

Modelo de desarrollo y crecimiento de los islotes de Langerhans del páncreas endocrino

I.V. Martínez Espinosa^{1,2}, M.E. Hernando Pérez^{1,2}, R.J. Villares García³, J.M. Mellado García³,
E.J. Gómez Aguilera^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, Departamento de Tecnología Fotónica, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España, {ivme, egomez, elena}@gbt.tfo.upm.es

² Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina CIBER-BBN, Madrid, España.

³ Departamento de Inmunología y Oncología. Centro Nacional de Biotecnología/CSIC, Madrid, España, {rvillares, mmellado}@cnb.csic.es

Resumen

En este artículo se presenta un modelo del desarrollo embrionario y crecimiento postnatal de los islotes de Langerhans en el páncreas de un ratón. Los islotes modelados se representan como un conjunto de células cuyo número evoluciona con el tiempo, estimándose el tamaño de cada islote en función de este número. A partir del conjunto de todos los islotes, se obtiene una distribución de tamaños de islotes. El objetivo del modelo es representar los tamaños de islotes que se encuentran en experimentos de la literatura. El modelo obtiene buenas aproximaciones a las distribuciones de tamaños reales y puede ser empleado para predecir dicha distribución de tamaños en diferentes edades, información que podría ser útil para la obtención de islotes para trasplantes o para el desarrollo de modelos de la fisiología del páncreas endocrino y situaciones patológicas como la diabetes.

1. Introducción

El crecimiento corporal es un proceso no lineal en el que diferentes partes crecen a diferentes tasas en cada momento. Un ejemplo es la masa de células beta en el páncreas endocrino, que tiene diferentes dependencias con la masa corporal según el momento de vida del organismo [1-3]. Las células beta a lo largo de la vida sufren renovación por procesos de apoptosis y generación de nuevas células y ésta tasa de renovación va disminuyendo a lo largo del tiempo [1].

Dos son las vías por las que pueden producirse nuevas células beta: división de células beta ya existentes, (*proliferación*) o diferenciación en célula beta a partir de otro tipo de célula (*neogénesis*). El mecanismo principal por el que se obtienen nuevas células beta es la proliferación [4]. Sin embargo, en fases tempranas del desarrollo, la neogénesis puede ser un mecanismo importante [5]. A partir de un momento determinado del desarrollo, esta actividad de neogénesis cesaría y no se formarían nuevas células ni islotes por esta vía [4].

La neogénesis, proliferación y apoptosis de las células en los islotes determinan la distribución de tamaños de islotes de Langerhans a lo largo del desarrollo y la vida del organismo. Varios trabajos han calculado esta distribución en diferentes organismos [6-9], y dos

distribuciones matemáticas han sido las que mejor se han ajustado a las calculadas experimentalmente: la distribución log-normal [7, 9] y la distribución Weibull [7, 8].

El objetivo del presente trabajo es obtener un modelo general que relacione la formación de nuevos islotes y su crecimiento con la distribución de tamaños de islotes a lo largo de toda la vida del organismo. El conocimiento de la distribución de tamaños de islotes puede ser útil para su obtención para trasplantes [6]. Disponer de un modelo integral sobre el desarrollo y crecimiento de los islotes puede ser beneficioso para la comprensión de estos procesos y la posibilidad de integrarlo en modelos sobre la fisiología del páncreas endocrino y patologías relacionadas como la diabetes.

2. El modelo

El modelo creado se compone de un número determinado de islotes de Langerhans conteniendo un número de células. Este número de islotes considerado representará una porción del total de islotes del que se compondría el páncreas endocrino de un ratón, organismo en el que se basa el presente modelo. Tomaremos como simplificación el hecho de que todas las células de cada islote se comportan como si fueran células beta. El modelo representará el desarrollo y crecimiento de estos islotes simulando su aparición a partir de una primera célula diferenciada en célula del páncreas endocrino y posterior crecimiento en número de células a medida que transcurre el tiempo de simulación, emulando el desarrollo embrionario del animal y su posterior crecimiento después del nacimiento. El paso del tiempo en la simulación se realizará de manera discreta y este tiempo se dividirá en instantes de tiempo de ejecución. El intervalo de tiempo entre instantes se denota como ΔT .

El modelo se ha dividido en dos submodelos: un submodelo del desarrollo del páncreas endocrino prenatal, durante la fase embrionaria, y un submodelo de crecimiento del páncreas endocrino en la fase postnatal. Ambos submodelos están interconectados y los islotes que se obtengan como resultado del primero son un parámetro de entrada para el segundo.

2.1. Submodelo de desarrollo embrionario

El desarrollo de los islotes durante la fase embrionaria se modela considerando dos procesos fundamentales, el de neogénesis y el de proliferación.

El proceso de neogénesis se modela como la aparición sucesiva de nuevos islotes a partir de una célula diferenciada en célula del páncreas endocrino. Desde que un islote surge por este proceso, su célula inicial y las subsiguientes llevan a cabo el proceso de proliferación.

En la fase de neogénesis se forman todos los islotes de Langerhans y, llegada su finalización, estos islotes quedan establecidos para el resto de la fase embrionaria y para la fase de crecimiento postnatal. En el submodelo se establece un número de islotes objetivo. A medida que transcurre el tiempo de simulación se añaden islotes hasta alcanzar el número total de islotes. La tasa de creación de islotes es constante a lo largo del tiempo, lo que provoca un aumento lineal en el número de islotes. En el modelo se determina una duración para la fase de neogénesis y cuando ésta finaliza existe una fase posterior durante el desarrollo, previa al momento de nacimiento del animal en la simulación. La tasa de surgimiento de islotes toma el valor inverso de la duración de la fase de neogénesis multiplicado por el número total de islotes objetivo.

El proceso de proliferación se modela como la inclusión de una nueva célula en un islote a partir de otra existente, simulando la mitosis. La duración del intervalo entre mitosis tiene una distribución gaussiana.

2.2. Submodelo de crecimiento postnatal

El modelado del crecimiento postnatal de los islotes de Langerhans se asienta sobre los conceptos de capacidad de proliferación de las células de los islotes y ausencia de procesos de neogénesis [4]; también sobre el proceso de oleada de apoptosis [10] y la relación entre la masa total de células beta y la masa corporal del animal [1, 2].

En el submodelo se aplica un tiempo de vida a las células en los islotes de 50 días [1], llegado el cual, desaparecen simulando la apoptosis. El número total de células beta a mantener en cada instante de ejecución en el submodelo, B_{man} , se calcula a partir de las células beta iniciales al nacimiento, el crecimiento del peso corporal y el proceso de oleada de apoptosis.

El proceso de proliferación se modela como el surgimiento de un número de células necesario para alcanzar el valor B_{man} a partir de las preexistentes en los diferentes islotes. Las células que entran en proliferación se toman al azar en cada momento [11].

El proceso de oleada de apoptosis es un suceso que ocurre en la época de destete de los ratones (15 días de vida), en el que mueren el 60% de las células beta preexistentes, con un pico máximo de 9% diario [10]. La oleada se modela mediante una función gaussiana, que representa la proporción de células muertas por unidad de tiempo, W_a .

$$W_a = 0.09 \exp \left[- \left(\frac{t-15}{0.6/(0.09\sqrt{\pi})} \right)^2 \right], \quad W_t = \int_0^t W_a dt.$$

El número total de células beta a mantener es proporcional a la masa corporal a partir del primer mes de vida en ratones y ratas [1, 2]. Sin embargo, previamente no existe tal relación lineal y en nuestro submodelo lo relacionamos con el proceso de oleada de apoptosis, que podría ser el causante de esta distorsión. Por ello, modelamos el valor de B_{man} como:

$$B_{man} = B_{t0} \cdot (M_t/M_{t0}) \cdot (1 - W_t),$$

donde B_{t0} es la cantidad total de células beta inicial y M_t y M_{t0} son la masa del ratón en cada instante de tiempo y al inicio, respectivamente [12].

2.3. Validación del modelo

Para ambos submodelos, en cada instante de simulación se obtiene como resultado el tamaño de cada islote, en número de células. Este tamaño se transforma a la raíz cúbica del número de células, una medida proporcional al diámetro del islote y empleada en otros trabajos [7]. A partir de estos tamaños individuales se establece la distribución de tamaños del conjunto.

Para validar el modelo la distribución resultado se compara con las distribuciones log-normal y Weibull que han sido las que mejor se han ajustado a los datos experimentales [7-9]. Estas distribuciones tienen respectivamente las siguientes ecuaciones:

$$P(s) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \exp \left[- \frac{(\ln s - \mu)^2}{2\sigma^2} \right], \quad P(s) = \frac{\gamma}{\eta} \left(\frac{s}{\eta} \right)^{\gamma-1} \exp \left[- \left(\frac{s}{\eta} \right)^{\gamma} \right],$$

donde s es el tamaño de islote medido como la raíz cúbica del número de células, μ y σ son los parámetros de la función log-normal y γ y η los parámetros de la función Weibull (llamados parámetros de forma y escala respectivamente).

El ajuste de los parámetros se realiza mediante la técnica de ajuste Levenberg-Marquardt. Estas funciones ajustadas junto con los valores de tamaño medio de los islotes se emplean para comparar los resultados del modelo con resultados encontrados en experimentos de la literatura.

Para obtener los islotes del submodelo de desarrollo embrionario e introducirlos al submodelo de crecimiento postnatal se define como distribución objetivo la que tendría el organismo en el momento del nacimiento. Para fijar esta distribución objetivo se han escogido los ajustes Weibull, por ser éstos los que mejor emulan las características de la distribución de islotes desde el punto de vista del tamaño medio de islotes [7]. El parámetro de forma de las funciones Weibull ajustadas permanece con muy poca variación a lo largo de la vida del animal alrededor de 1.6 – 1.7 [7]. El tamaño medio de islotes al nacimiento se puede obtener a partir del tamaño del adulto, que es de alrededor de 1800 células beta [7] y de B_{man} , sería $1800 \cdot 0.05 / (1 - 0.6) = 225$ células, por haberse perdido el 60% de células en la oleada de apoptosis [10] y el peso al nacimiento ser 0.05 veces el peso en adulto [12]. La ecuación de cálculo del tamaño medio de islotes por la distribución de Weibull es $n = \eta^3 \cdot \Gamma(1 + 3/\gamma)$, con $\gamma = 1.64$ y $n = 225$ obtenemos un parámetro $\eta = 5$.

3. Resultados

3.1. Validación del submodelo de desarrollo embrionario

Tomamos el tiempo medio entre rondas de proliferación como $\mu=1$, con una $\sigma=0.25$ y una duración de la fase de neogénesis de 8.7 días. Se toman 2500 islotes objetivo. Se toma un tiempo de simulación de 12 días, registrando datos cada día y $\Delta T=0.5$ horas. Los resultados de parámetros de los ajustes Weibull y log-normal se muestran en la Figura 1.

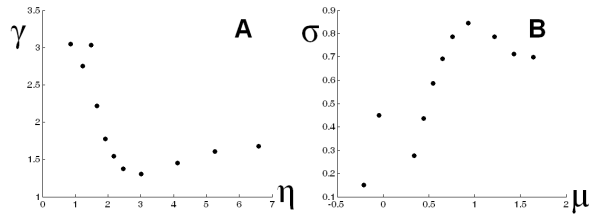


Figura 1. A) Evolución de parámetros de ajustes Weibull; B) Evolución de parámetros de ajustes log-normal.

El momento en que se obtiene la distribución objetivo: 225 células el islote medio y un ajuste Weibull con parámetros $\gamma=1.64$ y $\eta=5$ se consigue a los 10.73 días de simulación. En este momento obtenemos un tamaño medio de 226.5 células por islote, ajuste Weibull de $(\gamma, \eta) = (1.56, 4.9645)$ y ajuste log-normal $(\mu, \sigma) = (1.3746, 0.7339)$.

3.2. Validación del submodelo de crecimiento postnatal

La simulación se realizará para 150 días de vida del animal, con $\Delta T=6$ horas. Se toma como punto de partida la distribución de islotes obtenida en el apartado anterior. Los resultados presentados son: la evolución de los parámetros ajustados a lo largo de la simulación para Weibull y log-normal (Figura 2 A y B), las distribuciones ajustadas al nacimiento (Figura 2 C) y el tamaño medio de islotes (Figura 2 D).

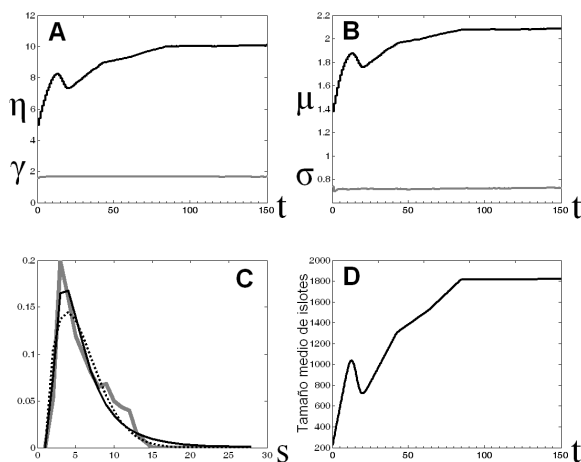


Figura 2. A) Parámetros de ajustes Weibull; B) Parámetros de ajustes log-normal; C) Distribución inicial (gris) y distribuciones ajustadas de Weibull (negro punteado) y log-normal (negro); D) Tamaño medio de islotes.

En la Tabla 1 se pueden observar los valores de las funciones ajustadas a las 6 semanas y 5 meses de vida del ratón, que son dos momentos que han sido estudiados experimentalmente [7].

Parámetro	6 semanas		5 meses	
	Modelo	[7]	Modelo	[7]
γ	1.6644	1.64	1.6525	1.70
η	8.8828	8.89	10.0787	10.15
μ	1.9526	1.89	2.0868	2.10
σ	0.7175	0.68	0.7248	0.64
T. Medio	1297	1260	1819	1800

Tabla 1. Comparativa de valores obtenidos con el modelo y los obtenidos por Jo et al. [7].

4. Discusión

4.1. Discusión sobre el submodelo de desarrollo embrionario

Para los ajustes a funciones Weibull, γ cambia principalmente durante la fase de neogénesis, permaneciendo prácticamente constante durante la fase posterior. η cambia mucho menos durante la fase de neogénesis que durante la fase posterior. En cuanto a los ajustes log-normal, para los parámetros μ y σ encontramos que la variación del primero es más acusada en la fase de no neogénesis mientras que la del segundo es más acusada durante la fase de neogénesis. Estos hechos apuntan a la fase de neogénesis como la que da la forma a la distribución. El crecimiento posterior mantiene la forma variando sólo el tamaño de los islotes.

Los parámetros de entrada: μ , σ (para el intervalo de tiempo entre mitosis), la duración de la fase de neogénesis y el punto de fin de desarrollo, son proporcionales. Por tanto, podemos encontrar las mismas distribuciones objetivo multiplicando cada uno por una constante de proporcionalidad T:

- μ : T ; σ : T/4
- fase de neogénesis: $8.7 \cdot T$
- fin de desarrollo $10.73 \cdot T$

Un valor de T adecuado podría deducirse de [13], en el que (en ratas), el aumento en número de células beta durante el embarazo, a 18 días, es del 90%. Por tanto T en este caso podría suponerse como $1/0.9 = 1.11$ días.

También se puede observar en estos resultados que el valor medio de islotes obtenido con la función Weibull (228.2) se acerca más al valor de la distribución real (226.5) que el valor de islote medio obtenido con la log-normal ajustada (697.5), sin embargo esta última se ajusta mejor (valor de χ^2 para log-normal de 0.0039 frente a valor de χ^2 para Weibull de 0.0073), hecho que también se encuentra en el experimento realizado en [7]. En la Figura 2 C se puede observar cómo las funciones log-normal se ajustan mejor para tamaños inferiores y las funciones Weibull se ajustan mejor para los tamaños mayores, hecho que también se pone de manifiesto en [7].

4.2. Discusión sobre el submodelo de crecimiento postnatal

Se puede observar cómo la dinámica de crecimiento (desde la edad inicial hasta adulto) cumple con los datos obtenidos en [7] (Tabla 1). También se puede apreciar que en el pico de la oleada de apoptosis se detecta un descenso en la cantidad de células beta. Este descenso también ha sido reportado en algunos experimentos alrededor de dicho momento [3]. El tamaño medio de islotes al nacimiento es 225 células y en adulto 1800. Los tamaños de islotes en estas edades se han calculado en diámetros de 80 μm y 150 μm respectivamente [14]. La raíz cúbica del número de células sería proporcional al diámetro. Si comparamos las relaciones de ambas medidas: $(1800/225)^{1/3} = 2$ y $150/80=1.875$, valores muy próximos, con lo cual los datos tomados al nacimiento como parámetros iniciales son consecuentes con los experimentos reales.

4.3. Discusión sobre el modelo general

Asumiendo la capacidad de proliferación independiente de las células beta [11], al finalizar la neogénesis encontramos que la distribución de islotes apenas cambia de forma (los parámetros γ y σ apenas cambian, casi todo el cambio lo recogen η y μ). Tampoco se aprecian diferencias en estos cambios si el crecimiento se produce de manera más o menos rápida. En el modelo se ha planteado el proceso de neogénesis como la creación puntual de un islote a partir de una única célula diferenciada. Por tanto, muy pocos sucesos de neogénesis darían lugar a toda la masa de células beta según el modelo. La contribución de la neogénesis a la masa de células beta sería muy reducida en total, pero sería determinante durante el desarrollo respecto a la forma de la distribución de tamaños de islotes que se obtienen.

Si se quisiera trasladar este modelo a otros organismos, como a humanos, habría que tener en cuenta que las distribuciones son diferentes, el valor de proporcionalidad T cambiaría, etc. Sin embargo se podría seguir empleando este modelo para predecir distribuciones de tamaños y dinámicas de desarrollo y crecimiento.

5. Conclusiones

Se ha propuesto un modelo de desarrollo y crecimiento de los islotes de Langerhans en el páncreas endocrino de un ratón que reproduce los datos experimentales relacionados con la masa de células beta encontrada en diferentes etapas de la vida del animal y la distribución de tamaños de los islotes. Se han tomado las premisas de que las células de los islotes sufren mitosis para aumentar la población y que la neogénesis de estas células no se produce después del nacimiento. La neogénesis se ha modelado como la creación de nuevos islotes a partir de una célula endocrina individual. Este modelo constituye una novedosa relación entre los procesos de desarrollo y crecimiento y la evolución de la distribución de islotes de Langerhans a lo largo del tiempo de vida del organismo.

Extrapolando estos resultados a diferentes organismos, se podría predecir la distribución de tamaños de sus islotes

de Langerhans a una determinada edad, y estos resultados podrían ser útiles para aplicaciones como la obtención de islotes para trasplantes. Además, este modelo puede ser de utilidad para comprender el desarrollo de las células beta y su evolución en los islotes de Langerhans y para el desarrollo de otros modelos sobre la fisiología del páncreas endocrino y situaciones patológicas como la diabetes.

Referencias

- [1] Bonner-Weir S. β -cell turnover: its assessment and implications. *Diabetes*, vol 50, sup 1, 2001, pp S20-4.
- [2] Montanya E, Nacher V, Biarnés M, Soler J. Linear correlation between β -cell mass and body weight throughout the lifespan in Lewis rats: role of β -cell hyperplasia and hypertrophy. *Diabetes*, vol 49, 2000, pp 1341-6.
- [3] Scaglia L, Cahill CJ, Finegood DT, Bonner-Weir S. Apoptosis participates in the remodeling of the endocrine pancreas in the neonatal rat. *Endocrinology*, vol 138, 1997, pp 1736-41.
- [4] Dor Y, Brown J, Martinez OI, Melton DA. Adult pancreatic β -cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature*, vol 6;429(6987), 2004, pp 41-6.
- [5] Suarez-Pinzon WL, Lakey JR, Brand SJ, Rabinovitch A. Combination therapy with epidermal growth factor and gastrin induces neogenesis of human islet β -cells from pancreatic duct cells and an increase in functional β -cell mass. *J Clin Endocrinol Metab*, vol 90, 2005, pp 3401-9.
- [6] Jay TR, Heald KA, Carless NJ, Topham DE, Downing R. The distribution of porcine pancreatic beta-cells at ages 5, 12 and 24 weeks. *Xenotransplantation*, vol 6, 1999, pp 131-40.
- [7] Jo J, Choi MY, Koh DS. Size distribution of mouse Langerhans islets. *Biophys J*, vol 93, 2007, pp 2655-66.
- [8] Kaihoh T, Masuda T, Sasano N, Takahashi T. The size and number of Langerhans islets correlated with their endocrine function: a morphometry on immunostained serial sections of adult human pancreases. *Tohoku J Exp Med*, vol 149, 1986, pp 1-10.
- [9] Lifson N, Lassa CV, Dixit PK. Relation between blood flow and morphology in islet organ of rat pancreas. *Am J Physiol*, vol 249, 1985, E43-8.
- [10] Trudeau JD, Dutz JP, Arany E, Hill DJ, Fieldus WE, Finegood DT. Neonatal β -cell apoptosis: a trigger for autoimmune diabetes? *Diabetes*, vol 49, 2000, pp 1-7.
- [11] Teta M, Long SY, Wartschow LM, Rankin MM, Kushner JA. Very slow turnover of beta-cells in aged adult mice. *Diabetes*, vol 54, 2005, pp 2557-67.
- [12] Página web de The Jackson Laboratory - Mouse Phenome Database. www.jax.org/phenome (Consultada: Mayo 2010)
- [13] Kaung HL. Growth dynamics of pancreatic islet cell populations during fetal and neonatal development of the rat. *Dev Dyn*, vol 200, 1994, pp 163-75.
- [14] Dheen ST, Rajkumar K, Murphy LJ. Islet cell proliferation and apoptosis in insulin-like growth factor binding protein-1 in transgenic mice. *J Endocrinol*, vol 155, 1997, pp 551-8.