trabajo se reconstruyeron 28 islotes de humanos (ver sección 4.1).

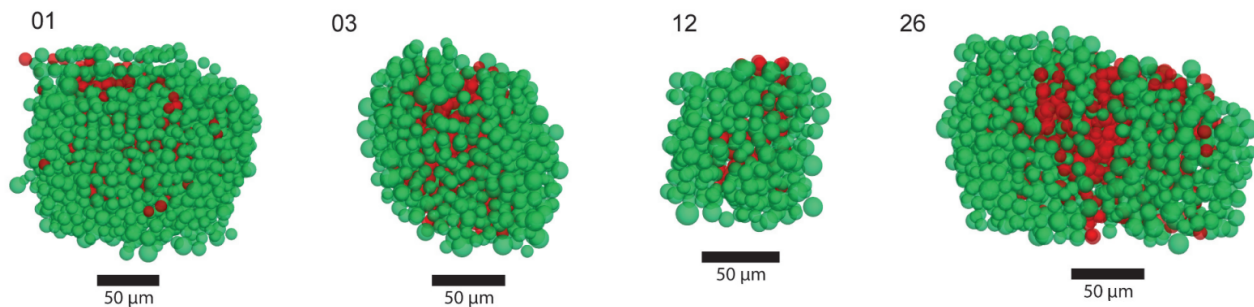
### 3.2. Detección de los contactos entre células $\beta$ en los islotes humanos reconstruidos

Partiendo de las arquitecturas de los islotes humanos reconstruidos computacionalmente se identificaron y cuantificaron los contactos entre células  $\alpha$  ( $N_{\alpha\alpha}$ ), células  $\alpha$  y  $\beta$  ( $N_{\alpha\beta}$ ), células  $\alpha$  y  $\delta$  ( $N_{\alpha\delta}$ ), células  $\beta$  ( $N_{\beta\beta}$ ). Para esto se utilizó el algoritmo implementado en IsletLab [63], descrito a detalle en [51] (un esquema general del algoritmo se puede observar en la Figura 15).

Los contactos célula a célula identificados generan una matriz de conectividad cuya diagonal principal almacena el tipo celular codificado ( $\alpha = 11$ ,  $\beta = 12$ ) mientras que los elementos restantes de la matriz  $A_{ij}$  ( $i \neq j$ ,  $A_{ij} = A_{ji}$ ) indican la existencia de contacto entre las células



**Figura 8.** Islotes humanos finalizados. Las células  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$  se muestran en rojo, verde y azul respectivamente. Los puntos púrpura y rojo indican la ubicación del centro y las coordenadas del núcleo, respectivamente. *Imagen tomada y modificada de:* [48].



**Figura 9.** Islotes pancreáticos humanos reconstruidos computacionalmente: los islotes están compuestos únicamente de células  $\alpha$  (rojo) y  $\beta$  (verde). *Imagen tomada y modificada de:* [51].

$i$  y  $j$  del islote, como se ejemplifica en la Ecuación 1, siendo el valor de los elementos  $A_{ij}$  igual a 1 cuando se detecta el contacto entre las células y cero en caso contrario.

$$\begin{pmatrix} \text{tipo celular} & \text{contacto} & \cdots & \text{contacto} \\ \text{contacto} & \text{tipo celular} & \cdots & \text{contacto} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \text{contacto} & \text{contacto} & \cdots & \text{tipo celular} \end{pmatrix} \quad (1)$$

Como ejemplo, supongamos que un islote pancreático está constituido solamente de tres células  $\beta$ , como se muestra en la Figura 10. Ya que las 3 células del islote hipotético son  $\beta$ , y además están en contacto entre ellas, la matriz de conectividad tendrá tamaño de 3x3 y tendrá en su diagonal principal el valor numérico para el tipo de célula correspondiente ( $\beta = 12$ ), como se muestra en la Ecuación 2.

$$\begin{pmatrix} A_{11} & A_{12} & A_{13} \\ A_{21} & A_{22} & A_{23} \\ A_{31} & A_{32} & A_{33} \end{pmatrix} \longrightarrow \begin{pmatrix} 12 & A_{12} & A_{13} \\ A_{21} & 12 & A_{23} \\ A_{31} & A_{32} & 12 \end{pmatrix} \quad (2)$$

Considerando los contactos de la célula 1 del islote ejemplificado en la Figura 10, se observa que está en contacto con la célula 2, y por lo tanto el elemento  $A_{12}$  (al igual que el elemento  $A_{21}$ ) de la matriz de conectividad tendrá valor de 1. Por su parte, la célula 2 contacto con la célula 3, por lo que los elementos de la matriz  $A_{23}$  y  $A_{32}$  tendrán valor de 1. Finalmente, los elementos  $A_{31}$  y  $A_{13}$  de la matriz de conectividad tendrán valor de 1, ya que la célula 1 y la célula 3 están en contacto. La matriz de conectividad resultante se muestra en la ecuación 3.

$$\begin{pmatrix} 12 & 1 & A_{13} \\ 1 & 12 & A_{23} \\ A_{31} & A_{32} & 12 \end{pmatrix} \longrightarrow \begin{pmatrix} 12 & 1 & A_{13} \\ 1 & 12 & 1 \\ A_{31} & 1 & 12 \end{pmatrix} \quad (3)$$

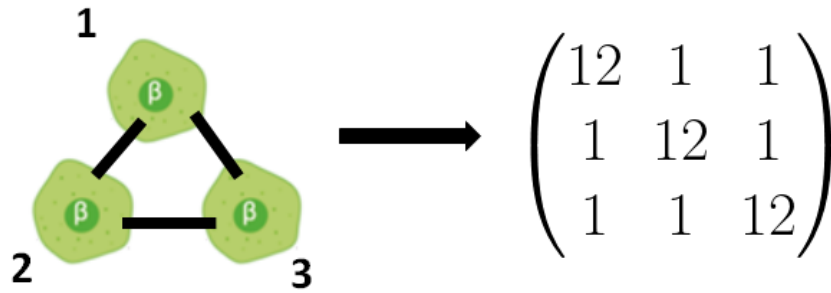
Al final del proceso de optimización y de la cuantificación de las interacciones de las células del islote se obtiene un arreglo de datos o una matriz simétrica como lo muestra la Figura 10.

Cuando existe  $n$  número de células pero no todas ellas están en contacto entre ellas, como se ejemplifica en la Figura 11, algunos elementos de la matriz tendrán valor igual a cero.

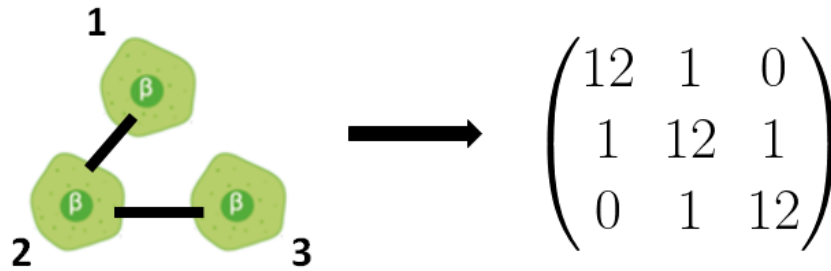
En las Figuras 16, 17 y 18 se muestran los islotes humanos reconstruidos compuestos por células  $\alpha$  y  $\beta$  únicamente. Los porcentajes totales de los diferentes contactos ( $\alpha$ - $\alpha$ ,  $\beta$ - $\beta$  y  $\alpha$ - $\beta$ ) se presentan en la Tabla 1.

### 3.3. Simulando la pérdida de células $\beta$

Tomando en cuenta que la DMT2 puede producir pérdida de masa de células  $\beta$ , en este trabajo se consideró simular dos escenarios diferentes para cada islote. El primero, consi-



**Figura 10.** Ejemplo gráfico de los contactos entre células  $\beta$  y la matriz de conectividad.



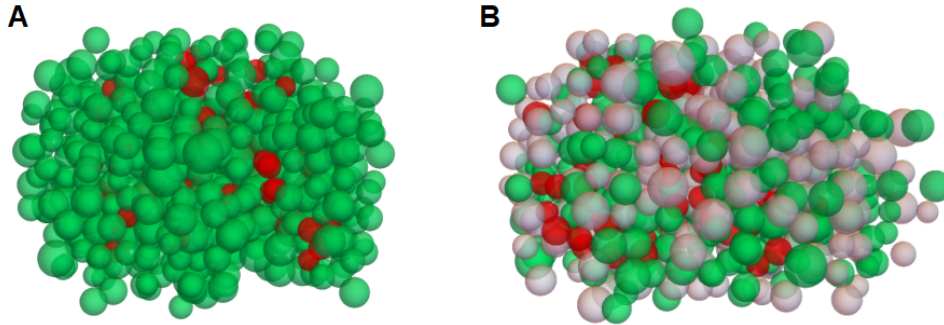
**Figura 11.** Matriz de conectividad cuando no hay contacto entre células  $\beta$  en el islote

**Tabla 1.** Contactos totales célula a célula en los islotes humanos reconstruidos ( $n = 28$ )

$N_{\alpha\alpha}$ (%)	$N_{\alpha\beta}$ (%)	$N_{\beta\beta}$ (%)	Homotípico (%)	Heterotípico (%)	Total (%)
10388 (18.2)	13733 (24.1)	32819 (57.6)	43207 (75.88)	13733 (24.12)	56940 (100)

*Datos obtenidos de:* [51]

derando el 100 % de las células  $\beta$  que conforman los islotes (caso control), y el segundo simulando la pérdida del 30 % de células  $\beta$ . Para esto, se eliminaron aleatoriamente el porcentaje de células  $\beta$  necesario según el número total de células  $\beta$  de cada islote. Con esto, se obtuvieron arquitecturas alteradas como el ejemplo que se muestra en la Figura 12 A y B.



**Figura 12.** Ejemplo de la arquitectura del islote pancreático en condiciones normales y patológicas (células  $\alpha$  color rojo y células  $\beta$  color verde). **A.** Islote pancreático sin pérdida celular. **B.** Islote pancreático con pérdida del 30 % de masa de células  $\beta$  (células  $\beta$  eliminadas color gris).

### 3.4. Análisis cuantitativo de la conectividad de los islotes pancreáticos humanos utilizando teoría de redes

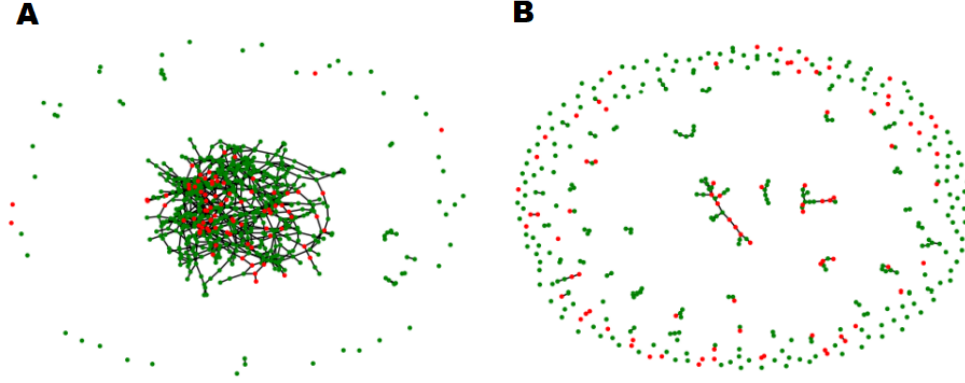
Partiendo de las matrices de conectividad, que como se describió en la sección 3.2 refleja las conexiones entre células  $\beta$  de los islotes reconstruidos, se construyeron redes no dirigidas y no ponderadas, en las que cada célula se considera un nodo de la red y cada contacto célula-célula un enlace entre los nodos. Ya que el objetivo de este trabajo se centra en el análisis de la sincronización de la actividad secretoria de las células  $\beta$ , en este trabajo únicamente se consideraron las redes compuestas por células  $\beta$  tanto para los casos control con el 100 % de células  $\beta$  como para los casos en los que se simuló la pérdida del 30 %. Un ejemplo gráfico de las redes formadas para un islote control y un islote alterado se muestra en Figura 13 A y B.

Las redes resultantes están compuestas por  $N$  nodos y  $L$  enlaces que conectan los nodos, con un número máximo de enlaces dado por:

$$L_{max} = \frac{N(N - 1)}{2} \quad (4)$$

Todas las redes se caracterizan con métricas de redes comúnmente utilizadas en diferentes contextos, utilizadas recientemente por Félix-Martínez y colaboradores para comparar la conectividad de islotes humanos e islotes de ratón. [51]. Las métricas de redes calculadas en esta tesis son:

**El grado promedio**, que se denota por  $\langle k \rangle$ , es el número promedio de enlaces por nodo en la red. Dado que  $k_i$  es el grado del nodo  $i$ , definido como el número de vecinos o enlaces de nodo  $i$ , el grado promedio de la red se calcula como:



**Figura 13.** Ejemplo de la conectividad de las células del islote pancreático en condiciones normales y patológicas. **A.** Contactos celulares del islote pancreático con 100 % de masa de células  $\beta$ . **B.** Contactos celulares del islote pancreático con pérdida del 30 % de masa de células  $\beta$ .

$$\langle k \rangle = \frac{\sum_i k_i}{N} \quad (5)$$

La **densidad**, denotada por  $d$ , es una medida de la conectividad de la red, dada por la proporción de contactos de célula a célula en la red a todos los contactos posibles:

$$d = \frac{L}{L_{max}} = \frac{2L}{N(N-1)} = \frac{\langle k \rangle}{N-1} \quad (6)$$

El **coeficiente promedio de agrupamiento o clustering**, interpretado como una medida de interconexión de la vecindad de cada nodo de la red, se calcula como:

$$C = \frac{\sum_{i(K_i > 1)} C_i}{N_{k_i > 1}} \quad (7)$$

donde  $C_i$  es el coeficiente de agrupamiento del nodo  $i$ , definido como la fracción de vecinos del nodo  $i$  que están conectados entre sí. Matemáticamente,  $C_i$  se puede calcular como:

$$C_i = \frac{\tau_i}{\tau_{max}} = \frac{2\tau_i}{k_i(k_i - 1)} \quad (8)$$

donde  $\tau_i$  y  $\tau_{max}$  son el número de triángulos incluyendo el nodo  $i$  y el número máximo de triángulos posibles que podrían incluir el nodo  $i$ , respectivamente. Los nodos con menos de dos vecinos (por ejemplo  $k_i < 2$ ) fueron excluidos de este cálculo.

El número de componentes conectados, que indica el número de subredes que conforman la red completa del islote y en este caso puede interpretarse como una medida de segregación de las células  $\beta$  del islote.

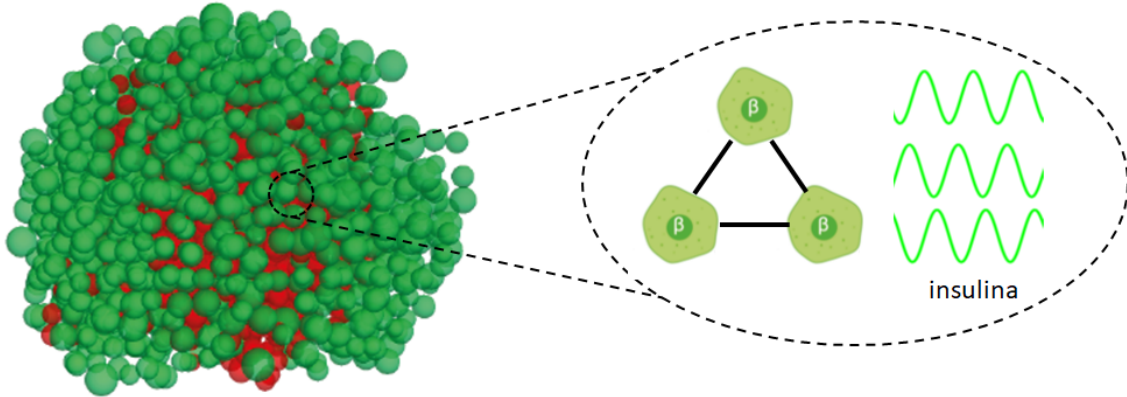
Estas métricas nos permiten caracterizar cuantitativamente la conectividad de la arquitectura de los islotes, lo que para este proyecto es de gran importancia para conocer los efectos de la pérdida de masa de células  $\beta$  en comparación con los casos control, además



de permitirnos interpretar los resultados de las simulaciones funcionales en términos de los cambios en la conectividad de los islotes.

### 3.5. Implementación del modelo de osciladores acoplados de Kuramoto para simular la secreción pulsátil de insulina

El modelo de osciladores implementado en este trabajo se basa en la propuesta de Hoang y colaboradores [49], quienes propusieron un modelo de la secreción pulsátil de las hormonas endocrinas pancreáticas basado en dos observaciones principales:



**Figura 14.** Organización e interacción de las células  $\beta$  pancreáticas (en verde): las células pancreáticas liberan sus hormonas de forma pulsátil, con un periodo aleatorio en el orden de minutos y una fase inicial asignada aleatoriamente. *Imagen tomada y modificada de:* [49].

1. Las células  $\beta$  de los islotes son osciladores intrínsecos que producen pulsos de insulina.
2. Las células de los islotes interactúan con las células vecinas a través de señalización paracrina/autocrina y comunicación eléctrica directa vía uniones comunicantes.

Con base en estos aspectos, Hoang y colaboradores [49] adaptaron el modelo de Kuramoto [59], modelo ampliamente utilizado en una gran variedad de campos para el estudio de los fenómenos de sincronización de grandes poblaciones de elementos interactuantes. El modelo de Kuramoto, que es lo suficientemente simple como para ser matemáticamente manejable, pero al mismo tiempo suficientemente complejo como para no ser trivial, se compone de  $n$  ecuaciones diferenciales del tipo:

$$\dot{\theta}_i = \omega_i + \sum_{j \in \Lambda_i} K_{\sigma_i \sigma_j} \sin(\theta_i - \theta_j) \quad (9)$$

donde, aplicado en el contexto de los islotes pancreáticos,  $\theta_i \in \mathbb{R}$  y  $\sigma_i \in \{\alpha, \beta\}$  son la fase y el tipo de la  $i$ -ésima célula entre las  $N$  células dentro de un islote y cada célula produce secreción de insulina oscilatoria con una frecuencia intrínseca  $\omega_i$ .

El segundo término en la ecuación 9 representa las interacciones de las células  $j$ -ésimas vecinas más cercanas. El conjunto vecino  $\Lambda_i$  de la  $i$ -ésima célula fue determinado a partir de

las matrices de conectividad obtenidas como resultado del proceso de reconstrucción de las arquitecturas de los islotes. Por otro lado, el peso de la interacción entre la célula  $j$ -ésima y la célula  $i$ -ésima está dada por el parámetro  $K_{\sigma_i\sigma_j}$  (en este caso  $K_{\beta\beta}$ ). Con la finalidad de evaluar el comportamiento del sistema ante diferentes valores de este parámetro, se llevaron a cabo simulaciones con diferentes valores del parámetro del peso de la interacción, tomando valores arbitrarios entre 0 y 500. En términos fisiológicos, esto podría ser interpretado como un aumento en la sensibilidad a las señales parácrinas provenientes de células  $\beta$  vecinas, o bien, un aumento en la conductancia de las uniones comunicantes entre células  $\beta$  en el islote.

Las simulaciones de la secreción pulsátil de insulina utilizando el modelo de osciladores acoplados antes descrito se realizó en IsletLab [63], considerando un periodo de oscilación promedio de 10 minutos, tiempo al que se evaluó la sincronización de las secreciones pulsátiles de las células  $\beta$  (0: desincronización total, 1: sincronización total). La sincronización de las actividades secretorias de las células  $\beta$  en los islotes se calculó como:

$$R_\sigma e^{i2\Theta_\sigma} = \frac{\sum_{j=1}^N \delta_{\sigma,\sigma_j} e^{i2\theta_j}}{\sum_{j=1}^N \delta_{\sigma,\sigma_j}} \quad (10)$$

donde la amplitud  $R_\sigma$  ( $0 \leq R_\sigma \leq 1$ ) mide la coherencia de fase de las células  $\sigma \in \alpha, \beta$ , y la fase  $\Theta_\sigma$  representa la fase media de las células  $\sigma$ . La delta de Kronecker,  $\delta_{\sigma,\sigma_j}$ , representa que la  $j$ -ésima célula contribuye con  $\delta_{\sigma,\sigma_j} = 1$  solo cuando su tipo es  $\sigma$ , de lo contrario  $\delta_{\sigma,\sigma_j} = 0$  [49].

Los osciladores se inicializaron asignando una fase aleatoria inicial entre 0 y  $2\pi$ . Se llevaron a cabo simulaciones de una duración de 30000 segundos con un paso de tiempo de 0.1 segundos.

### 3.6. Aspectos computacionales

La reconstrucción de los islotes pancreáticos *in silico* se llevó a cabo en IsletLab [63], escrito en C utilizando la biblioteca OpenMP y ejecutado en el clúster Yoltla del Laboratorio Nacional de Cómputo de Alto Desempeño (LANCAD), en la Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, Ciudad de México, México. Para realizar los cálculos se utilizaron nodos Intel Xeon E5-2670 v2 con 20 procesadores físicos (20 subprocesos) y 64 memoria RAM GM DDR3. Las visualizaciones y el postprocesamiento se realizaron en Wolfram Mathematica 12.0 (Champaign, IL (2019)). El análisis estadístico se realizó en Graphpad Prism 9.0. El análisis de redes se realizó utilizando la librería NetworkX en Python 3.0. La simulación funcional de la secreción pulsátil de insulina se realizó en IsletLab. El postprocesamiento de los datos, como el cálculo de la sincronización, se llevó a cabo en MatLab versión R2020b para Windows (MathWorks Inc., Natick, Massachusetts, U.S.A.). Un panorama general del proceso computacional de simulación se muestra en la figura 15. Algunas figuras o ilustraciones que forman parte de las figuras fueron realizadas mediante BioRender [65].

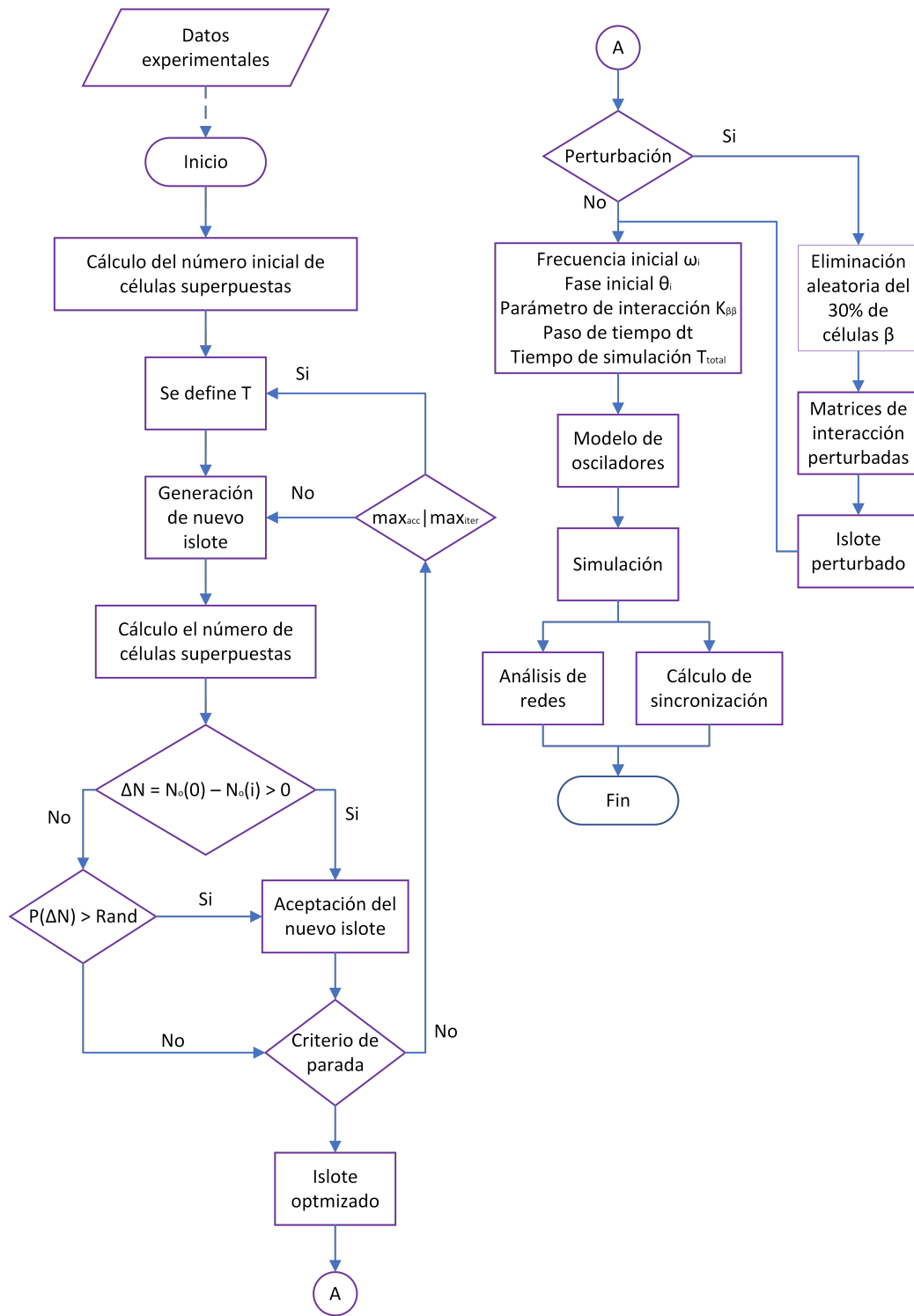


Figura 15. Diagrama de flujo general del proceso de simulación.

## 4. Resultados

### 4.1. Características de los islotes pancreáticos reconstruidos

Se reconstruyeron y simularon 28 islotes pancreáticos constituidos únicamente por células  $\alpha$  y  $\beta$ , tomando en cuenta las interacciones  $\beta$ - $\beta$  para los análisis posteriores. En la Tabla 2 se muestra el número total de células que contienen todos los islotes control reconstruidos, así como los valores promedio del radio y volumen de las células que los conforman.

**Tabla 2.** Características básicas de los islotes pancreáticos

	Número de células			Radio		Volumen		
	$N_\alpha$ (%)	$N_\beta$ (%)	Total (%)	$r_\alpha$ ( $\mu\text{m}$ ) n = 10879	$r_\beta$ ( $\mu\text{m}$ ) n = 27609	células $\alpha$ ( $\times 10^6 \mu\text{m}^3$ ) n = 10879	células $\beta$ ( $\times 10^6 \mu\text{m}^3$ ) n = 27609	Total ( $\times 10^6 \mu\text{m}^3$ ) n = 38488
Humano	10879 (28.3)	27609 (71.1)	38488 (100)	Media (SD)		2.5 (1.4)	9.3 (5.1)	11.7 (6.5)
				4.8 (0.4)	5.3 (0.7)			
				Media (IQR)		2.5 (2.1)	9.3 (9.5)	11.8 (11.6)
				4.7 (0.6)	5.1 (0.9)			
Chi cuadrada		7968 (df = 2)		U = 1.7E7	U = 6.6E8	t = 4.45 (df = 37.36)	t 3.24 (df = 38.73)	t 2.42 (df = 43.11)
Valor P		<0.0001		<0.0001	<0.0001	<0.001	<0.01	<0.05

$N_\alpha$ : número de células  $\alpha$ .  $N_\beta$ : número de células  $\beta$ .  $r_\alpha$ : radio células  $\alpha$ .  $r_\beta$ : radio células  $\beta$  Datos obtenidos de: [51].

La reconstrucción computacional de los islotes pancreáticos humanos, objeto de estudio de este trabajo, fue capaz de incluir entre el 99 y 100 % de células identificadas experimentalmente, como se muestra en la Tabla 3.

Los 28 islotes pancreáticos de tipo humano reconstruidos se muestran en las Figuras 16, 17 y 18, en donde se pueden observar tanto los islotes con el 100 % de células  $\beta$  como los islotes con pérdida del 30 % de células  $\beta$ . En color rojo se observan las células  $\alpha$ , en color verde las células  $\beta$  y en color gris traslucido las células  $\beta$  eliminadas de la simulación como consecuencia de la DMT2. El número de células de cada islote tanto en los casos control como en los casos alterados se muestran en la Tabla 4. Es importante destacar que, las células  $\alpha$  consideraron únicamente al momento de la reconstrucción de los islotes, lo que nos permitió determinar los contactos entre células  $\beta$  tomando en cuenta la arquitectura completa de los islotes humanos estudiados.

Al observar las Figuras 16, 17 y 18, así como las Tablas 3 y 4, es evidente la variedad de islotes analizados en cuanto al tamaño, morfología, distribución celular, etc. Con esto, los resultados obtenidos reflejan en gran medida las propiedades de conectividad de los islotes pancreáticos humanos.

**Tabla 3.** Estadísticas del proceso de reconstrucción de los islotes humanos

Islote	$N_{exp}$	$N_{opt}$	$N_o$	% células	Islote	$N_{exp}$	$N_{opt}$	$N_o$	% células
1	2273	2272	1	99.96	15	1850	1849	1	99.95
2	1225	1224	1	99.92	16	847	842	5	99.41
3	1165	1160	5	99.57	17	526	526	0	100.00
4	681	681	0	100.00	18	1482	1475	7	99.53
5	1178	1177	1	99.92	19	1788	1785	3	99.83
6	340	340	0	100.00	20	1503	1499	4	99.73
7	2472	2472	0	100.00	21	1917	1916	1	99.95
8	1831	1831	0	100.00	22	915	914	1	99.89
9	916	916	0	100.00	23	695	694	1	99.86
10	2376	2374	2	99.92	24	2033	2007	26	98.72
11	818	818	0	100.00	25	613	613	0	100.00
12	458	457	1	99.78	26	1531	1530	1	99.93
13	1976	1976	0	100.00	27	1993	1984	9	99.55
14	536	536	0	100.00	28	2620	2620	0	100.00

$N_{exp}$ : número total de células identificadas experimentalmente.  $N_{opt}$ : número total de células en el islote reconstruido.  $N_o = N_{exp} - N_{opt}$ . % células: porcentaje de células experimentales incluidas en los islotes reconstruidos computacionalmente. *Datos tomados de:* [51].

**Tabla 4.** Número de células de los islotes pancreáticos control y alterados.

Islote	Total	$\alpha$	$\beta$	$\beta_{pert}$	Islote	Total	$\alpha$	$\beta$	$\beta_{pert}$
1	2272	509	1763	1234	15	1849	329	1520	1064
2	1224	154	1070	749	16	842	96	746	522
3	1160	416	744	521	17	526	63	463	324
4	681	82	599	419	18	1475	293	1182	827
5	1177	417	760	532	19	1785	479	1306	914
6	340	83	257	180	20	1499	317	1182	827
7	2472	1162	1310	917	21	1916	600	1316	921
8	1831	332	1499	1049	22	914	291	623	436
9	916	108	808	565	23	694	119	575	402
10	2374	443	1931	1352	24	2007	848	1159	811
11	818	269	549	384	25	613	261	352	246
12	457	84	373	261	26	1530	431	1099	769
13	1976	605	1371	960	27	1984	902	1082	757
14	536	157	379	265	28	2620	1029	1591	1114

$\beta_{pert}$  indica el número de células  $\beta$  restantes al eliminar el 30% de la células como consecuencia de la DMT2.

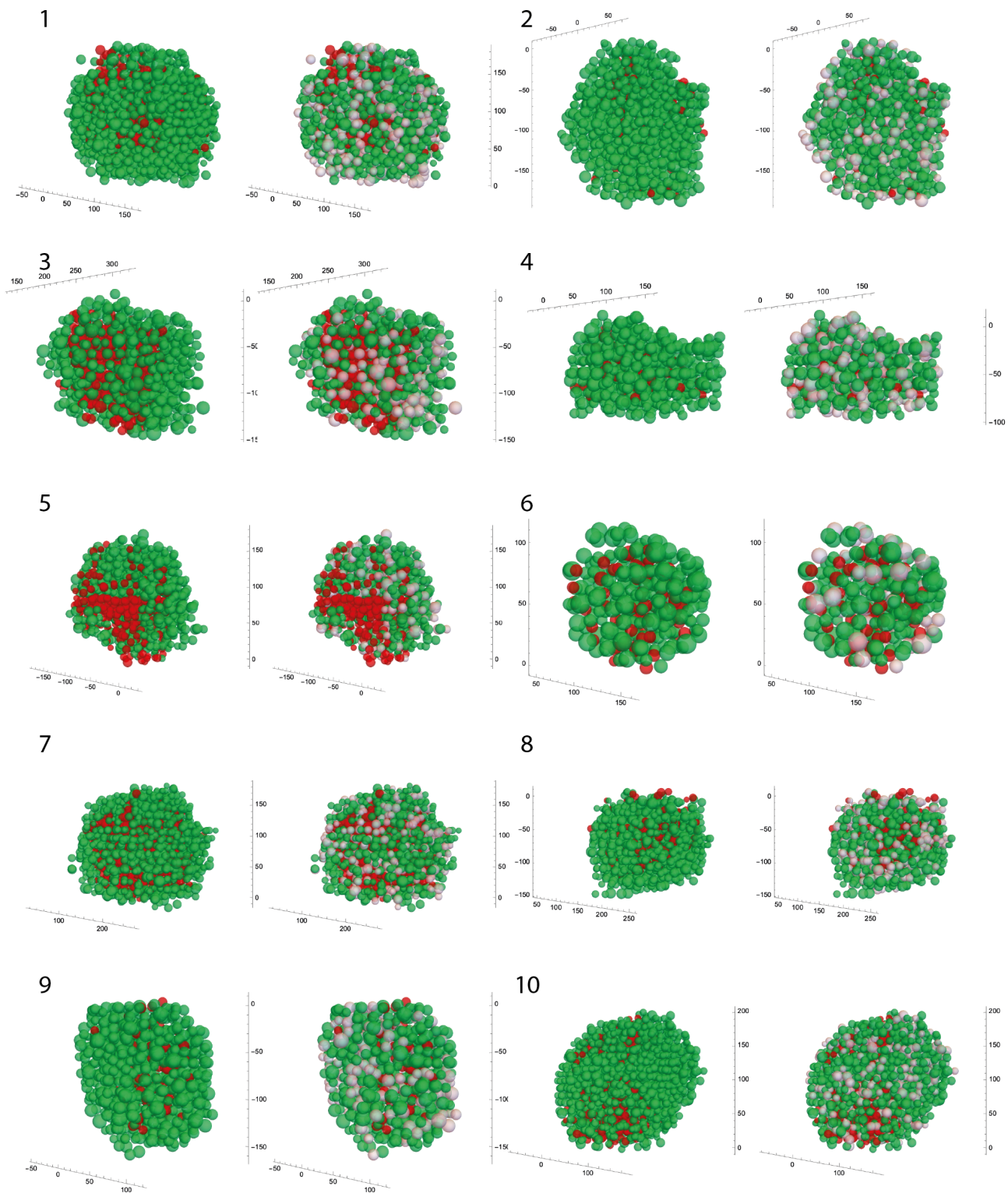


Figura 16. Islotes pancreáticos reconstruidos: 1 a 10 (izq: control, der: alterado)

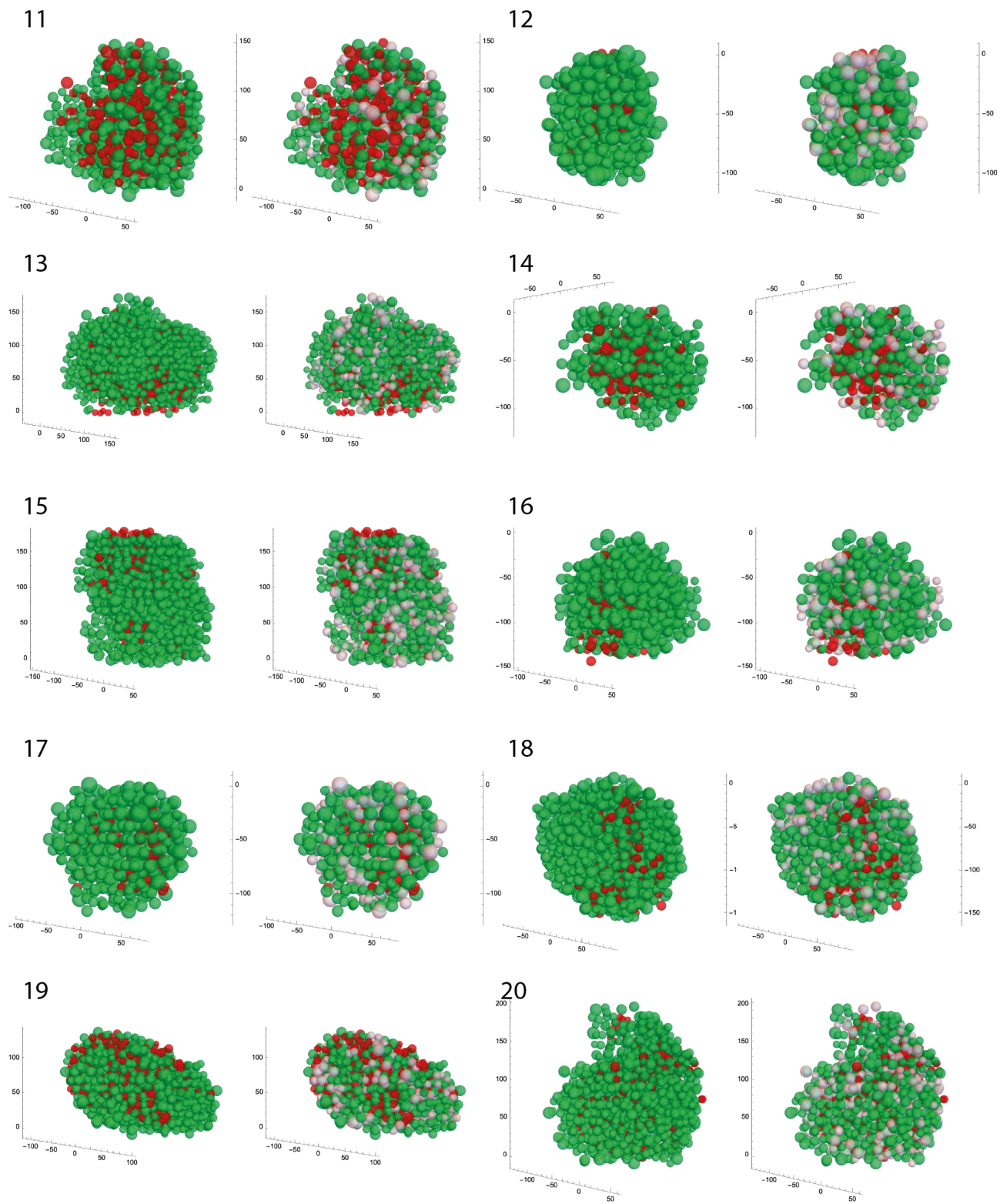


Figura 17. Islotes pancreáticos reconstruidos: 11 a 20 (izq: control, der: alterado)

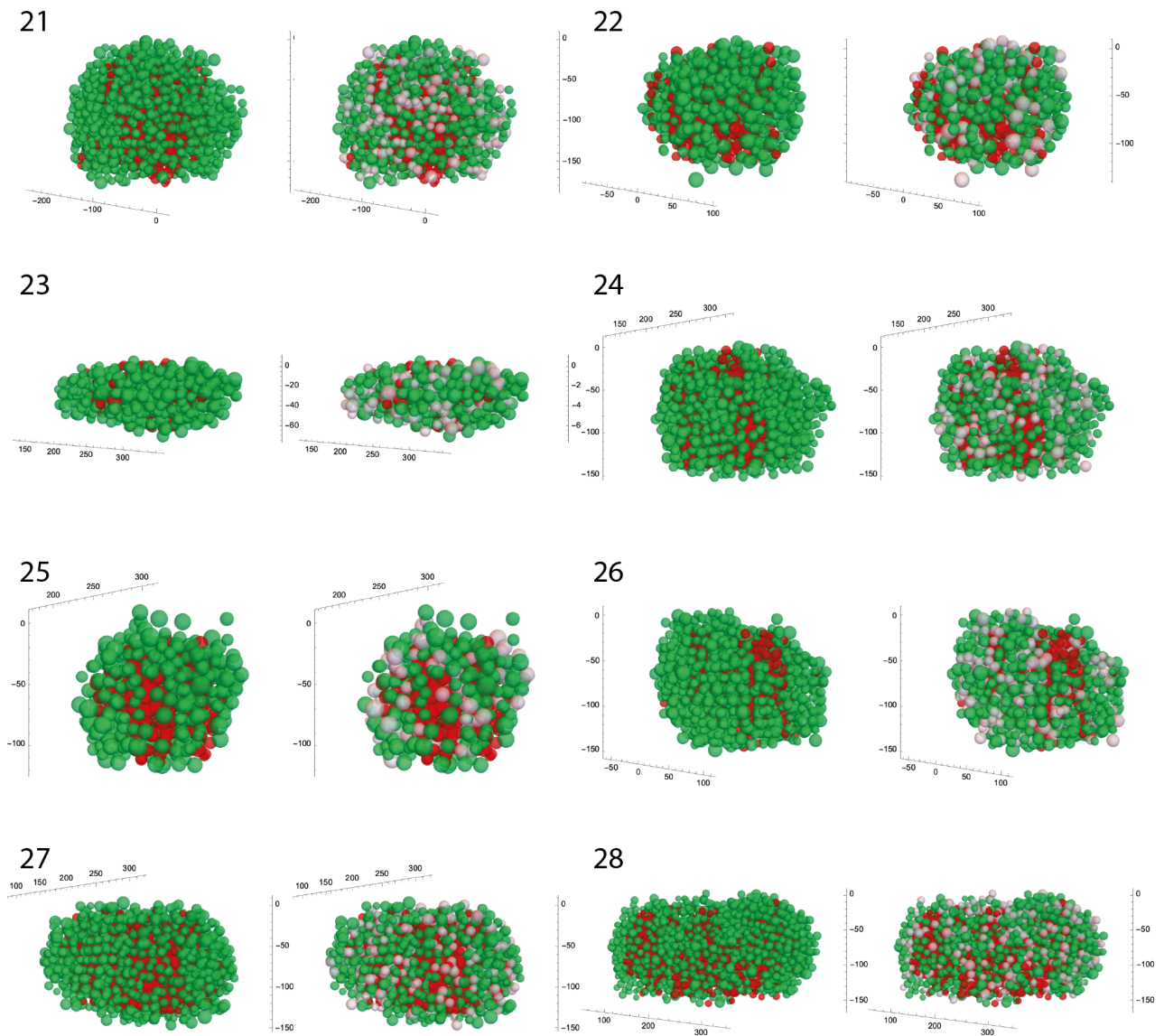


Figura 18. Islotes pancreáticos reconstruidos: 21 a 28 (izq: control, der: alterado)



## 4.2. Análisis de la conectividad de las células $\beta$ en los islotes humanos reconstruidos

Los contactos célula a célula considerados en las simulaciones funcionales fueron los  $\beta$ - $\beta$ ; sin embargo, como se puede observar en la Tabla 5, en el proceso de reconstrucción se identificaron tres tipos de contactos en los islotes pancreático. En los islotes control se obtuvo que el 18.1 % de los contactos son  $\alpha$ - $\alpha$ , 57.2 % son  $\beta$ - $\beta$  y 24.7 % son  $\alpha$ - $\beta$ . En los islotes modificados (con pérdida de células  $\beta$ ), el 28.4 % de los contactos fueron  $\alpha$ - $\alpha$ , el 44.3 %  $\beta$ - $\beta$  y el 27.3 %  $\alpha$ - $\beta$ . Debido a la pérdida de células  $\beta$  los enlaces  $\alpha$ - $\alpha$  aumentaron 56.9 %, los enlaces  $\beta$ - $\beta$  disminuyeron 22.6 % y los enlaces  $\alpha$ - $\beta$  aumentaron 10.5 %.

Como se mencionó anteriormente, uno de los objetivos de este trabajo es analizar la red formada por las células  $\beta$  en los islotes reconstruidos y determinar cuantitativamente el efecto de la pérdida de masa de células  $\beta$ . Para esto, se construyeron redes tanto para los islotes control como para los islotes alterados. En las figuras 19, 20 y 21 se muestran las gráficamente las redes obtenidas.

Las redes de los islotes control están compuestas, de manera general, por menos componentes conectados o subredes en comparación con las redes formadas por los islotes con pérdida de masa celular (ver Figura 22E). Esto significa que las subredes en los islotes control están compuestas por un mayor número de células conectadas entre sí, aunque también se muestran pequeños cúmulos de células e incluso células  $\beta$  aisladas. Por su parte, las redes de los islotes alterados muestran mayor número de grupos de células conectadas entre sí, aunque cada grupo está constituido por un número menor de células, lo que indica que la pérdida del 30 % de la masa de células  $\beta$  produce una segregación del islote como consecuencia de la desconexión producida por la pérdida de células  $\beta$ . Esto también se ve reflejado numéricamente en la Tabla 5, donde se puede apreciar en todos los casos la pérdida considerable de enlaces entre células  $\beta$  (ver también Figura 22A).

De manera local; es decir, célula por célula en la red, la desconexión producida por la pérdida de masa de células  $\beta$  se ve reflejada en la disminución del grado promedio (Figura 22B), lo que indica que en promedio cada célula o nodo de la red tiene un número menor de contactos con sus vecinas.

Como se puede observar en las Figuras 22C y D, la densidad y coeficiente de acoplamiento no mostraron diferencias significativas entre las redes generadas a partir de los islotes control y alterados.

## 4.3. Impacto de la pérdida de células en la sincronización de la secreción pulsátil de insulina en islotes humanos

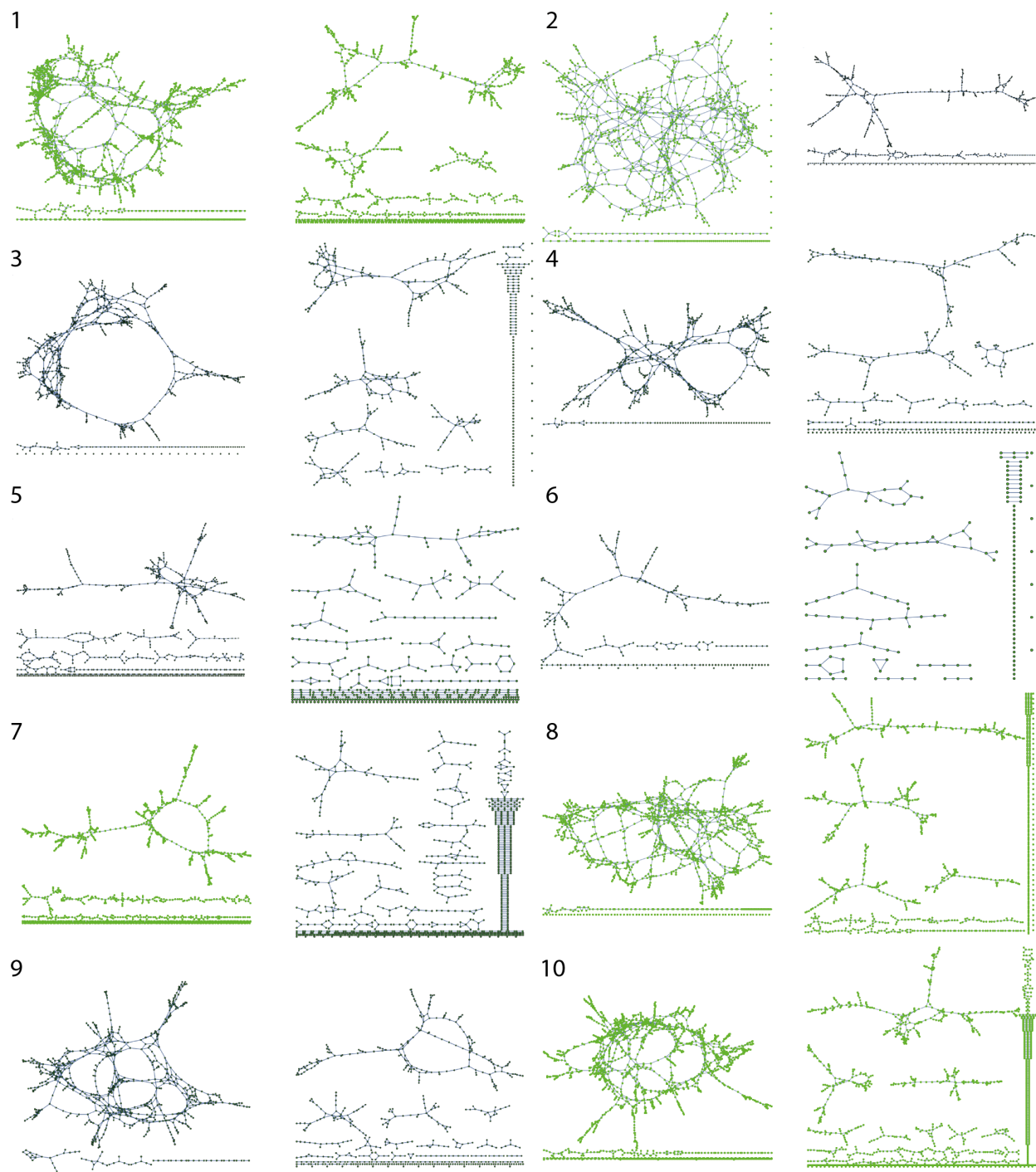
En la Figura 23 se muestra la sincronización alcanzada por las células  $\beta$  al tiempo  $t = 30000$  segundos para diferentes valores del peso de interacción entre las células.

Cuando el peso de la interacción es cero se observa que tanto islotes control como alterados alcanzan prácticamente la misma sincronización. Sin embargo, para valores del parámetro del peso de interacción es diferente de cero, los islotes control en todos los casos alcanzaron una mayor sincronización en comparación con los islotes alterados, incluso para valores bajos del peso de interacción ( $K_{\beta\beta} = 10$  o  $20$ , por ejemplo). Esta diferencia es más evidente para valores mayores del peso de interacción (i.e.  $K_{\beta\beta} > 50$ ), en donde claramente los islotes

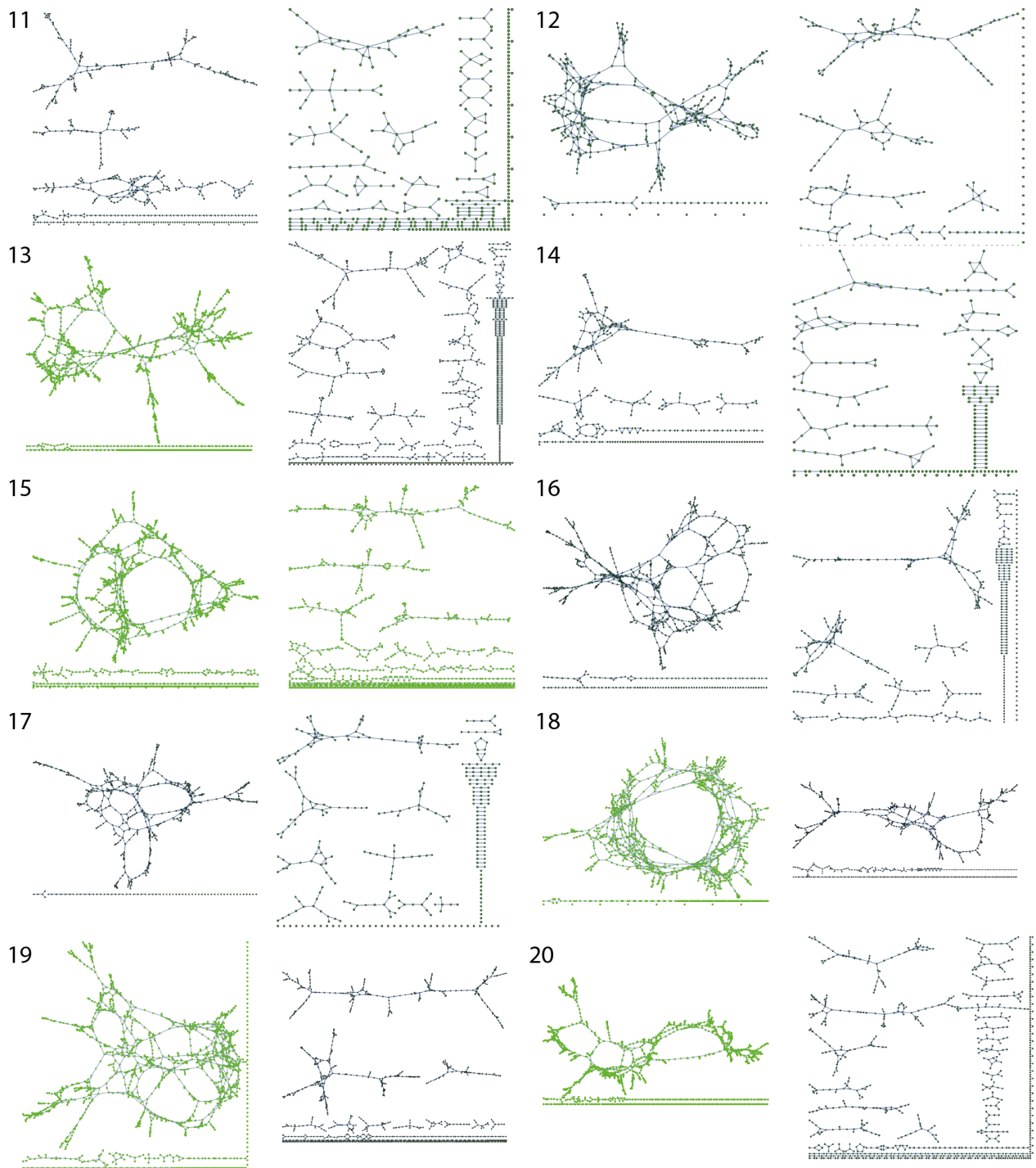
**Tabla 5.** Número de contactos de los islotes pancreáticos reconstruidos: control y alterados.

Islote	Control (100% $\beta$ )				Alterado (-30% $\beta$ )			
	Total	$N_{\alpha\alpha}$	$N_{\beta\beta}$	$N_{\alpha\beta}$	Total	$N_{\alpha\alpha}$	$N_{\beta\beta}$	$N_{\alpha\beta}$
1	1764	193	1113	458	1045	193	534	318
2	826	29	688	119	460	29	343	88
3	1058	246	575	237	699	246	288	165
4	681	82	599	419	255	13	178	64
5	594	124	306	164	399	124	164	111
6	196	22	112	62	120	22	49	49
7	1063	607	572	424	1191	607	281	303
8	1504	81	1017	406	869	81	508	280
9	674	25	533	116	374	25	262	87
10	1653	120	1087	446	1013	120	578	315
11	542	73	264	205	336	73	116	147
12	360	31	246	83	214	31	127	56
13	1398	245	731	422	877	245	339	293
14	319	66	179	74	199	66	84	49
15	1226	102	843	281	698	102	409	187
16	623	46	429	148	348	46	192	110
17	361	19	281	61	195	19	139	37
18	1331	118	857	356	786	118	420	248
19	1543	208	819	516	971	208	392	371
20	1066	94	678	294	660	94	345	221
21	1315	269	803	243	849	269	416	264
22	519	97	304	118	333	97	145	91
23	604	74	449	81	339	74	211	54
24	1938	734	774	430	1445	734	388	323
25	455	168	187	100	327	168	86	73
26	1138	198	690	250	717	198	342	177
27	1729	689	656	384	1281	689	315	277
28	2196	564	1051	581	1500	564	546	390

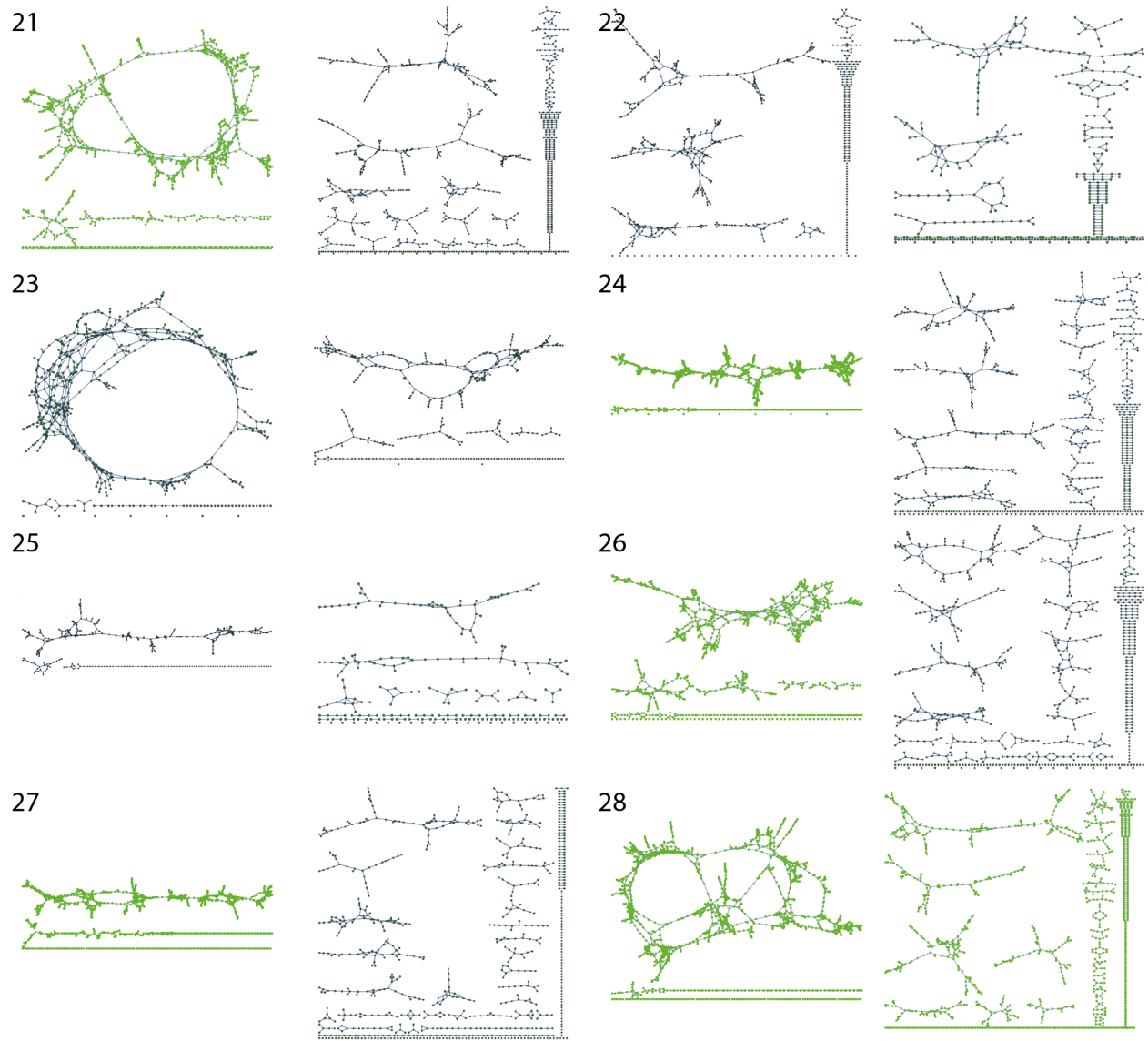
$N_{\alpha\alpha}$ : número de contactos entre células  $\alpha$ .  $N_{\beta\beta}$ : número de contactos entre células  $\beta$ .  $N_{\alpha\beta}$ : número de contactos entre células  $\alpha$  y  $\beta$ .



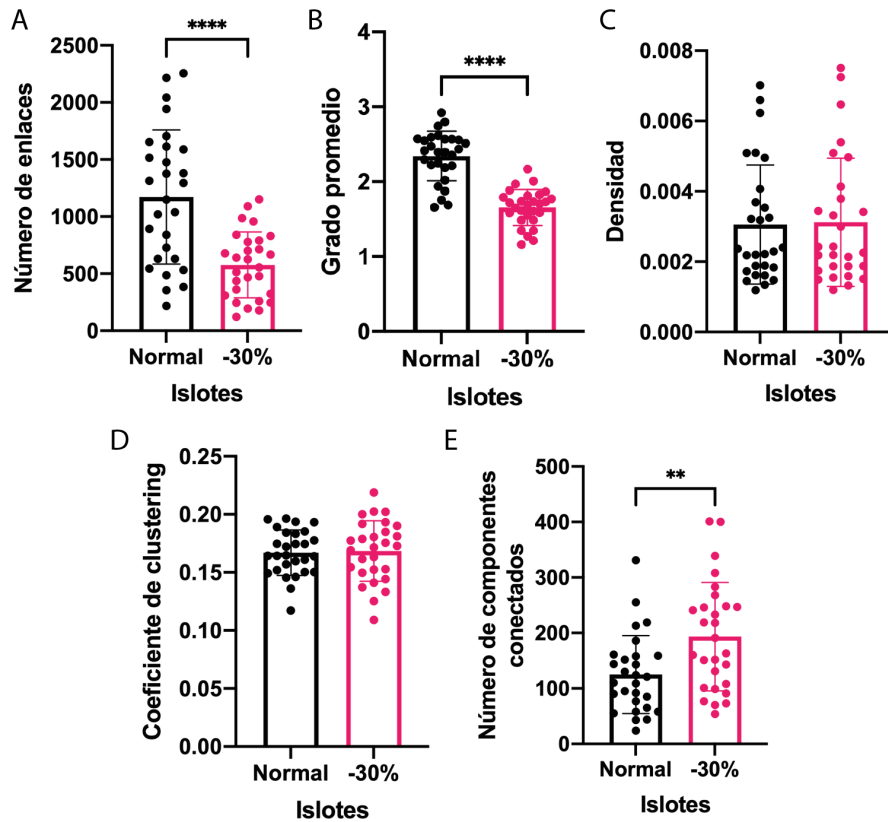
**Figura 19.** Redes de las conexiones  $\beta$ - $\beta$ : 1 a 10 (izq: control, der: alterado)



**Figura 20.** Redes de las conexiones  $\beta$ - $\beta$ : 11 a 20 (izq: control, der: alterado)

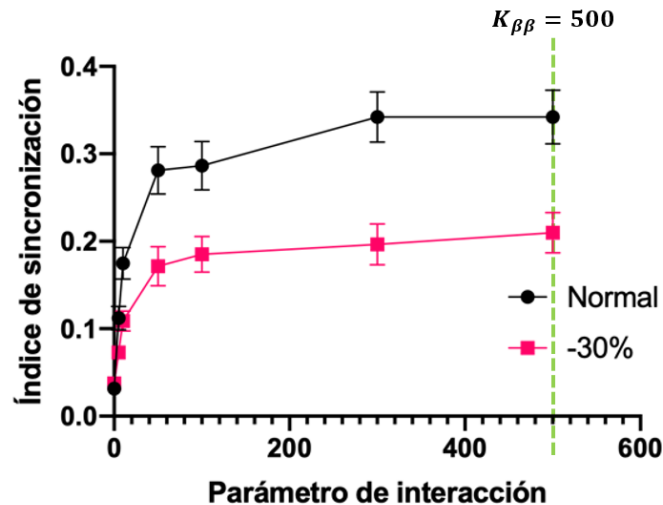


**Figura 21.** Redes de las conexiones  $\beta$ - $\beta$ : 21 a 28 (izq: control, der: alterado)



**Figura 22.** Métricas de redes de los islotes humanos control y alterados. **A.** comparación del número de enlaces en los islotes. **B.** Grado promedio de las células  $\beta$  en los islotes. **C.** Densidad de la red. **D.** Coeficiente de agrupamiento o *clustering*. **E.** Número de componentes conectados en la red.

control alcanzan una mayor sincronización. Resulta interesante que la máxima sincronización alcanzada en ambos casos es prácticamente independiente del peso de la interacción para valores mayores  $K_{\beta\beta} = 500$ .



**Figura 23.** Índice de sincronización de la secreción pulsátil de insulina en islotos pancreáticos control (negro) y alterados (magenta).

## 5. Discusión

En este trabajo se implementó un modelo computacional de la secreción pulsátil de insulina en islotos pancreáticos humanos reconstruidos a partir de datos experimentales. En este sentido, es importante resaltar que el proceso de reconstrucción consideró, en los 28 islotos reconstruidos, arriba del 99% de las células identificadas experimentalmente por Hoang y colaboradores [49]. Esto nos permitió detectar los contactos entre las células en islotos sumamente heterogeneos en términos de su tamaño, morfología, distribución celular, etc. Los contactos entre células  $\beta$  detectados sirvieron posteriormente para 1) analizar cuantitativamente la conectividad de las redes formadas por células  $\beta$  en los islotos humanos y 2) simular los efectos de la comunicación celular en la sincronización de la secreción pulsátil de insulina. En primer lugar, del análisis de la conectividad de los islotos se pudo concluir que la pérdida de masa de células  $\beta$ , al eliminar enlaces entre ellas, y con esto, una disminución en el promedio de conexiones de cada célula en el islote, produce una segregación que se ve reflejada en un aumento en el número de subredes o componentes conectados en la red de células  $\beta$  de los islotos.

El uso del modelo de osciladores acoplados de Kuramoto permitió determinar las posibles implicaciones funcionales de la pérdida de masa de células  $\beta$  en la secreción pulsátil de insulina en islotos humanos. En un trabajo previo que sirvió como base de este trabajo de tesis, Hoang y colaboradores [49] implementaron un modelo basado en la misma idea, aunque con la importante diferencia de que en su caso los islotos utilizados no fueron reconstruidos con el mismo nivel de detalle que en este trabajo. La importancia de esto radica en que en

este proyecto, al considerar el tamaño celular reportado experimentalmente, se detectaron los contactos entre células en los islotes de manera más realista, parte fundamental para los resultados de las simulaciones funcionales. Además, el hecho de haber analizado en primer lugar las propiedades morfológicas y de conectividad de los islotes hizo posible explicar los resultados de las simulaciones funcionales en términos de las características estructurales de los islotes humanos.

De acuerdo con las simulaciones realizadas, la disminución de la sincronización de la secreción pulsátil de insulina como consecuencia de la pérdida del 30 % de la masa de células  $\beta$  se debe a la pérdida de conectividad a nivel local, lo que produce una desconexión y segregación de las células  $\beta$  en el islote, y que finalmente evita la interacción entre las células en diferentes regiones del islote y con esto, previene la sincronización. En términos fisiológicos, la caída de la sincronización de la secreción pulsátil de insulina en los islotes, podría generar la alteración en la pulsatilidad de la insulina plasmática observada en personas con diabetes tipo 2.

## 6. Conclusiones

Los análisis y simulaciones realizadas en este trabajo nos permite concluir lo siguiente:

1. La reconstrucción computacional de los islotes pancreáticos humanos hizo posible la caracterización morfológica y de conectividad de los islotes, importante para explicar las implicaciones funcionales de la pérdida de masa de células  $\beta$ .
2. El análisis de la conectividad de las células  $\beta$  en los islotes pancreáticos humanos utilizando teoría de redes permite evaluar cuantitativamente los efectos de la pérdida de masa de células  $\beta$ .
3. La pérdida del 30 % de la masa de células  $\beta$  reduce la conectividad entre las células  $\beta$  del islote en aproximadamente 48 % con respecto a los islotes control.
4. La pérdida del 30 % de la masa de células  $\beta$  reduce considerablemente el número de contactos entre células  $\beta$  en los islotes humanos, produciendo una mayor segregación de las células  $\beta$ .
5. La pérdida del 30 % de la masa de células  $\beta$  produce una disminución en la sincronización de la secreción pulsátil de insulina en islotes humanos independientemente del peso de la interacción entre las células  $\beta$  del islote.

## 7. Perspectivas

Este trabajo, basado en la reconstrucción computacional de islotes pancreáticos humanos partiendo de datos experimentales y la implementación de un modelo de osciladores acoplado para la simulación de la secreción pulsátil de insulina constituye un avance relevante en el campo del modelado de las interacciones intercelulares en los islotes pancreáticos. Sin embargo, este trabajo puede ser complementado en trabajo futuro con aspectos no considerados como:



- Considerar las interacciones entre células  $\alpha$  y  $\delta$  en el modelo de osciladores acoplados.
- Ampliar las simulaciones a islotes con los tres tipos celulares  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$ .
- Implementar un modelo electrofisiológico detallado de la actividad eléctrica de las células  $\beta$ , y en su caso, de las células  $\alpha$  y  $\delta$  para considerar explícitamente los efectos de la pérdida de masa de células  $\beta$  en el papel de la función celular.
- Evaluar computacionalmente otras alteraciones producidas por la DMT2.
- Validar experimentalmente los resultados obtenidos en este proyecto.

# Referencias

- [1] Alsahli M, Shrayyef MZ, Gerich JE. Normal Glucose Homeostasis. In: Poretzky L, editor. . Springer International Publishing; 2017. page 23–42.
- [2] Rorsman P, Huising MO. The somatostatin-secreting pancreatic  $\delta$ -cell in health and disease. Nature Publishing Group 2018; :1–11.
- [3] Rorsman P, Ashcroft FM. Pancreatic  $\beta$ -Cell Electrical Activity and Insulin Secretion: Of Mice and Men. *Physiological reviews* 2018; 98:117–214.
- [4] Gromada J, Chabosseau P, Rutter GA. The  $\alpha$ -cell in diabetes mellitus. Nature Publishing Group 2018; :1–11.
- [5] Cabrera O, Berman DM, Kenyon NS, Ricordi C, Berggren P-O, Caicedo A. The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [Internet] 2006; 103:2334–9. Available from: <http://www.pnas.org/content/103/7/2334.short>
- [6] Ionescu-Tirgoviste C, Gagniuc PA, Gubceac E, Mardare L, Popescu I, Dima S, Militaru M. A 3D map of the islet routes throughout the healthy human pancreas. *Scientific Reports* 2015; 5:1–14.
- [7] Briant LJB, Reinbothe TM, Spiliotis I, Miranda C, Rodriguez B, Rorsman P.  $\delta$ -cells and  $\beta$ -cells are electrically coupled and regulate  $\alpha$ -cell activity via somatostatin. *The Journal of Physiology* [Internet] 2018; 596:197–215. Available from: <https://ora.ox.ac.uk/objects/uuid:b98945e3-2b08-4eca-831e-30222aace8a4>
- [8] Noguchi GM, Huising MO. Integrating the inputs that shape pancreatic islet hormone release. *Nature Metabolism* 2019; 1:1189–201.
- [9] Drigo RA e, Ali Y, Diez J, Srinivasan DK, Berggren P-O, Boehm BO. New insights into the architecture of the islet of Langerhans: a focused cross-species assessment. *Diabetologia* 2015; 58:2218–28.
- [10] Folli F, Rosa SL, Finzi G, Davalli AM, Galli A, Dick EJ, Perego C, Mendoza RG. Pancreatic islet of Langerhans' cytoarchitecture and ultrastructure in normal glucose tolerance and in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes, Obesity and Metabolism* [Internet] 2018; 20:137–44. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/dom.13380>

- [11] Dybala MP, Hara M. Heterogeneity of the Human Pancreatic Islet. *Diabetes* [Internet] 2019; 68:1230–9. Available from: <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/early/2019/03/21/db19-0072>
- [12] Otter S, Lammert E. Exciting Times for Pancreatic Islets: Glutamate Signaling in Endocrine Cells. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2015; :1–12.
- [13] Dwulet JM, Ludin NWF, Piscopio RA, Schleicher WE, Moua O, Westacott MJ, Benninger RKP. How Heterogeneity in Glucokinase and Gap-Junction Coupling Determines the Islet [Ca<sup>2+</sup>] Response. *Biophysical journal* 2019; 117:2188–203.
- [14] Hoang D-T, Hara M, Jo J. Design Principles of Pancreatic Islets: Glucose-Dependent Coordination of Hormone Pulses. *PloS one* [Internet] 2016; 11:e0152446. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0152446>
- [15] Westermark P, Andersson A, Westermark GT. Islet Amyloid Polypeptide, Islet Amyloid, and Diabetes Mellitus. *Physiological reviews* [Internet] 2011; 91:795–826. Available from: <http://www.physiology.org/doi/abs/10.1152/physrev.00042.2009>
- [16] Tresguerres, J. A. H., Ariznavarreta, C., Ruiz, C. A., Menéndez, J. T., Hernández, J. A. F. T., de Lugo, E. A. B., Pardo, M. R., Cachofeiro, V., & Teruel, F. M. (2005). *Fisiología humana*. McGraw-Hill Education.
- [17] Boron, W. F., & Boulpaep, E. L. (2017). *Fisiología médica (3a edición) (+ Student-Consult en español) (3.a ed.)* [Libro electrónico]. Elsevier España, S.L.U.
- [18] Costanzo, L. S. (2014). *Fisiología*. Elsevier Gezondheidszorg.
- [19] da Silva Xavier, G. (2018). The Cells of the Islets of Langerhans. *Journal of Clinical Medicine*, 7(3), 54. <https://doi.org/10.3390/jcm7030054>
- [20] Rorsman, P., & Ashcroft, F. M. (2018). Pancreatic  $\beta$ -Cell Electrical Activity and Insulin Secretion: Of Mice and Men. *Physiological Reviews*, 98(1), 117–214. <https://doi.org/10.1152/physrev.00008.2017>
- [21] Barrett, K. E. (2016). *Ganong. Fisiología médica*. Editorial McGraw-Hill.
- [22] Hellman, B. The frequency distribution of the number and volume of the islets langerhans in man. I. Studies on non-diabetic adults. *Acta Soc. Med. Ups.* 1959, 64, 432–460. [PubMed]
- [23] Tresguerres, J. A. H., Ariznavarreta, C., Ruiz, C. A., Menéndez, J. T., Hernández, J. A. F. T., de Lugo, E. A. B., Pardo, M. R., Cachofeiro, V., & Teruel, F. M. (2005). *Fisiología humana*. McGraw-Hill Education.
- [24] Ionescu-Tirgoviste, C., Gagniuc, P., Gubceac, E. et al. A 3D map of the islet routes throughout the healthy human pancreas. *Sci Rep* 5, 14634 (2015). <https://doi.org/10.1038/srep14634>

- [25] Abdulreda MH, Caicedo A, Berggren PO. A natural body window to study human pancreatic islet function and survival. *Cell* 2013;1(2):111–122. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
- [26] Chen, C., Cohrs, C. M., Stertmann, J., Bozsak, R., & Speier, S. (2017). Human beta cell mass and function in diabetes: Recent advances in knowledge and technologies to understand disease pathogenesis. *Molecular Metabolism*, 6(9), 943–957. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.06.019>
- [27] Göpel, S., Kanno, T., Barg, S., Galvanovskis, J., & Rorsman, P. (1999). Voltage-gated and resting membrane currents recorded from B-cells in intact mouse pancreatic islets. *The Journal of Physiology*, 521(3), 717–728. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1999.00717.x>
- [28] DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R. R., Herman, W. H., Holst, J. J., Hu, F. B., Kahn, C. R., Raz, I., Shulman, G. I., Simonson, D. C., Testa, M. A., & Weiss, R. (2015). Type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 1(1). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.19>
- [29] Cho, N., Shaw, J., Karuranga, S., Huang, Y., da Rocha Fernandes, J., Ohlrogge, A., & Malanda, B. (2018). IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 138, 271–281. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.02.023>
- [30] Colaboradores, P. D. O. Y. (2020, 14 noviembre). La Pandemia de Diabetes en México. Centro de Investigación En Alimentación y Desarrollo. <https://www.ciad.mx/notas/item/2450-la-pandemia-de-diabetes-en-mexico>
- [31] Cnop, M., Welsh, N., Jonas, J. C., Jorns, A., Lenzen, S., & Eizirik, D. L. (2005). Mechanisms of Pancreatic  $\beta$ -Cell Death in Type 1 and Type 2 Diabetes. *Diabetes*, 54(suppl\_2), S97-S107. [https://doi.org/10.2337/diabetes.54.suppl\\_2.s97](https://doi.org/10.2337/diabetes.54.suppl_2.s97)
- [32] Kahn, S. E. (2003). The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetologia*, 46(1), 3–19. <https://doi.org/10.1007/s00125-002-1009-0>
- [33] Kaiser, N., Leibowitz, G., & Neshler, R. (2003). Glucotoxicity and  $\beta$ -Cell Failure in Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 16(1). <https://doi.org/10.1515/jpem.2003.16.1.5>
- [34] Kilimnik, G., Zhao, B., Jo, J., Periwal, V., Witkowski, P., Misawa, R., & Hara, M. (2011). Altered Islet Composition and Disproportionate Loss of Large Islets in Patients with Type 2 Diabetes. *PLoS ONE*, 6(11), e27445. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027445>
- [35] PM MED. Electrical Activity in Pancreatic Islet Cells. *Nature* 1968; 219:389–90.
- [36] Félix-Martínez GJ, Godínez-Fernández JR. Mathematical models of electrical activity of the pancreatic  $\beta$ -cell: a physiological review. *Islets* 2014; :e949195.

- [37] Pedersen MG. Contributions of mathematical modeling of beta cells to the understanding of beta-cell oscillations and insulin secretion. *J of Diabetes Sci and Tech* 2009; 3:12–20.
- [38] Diderichsen PM, Göpel SO. Modelling the Electrical Activity of Pancreatic  $\alpha$ -cells Based on Experimental Data from Intact Mouse Islets. *Journal of Biological Physics* 2006; 32:209–29.
- [39] Watts M, Sherman A. Modeling the Pancreatic  $\alpha$ -Cell: Dual Mechanisms of Glucose Suppression of Glucagon Secretion. *Biophysj* 2014; 106:741–51.
- [40] Rosario A-CM del. Caracterización de la actividad eléctrica de la célula alfa pancreática humana utilizando modelos computacionales. 2019;
- [41] Félix-Martínez GJ, González-Vélez V, Godínez-Fernández JR, Gil A. Electrophysiological models of the human pancreatic  $\delta$ -cell: From single channels to the firing of action potentials. *International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering* 2020;
- [42] Lei C-L, Kellard JA, Hara M, Johnson JD, Rodriguez B, Briant LJB. Beta-cell hubs maintain Ca<sup>2+</sup> oscillations in human and mouse islet simulations. *Islets* [Internet] 2018; 10:151–67. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19382014.2018.1493316#>. XH-bRAFKdYFQ.twitter
- [43] Watts M, Ha J, Kimchi O, Sherman A. Paracrine regulation of glucagon secretion: the  $\beta/\alpha/\delta$  model. *American Journal of Physiology- Endocrinology And Metabolism* [Internet] 2016; 310:E597–611. Available from: <http://ajpendo.physiology.org/content/310/8/E597>
- [44] Félix-Martínez GJ, Godínez-Fernández JR. Effects of Impaired ATP Production and Glucose Sensitivity on Human  $\beta$ -Cell Function: A Simulation Study. *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica* 2014; 35:157–70.
- [45] Félix-Martínez GJ, Godínez-Fernández JR. Analysis of spiking electrical activity in human  $\beta$ -cells using mathematical models. 2014. page 1–4.
- [46] Félix-Martínez GJ, Godínez-Fernández JR. Modeling Ca(2+) currents and buffered diffusion of Ca(2+) in human  $\beta$ -cells during voltage clamp experiments. *Mathematical Biosciences* 2015; 270:66–80.
- [47] Félix-Martínez GJ, Godínez-Fernández JR. Modeling the spatiotemporal distribution of Ca<sup>2+</sup> during action potential firing in human pancreatic  $\beta$ -cells. *Biomedical Physics & Engineering Express* [Internet] 2017; 3:025020. Available from: <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/2057-1976/aa669f>
- [48] Félix-Martínez GJ, Mata AN, Godínez-Fernández JR. Reconstructing human pancreatic islet architectures using computational optimization. *Islets* 2020; :1–13.

- [49] Hoang, D. T., Hara, M., & Jo, J. (2016). Design Principles of Pancreatic Islets: Glucose-Dependent Coordination of Hormone Pulses. *PLOS ONE*, 11(4), e0152446. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152446>
- [50] Hoang, D. T., Matsunari, H., Nagaya, M., Nagashima, H., Millis, J. M., Witkowski, P., Periwal, V., Hara, M., & Jo, J. (2014). A Conserved Rule for Pancreatic Islet Organization. *PLoS ONE*, 9(10), e110384. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110384>
- [51] Félix-Martínez, G. J., & Godínez-Fernández, J. R. (2021). Comparative analysis of reconstructed architectures from mice and human islets. *Islets*, 14(1), 23–35. <https://doi.org/10.1080/19382014.2021.1987827>
- [52] Rohrer, S., Menge, B. A., Grüber, L., Deacon, C. F., Schmidt, W. E., Veldhuis, J. D., Holst, J. J., & Meier, J. J. (2012). Impaired Crosstalk between Pulsatile Insulin and Glucagon Secretion in Prediabetic Individuals. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97(5), E791–E795. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-3439>
- [53] Menge, B. A., Grüber, L., Jorgensen, S. M., Deacon, C. F., Schmidt, W. E., Veldhuis, J. D., Holst, J. J., & Meier, J. J. (2011). Loss of Inverse Relationship Between Pulsatile Insulin and Glucagon Secretion in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes*, 60(8), 2160–2168. <https://doi.org/10.2337/db11-0251>
- [54] Lang, D. A., Matthews, D. R., Peto, J., & Turner, R. C. (1979). Cyclic Oscillations of Basal Plasma Glucose and Insulin Concentrations in Human Beings. *New England Journal of Medicine*, 301(19), 1023–1027. <https://doi.org/10.1056/nejm197911083011903>
- [55] Stagner, J. I., Samols, E., & Weir, G. C. (1980). Sustained Oscillations of Insulin, Glucagon, and Somatostatin from the Isolated Canine Pancreas during Exposure to a Constant Glucose Concentration. *Journal of Clinical Investigation*, 65(4), 939–942. <https://doi.org/10.1172/jci109750>
- [56] Hellman, B., Salehi, A., Gylfe, E., Dansk, H., & Grapengiesser, E. (2009). Glucose Generates Coincident Insulin and Somatostatin Pulses and Antisynchronous Glucagon Pulses from Human Pancreatic Islets. *Endocrinology*, 150(12), 5334–5340. <https://doi.org/10.1210/en.2009-0600>
- [57] Grapengiesser, E., Gylfe, E., & Hellman, B. (1991). Cyclic AMP as a determinant for glucose induction of fast  $\text{Ca}^{2+}$  oscillations in isolated pancreatic beta-cells. *Journal of Biological Chemistry*, 266(19), 12207–12210. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)98882-4](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)98882-4)
- [58] Tengholm, A., & Gylfe, E. (2009). Oscillatory control of insulin secretion. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 297(1–2), 58–72. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2008.07.009>
- [59] Acebrón, J. A., Bonilla, L. L., Pérez Vicente, C. J., Ritort, F., & Spigler, R. (2005). The Kuramoto model: A simple paradigm for synchronization phenomena. *Reviews of Modern Physics*, 77(1), 137–185. <https://doi.org/10.1103/revmodphys.77.137>

- [60] Camunas-Soler J, Dai X-Q, Hang Y, Bautista A, Lyon J, Suzuki K, Kim SK, Quake SR, MacDonald PE. Patch-seq links single-cell transcriptomes to human islet dysfunction in diabetes. *Cell Metab.* 2020;31 (5):1017–1031.e4. PMID: 32302527. doi:10.1016/j.cmet.2020.04.005
- [61] Hernández-Ávila M, Gutiérrez JP, Reynoso-Noverón N. Diabetes Mellitus en México: El estado de la epidemia. *Salud Pública Mex*, 2013; 55(2):s129-36.
- [62] Instituto Nacional de Salud Pública, Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2021 sobre COVID-19: Resultados Nacionales, 2021.
- [63] Félix-Martínez, Gerardo J. *IsletLab*: an application to reconstruct and analyze islet architectures. *Islets* 14.1 (2022): 36-39.
- [64] Diabetes. (s.f.). OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud. <https://www.paho.org/es/temas/diabetes>
- [65] BioRender. (s.f.). <https://biorender.com/>
- [66] Braun, M., Ramracheya, R. & Rorsman, P. (2012). Autocrine regulation of insulin secretion. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 14, 143-151. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2012.01642.x>
- [67] Hiriart, M. & Aguilar-Bryan, L. (2008). Channel regulation of glucose sensing in the pancreatic  $\beta$ -cell. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 295(6), E1298-E1306. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90493.2008>



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00147

Matrícula: 2193801715

Modelo computacional de la secreción pulsátil de insulina en islotes pancreáticos de tipo humano.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 11:00 horas del día 19 del mes de enero del año 2023 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. MARCIA HIRIART URDANIVIA  
DRA. MYRIAN VELASCO TORRES  
DRA. VIRGINIA GONZALEZ VELEZ

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS (INGENIERIA BIOMEDICA)

DE: RODOLFO MISAELO LOPEZ LABASTIDA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

**APROBAR**

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



RODOLFO MISAELO LOPEZ LABASTIDA  
ALUMNO

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ  
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBI

DR. ROMAN LINARES ROMERO

PRESIDENTA

DRA. MARCIA HIRIART URDANIVIA

VOCAL

DRA. MYRIAN VELASCO TORRES

SECRETARIA

DRA. VIRGINIA GONZALEZ VELEZ