



Universidad Nacional Autónoma de México
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE FÍSICA

Redes complejas en el estudio de la diabetes tipo 2 y otras
enfermedades de origen inflamatorio crónico

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA
MARÍA BARRERA ESPARZA

Director de Tesis:

Dr. Carlos Villarreal Luján
Instituto de Física

Comité tutor:

Dra. Marcia Hiriart Urdanivia
Instituto de Fisiología Celular
Dr. Germinal Cocho Gil
Instituto de Física

Ciudad de México, Junio

2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RESUMEN

El desarrollo de la diabetes tipo 2 está relacionado con el agotamiento de las células beta y su capacidad productora de insulina, este estado es caracterizado por hiperglucemia y daños a los vasos sanguíneos, que pueden afectar al sistema nervioso, renal, visual y al corazón. Usualmente, el síndrome metabólico precede a la diabetes tipo 2 y existen alteraciones metabólicas relacionadas con la señalización de insulina, la inflamación o el procesamiento de la glucosa intracelular que acompañan el tránsito hacia esta enfermedad. Con el propósito de generar un marco conceptual que permita identificar los factores principales en las transiciones entre estados de salud y enfermedad, en esta tesis se proponen dos redes reguladoras, una exclusiva de células beta y otra que incluye a componentes de células beta y hepatocitos que juegan un papel esencial en la enfermedad. Algunos de los procesos de señalización intracelular que contienen estas redes son la señalización de la insulina, de la glucosa, de la respuesta inflamatoria y de la respuesta al mal plegamiento de proteínas en el retículo endoplásmico. Para conectar ambas redes identificamos algunos factores compartidos entre células beta y hepatocitos, como la glucólisis y producción de ATP, la respuesta inflamatoria y el estrés del retículo endoplásmico.

Las interacciones de las redes son expresadas como proposiciones lógicas continuas en el marco de la lógica difusa (fuzzy logic). La modelación de la dinámica de las redes permite retratar la progresión de la enfermedad como el tránsito entre estados estacionarios asociados a salud, síndrome metabólico y diabetes, cada uno caracterizado por patrones de expresión específicos de los componentes de cada red. Las transiciones entre los estados de equilibrio, semejantes a transiciones de fase en sistemas termodinámicos, se asocian en este esquema a expresiones alteradas relacionadas a modificaciones de los tiempos característicos de expresión, o equivalentemente a las tasas de decaimiento características de componentes celulares. Este método nos permite identificar los módulos funcionales que pueden promover la transición entre salud y diabetes tipo 2. Entre los resultados obtenidos, se observa que la sub expresión de la proteína XBP1 conduce a un incremento en el estado inflamatorio y a la transición de salud a diabetes tipo 2, y que la inhibición de la proteína TXNIP mejora la condición de salud en la enfermedad. La integración del presente análisis con modelos matemáticos existentes diseñados para describir datos experimentales precisos en ensayos de animales, permite realizar predicciones confiables de la masa de células beta, insulinemia, glucemia y hemoglobina glucosilada en ratas diabéticas.

ABSTRACT

Type 2 diabetes develops due to beta cell exhaustion with concomitant decrease in insulin secretion, leading to hyperglycemia and eventual damage of nerve, kidney, hearth and eye tissues caused by blood vessels injury. It is usually preceded by metabolic alterations related to insulin signaling, inflammatory pathways, or intracellular glucose processing, encompassed as metabolic syndrome. In this framework, the aim of the present work is to identify key factors in the transitions between states associated with health and disease. Therefore, two regulatory networks of beta-pancreatic and hepatocytes cells were proposed, whose components play a fundamental role in the disease. Some of the intracellular signaling processes that these networks contain are the signaling pathways of insulin, glucose, the inflammatory response, and unfolded protein response. To connect both networks, we identified some shared factors between beta cells and hepatocytes, such as glycolysis and ATP production, the inflammatory response, and endoplasmic reticulum stress.

The networks interactions are expressed as continuous logic propositions in the framework of fuzzy logic. The dynamical modeling of the networks allows to portray the disease progression as a transit between steady states associated to health, metabolic syndrome, and diabetes, each state characterized by specific expression patterns of the networks components. Transitions between equilibrium states, similar to equilibrium phase transitions in thermodynamics, are associated in this approach with altered expression or exhaustion related to modifications of characteristic decay rates of cellular components. This approach let us identify functional modules that may eventually drive the transit from health to diabetes. Our results suggest that the under-expression of the XBP1 protein leads to an increase in the inflammatory state and the transition from health to type 2 diabetes and that the inhibition of the TXNIP protein improves the health condition in type 2 diabetes. Integration of the present analysis with existent mathematical models designed to yield accurate account of experimental data in animal essays leads to reliable predictions for beta-cell mass, insulinemia, glycemia, and glycosylated hemoglobin in diabetic fatty rats.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme aceptado como estudiante para desarrollar este proyecto de investigación y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca que me otorgó.

En especial, agradezco a mi Tutor principal y Director de tesis, el Dr. Carlos Villarreal Luján, a su paciencia, sus enseñanzas y su motivación para realizar y culminar este proyecto. A los miembros de mi Comité Tutorial: la Dra. Marcia Hiriart Urdanivia y el Dr. Germinal Cocho Gil (D.E.P.), quienes siempre serán un gran ejemplo para mí.

Agradezco a los sinodales del Jurado de mi examen de grado, el Dr. Gustavo Martínez Mekler, el Dr. Carlos Villarreal Luján, la Dra. Andrea Saachi Diaz Villaseñor, la Dra. Leonor Huerta Hernández y el Dr. Alberto Lifshitz Guinzberg por el tiempo que otorgaron a la revisión de esta tesis y sus acertadas observaciones y preguntas que aumentaron la calidad del proyecto.

Índice

1. Introducción	7
2. Objetivos	10
2.1. Objetivo general	10
2.2. Objetivos particulares	10
3. Hipótesis	10
4. Métodos	11
4.1. Construcción de las redes	11
4.1.1. Glucosa intracelular y señalización de la insulina	11
4.1.2. Secreción de insulina	14
4.1.3. Estrés del retículo endoplásmico	15
4.1.4. Glucólisis y producción de ATP	17
4.1.5. Inflamación	18
4.1.6. Síntesis de triglicéridos	20
4.2. Métodos matemáticos	24
4.2.1. Método Booleano	26
4.2.2. Método continuo	27
4.3. Conexión con datos clínicos	29
5. Resultados	31
5.1. Análisis Booleano	31
5.2. Análisis Continuo	37
5.2.1. Red de células beta: de salud a síndrome metabólico y diabetes tipo 2	40
5.2.2. Red de células beta: transición a un estado mejorado de salud	42
5.2.3. Red de células beta: predicción de datos experimentales	43
5.2.4. Red conjunta de células beta y hepatocitos (figura 5): de salud a síndrome metabólico y diabetes tipo 2	45
5.2.5. Red conjunta de células beta y hepatocitos (figura 5): de síndrome metabólico a diabetes tipo 2	47

5.2.6. Red conjunta de células beta y hepatocitos (figura 5): transición a un estado mejorado de salud	47
6. Discusión	50
7. Conclusiones	52
Referencias	53
Apéndices	66
A. Artículo publicado	66
B. Proposiciones lógicas, código en Fortran, atractores y código en Wolfram mathematica	67
B.1. Proposiciones lógicas	67
B.1.1. Proposiciones lógicas de la red de células beta pancreáticas	67
B.1.2. Proposiciones lógicas de la red de células beta y hepatocitos	69
B.2. Código en Fortran	71
B.3. Atractores	78
B.4. Código en Wolfram mathematica	82
B.4.1. Proposiciones lógicas de Fuzzy	82
B.4.2. Definiciones de las tasas de decaimiento y parámetros de saturación de las proposiciones lógicas de fuzzy	85
B.4.3. Condiciones iniciales de la red	86
B.4.4. Solución de ecuaciones diferenciales ordinarias	88

1. Introducción

La diabetes tipo 2 (DT2) es un problema de salud público mundial [1] asociado a daños en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas. La DT2 es caracterizada por una disminución constante de secreción de insulina de las células beta pancreáticas, resultando en niveles de glucosa elevados. Las células beta pueden llegar a un estado de agotamiento después de una secreción de insulina excesiva. Como consecuencia, algunas células pancreáticas secretan menos hormonas, mientras otras pueden sufrir de muerte celular, resultando en disminución de producción de insulina. La DT2 es usualmente precedida por el síndrome metabólico (SM), constituido por un grupo de síntomas como obesidad central, dislipidemia, intolerancia a la glucosa, hipertensión y resistencia a la insulina, que incrementan el riesgo de desarrollar DT2 y enfermedades cardiovasculares [2, 3, 4].

Durante el desarrollo del SM y la DT2 puede existir un defecto en la habilidad de la insulina para disminuir los niveles de glucosa en sangre. Este proceso se conoce como resistencia a la insulina. En algunos órganos como los musculares y los adipocitos pueden ocurrir deficiencias en la correcta señalización de la insulina, incrementando la hiperinsulinemia y los niveles de glucosa. Este defecto se ha relacionado con una incorrecta translocación de los transportadores de glucosa GLUT4 hacia la membrana en células musculares y adipocitos, impidiendo la entrada de glucosa a la célula, afectando el metabolismo celular y la homeostasis en los niveles de glucosa en sangre en DT2 [5, 6]. Al existir resistencia a la insulina, el hígado sigue sintetizando glucosa. En la DT2 existe una sobreproducción de glucosa hepática y no es correctamente metabolizada por otros órganos.

A pesar de que durante la DT2 puede existir resistencia a la insulina en distintos órganos como los adipocitos y los músculos, decidimos centrar nuestro estudio en hepatocitos y células beta pancreáticas por su importancia en el desarrollo de la enfermedad. La reducción en la producción de insulina en las células beta da lugar a la progresión hacia la DT2, lo que hace

posible caracterizar la evolución de la enfermedad como una sucesión de transiciones entre estados de salud, de SM y la DT2 . Por otro lado, en los hepatocitos se lleva a cabo la producción de glucosa, la síntesis de glucógeno y la glucogenólisis.

Los componentes de la respuesta inmune también se alteran durante la obesidad y la DT2. Existe un aumento en los niveles de citocinas pro-inflamatorias, como la interleucina 1 beta ($IL1\beta$), la interleucina 6 (IL6) y el factor de necrosis tumoral alfa ($TNF\alpha$), originando cambios en el número y el estado de activación de diferentes poblaciones de leucocitos y aumentando la apoptosis y fibrosis [7, 8, 9]. Algunos estudios sugieren una asociación entre componentes genéticos relacionados con el SM y componentes moleculares y fisiológicos involucrados con el desarrollo de la DT2 [3, 10].

Un mecanismo central involucrado en el desarrollo de la enfermedad es el estrés del retículo endoplásmico (RE) [11]. El RE es un componente celular que tiene un papel importante en la biosíntesis de insulina, la mayor parte de las proteínas que una célula secreta pasan por este componente, en donde se lleva a cabo un plegamiento de las mismas. El flujo de proteínas a través del RE es monitoreado cuidadosamente para prevenir desregulación de la homeostasis celular. Si existe una falla en la capacidad de plegamiento, se produce una cascada de señalización llamada respuesta a proteínas mal plegadas para restaurar la homeostásis. Una actividad prolongada de esta respuesta se relaciona con muerte celular programada (apoptosis), resultando en una reducción de insulina y progreso de la DT2 [11, 12, 13, 14].

Con el fin de dilucidar los mecanismos comprendidos en la homeostasis celular y sus alteraciones que promueven el tránsito del estado de salud, al SM y eventualmente a la de DT2 manifiesta, en la presente tesis se proponen redes de regulación complejas que incorporan evidencia experimental reciente de interacciones celulares y moleculares involucradas en la regulación de las células beta y los hepatocitos (figuras 4 y 5). Las redes están formadas por nodos conectados que representan interacciones mutuas, donde cada nodo representa un gen, un factor de

transcripción, una citocina, etc. En un primer enfoque, estas relaciones se describen en términos de proposiciones lógicas Booleanas con valores de verdad 0 (falso o inhibido), o 1 (verdadero o expresado). Estos modelos proporcionan información importante acerca de la estructura básica de la red y pueden ser usados en el estudio de circuitos reguladores biológicos sin necesidad de tener valores explícitos de los parámetros de la red.

Para la descripción de las transiciones graduales observadas a largo plazo en la evolución de la enfermedad, una aproximación Booleana es insuficiente y se debe contemplar un formalismo menos restrictivo. Esto se supera en este trabajo introduciendo redes de interacción con reglas basadas en una lógica continua, denominada lógica difusa. En esta metodología, los niveles de expresión, concentraciones y parámetros de un sistema pueden adquirir cualquier valor en un rango continuo en el intervalo $[0,1]$. La evolución dinámica del sistema se describe entonces mediante un sistema de ecuaciones diferenciales acopladas que predicen los cambios a lo largo del tiempo de los factores contemplados en las redes, los cuales son modulados tanto por sus niveles o concentraciones relativas, como por alteraciones de tiempos característicos de expresión, producidos estos últimos por cambios en sus tasas de decaimiento. En estos términos, las transiciones entre el estado de salud y diversos estados de la enfermedad pueden visualizarse como una especie de transición de fase similar a las que ocurren en los sistemas termodinámicos. El análisis permite aislar los factores centrales involucrados en dichas transiciones y eventualmente proponer mecanismos para prevenir o revertir los eventos involucrados en la progresión a largo plazo de la DT2.

Se construyeron dos redes reguladoras que integran relaciones entre componentes esenciales de células beta pancreáticas y células de hepatocitos, los cuales tienen un papel primordial durante el tránsito entre la salud, el SM y la DT2. Estas redes incorporan evidencia experimental de interacciones celulares y moleculares involucradas en la regulación de células beta y hepatocitos. En la sección de métodos se muestran de manera breve elementos básicos resultantes de la literatura científica, que conducen a la construcción de dichas redes.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Modelar la progresión de la diabetes tipo 2 (DT2) en términos de redes reguladoras de interacciones de células beta del páncreas y hepatocitos. Este enfoque permite describir a la enfermedad como una evolución gradual entre el estado de salud, el síndrome metabólico (SM) y la DT2, ya sea mediante el empleo de una dinámica Booleana o su generalización a una dinámica continua.

2.2. Objetivos particulares

- Inducir transiciones graduales entre estados asociados a salud, a SM y a DT2 al modificar los parámetros de decaimiento α_k .
- Estudiar las alteraciones en la dinámica celular y sus estados de equilibrio derivados de modificaciones del microambiente celular, representado por niveles variables de factores exógenos tales como insulina extracelular, factores pro-inflamatorios, glucosa extracelular, incretinas y neuropéptidos.
- Identificar los elementos centrales de la redes reguladoras que definen las transiciones entre el estado de salud, el SM y la DT2.

3. Hipótesis

Existen mecanismos de plasticidad de procesos metabólicos debido a alteraciones exógenas y endógenas del ambiente de las células beta pancreáticas y hepatocitos. Estas alteraciones pueden deberse a modificaciones en las tasas de decaimiento de expresión α_k y a las condiciones iniciales de las redes propuestas, conduciendo a estados de equilibrio alternativos. Además, existen nodos

que juegan un papel principal por su susceptibilidad para modificar los estados de equilibrio de la red asociados a salud, el síndrome metabólico (SM) y la diabetes tipo 2 (DT2).

4. Métodos

4.1. Construcción de las redes

Construimos redes con componentes de células beta y hepatocitos involucrados en la homeostasis, manifestaciones tempranas y progresión de la diabetes tipo 2 (DT2). Los módulos de la red de células beta (figura 4) son: secreción de insulina, estrés del retículo endoplásmico (RE), producción de adenosín trifosfato (ATP) en la glucólisis, rutas inflamatorias y procesamiento de la glucosa intracelular. Posteriormente ampliamos el análisis al conjuntar esta red con una de hepatocitos, a la que llamaremos red conjunta de células beta y hepatocitos (figura 5). A esta última red añadimos los módulos de síntesis de triglicérido y síntesis e inhibición de glucogénesis. La construcción de las redes se basó en una búsqueda literaria mostrada en la tabla 1.

4.1.1. Glucosa intracelular y señalización de la insulina

En las células beta pancreáticas, la secreción de insulina estimulada por glucosa ocurre a partir de concentraciones de glucosa elevadas y el transportador de glucosa 2 (GLUT2) participa en este proceso, permitiendo un equilibrio entre glucosa extracelular e intracelular [15, 16]. En distintos modelos animales de diabetes, ha sido estudiado que si la expresión de GLUT2 es fuertemente reducida, la secreción de insulina estimulada por glucosa se reduce [17].

Además de la glucosa extracelular, la insulina periférica puede estimular la secreción de insulina en células beta. La señalización del receptor de insulina incluye la activación de la fosfatidilinositol-3 cinasa (PI3K) y de la proteína cinasa B (PKB), también conocida como Akt. La fosforilación de Akt ha sido relacionada con un aumento en la masa celular y secreción

de la insulina en las células beta, mientras que un nivel bajo de activación se ha asociado con una reducción en la masa y un deterioro en la función de las células beta [18]. La fosforilación de Akt en modelos de células beta pancreáticas de ratones ha sido asociada a mejorar la tolerancia a la glucosa y resistencia a diabetes, siendo Akt un factor central en el tamaño y función de las células beta pancreáticas [19, 20]. En hepatocitos la señalización de Akt inhibe la síntesis de glucosa hepática, como se observa en la figura 1 [21, 22].

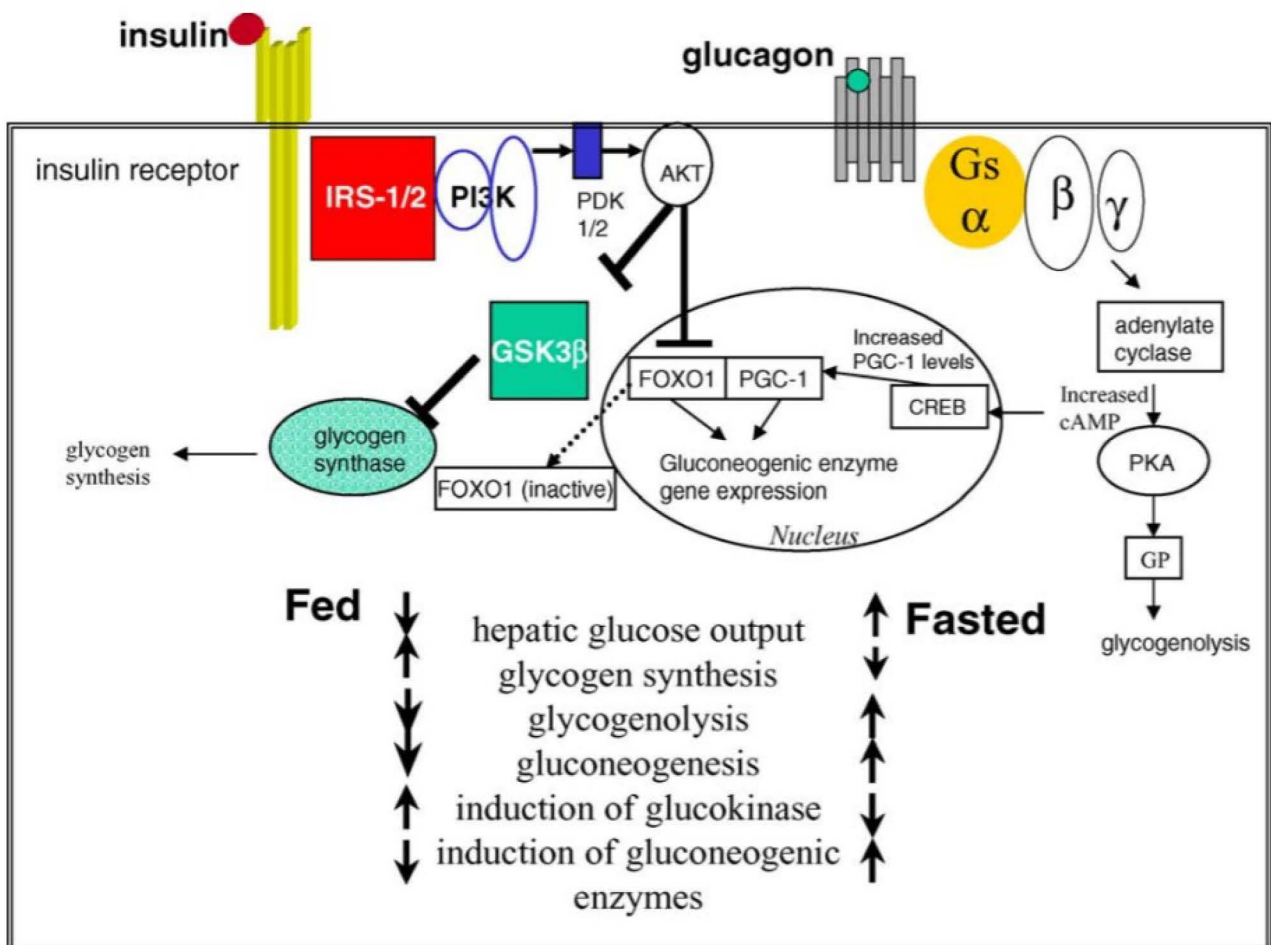


Figura 1. Resumen de rutas metabólicas de la glucosa en hepatocitos. En un estado postprandial se inhibe la producción y salida de glucosa hepática y se promueve la síntesis de glucógeno. En un estado de ayuno, el glucagón promueve la producción y salida de glucosa, se inhibe la síntesis de glucógeno y se estimula la gluconeogénesis. Imagen tomada de [22].

Nodo	Definición	Evidencia experimental
HDL	Lipoproteínas de alta densidad	[23, 24, 25]
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad	[26, 24, 25]
triglicéridos	triglicéridos	[15, 27, 26, 28, 24]
ácidos grasos	ácidos grasos	[15, 27, 28, 29, 30]
acetilCoA	acetil coenzima A	[27, 25]
SREBP1c	proteínas que se unen a los elementos regulatorios de esteroides 1c	[31, 26, 32, 33, 25]
PKC	proteína cinasa C	[31, 26, 32, 33, 25]
insulina	insulina	[34, 24]
neuropéptidos parasimpáticos	neuropéptidos parasimpáticos	[35, 36, 37]
GLP-1	péptido similar al glucagon tipo 1	[2, 38, 39, 40, 5]
GIP	péptido insulínico dependiente de la glucosa	[2, 38, 39, 40, 5]
ghrelina	ghrelina	[41, 42]
neuropéptidos simpáticos	neuropéptidos simpáticos	[35, 36, 37]
secreción de insulina	secreción de insulina	[2, 34, 42, 35, 36] [37, 41, 38, 39, 40]
glucosa extracelular	glucosa extracelular	[16, 15, 17, 27]
GLUT2	transportador de glucosa tipo 2	[16, 15, 17]
glucosa intracelular	glucosa intracelular	[16, 15, 17, 27]
glucogénesis	glucogénesis	[15]
glucagon	glucagon	[15]
CREB	proteína de unión de los elementos de respuesta al monofosfato de adenosina cíclico	[15]
Akt	proteína cinasa B	[19, 20, 18, 21]
piruvato	piruvato	[27, 5, 43, 44]
ciclo del ácido cítrico	ciclo del ácido cítrico	[27, 5, 43, 44]
ATP	adenosín trifosfato	[27, 5, 43, 44]
adiponectina	adiponectina	[28, 21, 23]
canales de potasio sensibles a ATP	canales de potasio sensibles a ATP	[45, 2, 46]
canales de calcio	canales de calcio	[45, 2, 46]
ejercicio	ejercicio	[28, 21, 47]
AMPK	proteína cinasa activada por adenosín monofosfato	[27, 5, 43, 44, 28, 21]
IL1 β /IL6/TNF α	interleucina 1 beta/ interleucina 6/factor de necrosis tumoral	[8, 48, 49, 5] [21, 28, 15]
gluconeogénesis	gluconeogénesis	[5]
SOCS3	proteína supresora de la señalización por citocinas-3	[5]
STAT3	transductor de señal y activador de la transcripción 3	[5]
TLR 2/4	receptor tipo toll 2 o 4	[50, 49, 51, 52, 53]
lipopolisacáridos	lipopolisacáridos	[50, 49, 51, 52, 53]
FOXO1	proteína "forkhead box" O1	[54, 55, 20, 28]
NF κ B	factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas	[56, 48]
TXNIP	proteína de interacción con tioredoxina	[57, 58, 59]
respuesta a proteínas mal plegadas	respuesta a proteínas mal plegadas	[60, 61, 62, 26]
XBP1	proteína 1 de unión a X-box	[60, 61, 62, 26]
IRE1 α	enzima dependiente de inositol tipo 1 alfa	[60, 61, 62, 26]
síntesis de proinsulina	síntesis de proinsulina	[60, 61, 62, 26]
PERK	cinasa del retículo endoplásmico semejante a la proteína cinasa R	[60, 61, 62, 26]
eIF2 α	factor 2 alfa de iniciación eucariótica	[60, 61, 62, 26]
ATF4	isoforma 4 del factor activador de la transcripción	[60, 61, 62, 26]
ATF6	isoforma 6 del factor activador de la transcripción	[60, 61, 62, 63, 26]
pIRE1 α	hiperfosforilación de IRE1 α	[60, 61, 62, 26]
XBP1s	proteína 1 de unión a X-box empalmado	[60, 61, 62, 63, 26]
proteínas chaperonas	proteínas chaperonas	[60, 61, 62, 26]
expansión del retículo endoplásmico	expansión del retículo endoplásmico	[60, 61, 62, 26]
JNK	proteína cinasa N-terminal de c-Jun	[60, 61, 62, 26]
apoptosis	apoptosis	[60, 61, 62, 26]

Tabla 1. Evidencia experimental de cada nodo y su función en la red.

4.1.2. Secreción de insulina

Muchos factores regulan la secreción de insulina en las células beta, principalmente los nutrientes como la glucosa (figura 2, tomada de [64]). Otros factores son algunos aminoácidos, ácidos grasos libres, hormonas y neurotransmisores. Por ejemplo, algunos potenciadores son las incretinas, el péptido similar al glucagon tipo 1 (GLP-1) y el péptido inhibidor gástrico (GIP). Estos son producidos en el intestino e incrementan la secreción de insulina [2]. Modelos *in vitro* y clínicos han mostrado que GLP-1 y GIP promueven la proliferación celular pancreática y la secreción de insulina inducida por nutrientes [38, 39].

La hormona ghrelina es producida durante el ayuno por el estómago e inhibe la secreción de insulina, probablemente por la apertura de canales de potasio sensibles a ATP e inhibe la activación de canales de calcio. Estudios de administración de ghrelina a humanos sanos han mostrado empeorar la respuesta de las células beta a la ingesta de glucosa, la ghrelina reduce la sensibilidad a la insulina, empeora la función de las células beta pancreáticas e induce intolerancia a la glucosa [7, 41].

Los neuropéptidos son moléculas liberadas involucradas en la comunicación neuronal, algunas de ellas regulan la secreción de insulina y protegen al cerebro de posibles daños debidos a hipoglucemia; los neuropéptidos parasimpáticos, como el polipéptido intestinal vasoactivo (VIP), estimulan la secreción de insulina, mientras que los neuropéptidos simpáticos inhiben su secreción [37, 35, 36].

Han sido reportados modelos de ratones en los que la insulina secretada también estimula el proceso inmediato de exocitosis de insulina, una explicación posible es debida al incremento (dependiente de insulina) de calcio libre citosólico [34].

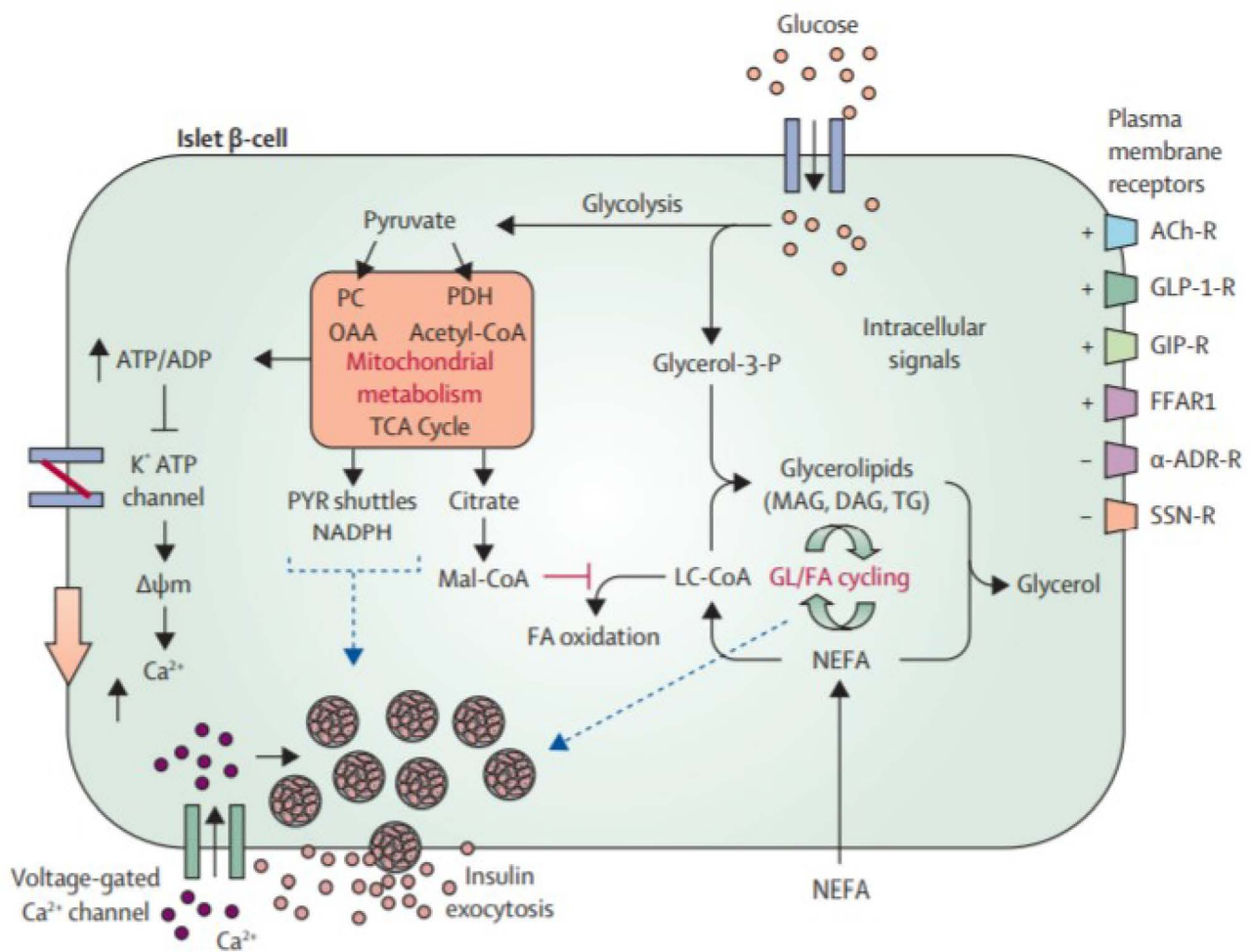


Figura 2. Secreción de insulina en células beta. La glucosa es metabolizada vía glucólisis y entra en el ciclo del ácido cítrico, se cierran los canales de potasio sensibles a ATP y se abren los de calcio, provocando secreción de insulina. La glucosa también puede participar en el metabolismo de ácidos grasos y aumentar la secreción de insulina estimulada por glucosa. Imagen tomada de [64].

4.1.3. Estrés del retículo endoplásmico

Cuando la capacidad de acoplamiento del retículo endoplásmico (RE) es excedido, las proteínas no acopladas se acumulan en el mismo, desarrollándose el estrés del RE. El RE regula la capacidad de producción proteica y previene la acumulación de proteínas mal plegadas, preservando su homeostasis. Las rutas de señalización que describen lo anterior se conocen como la respuesta a proteínas mal plegadas. Esta respuesta es mediada por 3 receptores transmembranales, la enzima dependiente de inositol tipo 1 alfa ($IRE1\alpha$), la isoforma 6 del factor activador de la transcripción (ATF 6) y la cinasa del RE semejante a la proteína cinasa R (PERK)

[60, 61]. La respuesta a proteínas mal plegadas se activa durante la progresión de la diabetes tipo 2 (DT2), en donde las células beta pancreáticas producen más insulina en respuesta a los elevados niveles de glucosa y a la resistencia a la insulina.

Después de una prolongada síntesis de insulina en las células beta pancreáticas como respuesta a niveles elevados de glucosa, se puede inducir la respuesta a proteínas mal plegadas bajo la vía de la IRE1 α , en donde se promueve la síntesis de proinsulina después de la entrada de glucosa a la célula y se atenúa la traducción del factor 2 α de iniciación eucariótica (eIF2 α). IRE1 α activa a la proteína 1 de unión X-box (XBP1) mediante splicing (XBP1s) para mejorar la capacidad de acoplamiento de proteínas y la expansión del RE, o por el contrario, XBP1s puede activar la apoptosis cuando el mecanismo del RE falla. La exposición crónica a altos niveles de glucosa y de estrés del RE resulta en hiperfosforilación de IRE1 α (denotada en la figura 4 como pIRE1 α), lo que conduce a la activación de la proteína cinasa N-terminal de c-Jun (JNK) y el proceso de apoptosis [61].

La expresión de la isoforma 6 del factor activador de la transcripción (ATF6) y XBP1s conducen a la expansión del RE. Experimentos con ratones con delección de ATF6 alimentados con una dieta alta en grasa han mostrado hipoglucemia severa, sugiriendo que la sensibilidad a la insulina se incrementa cuando hay supresión de ATF6 [63].

La proteína PERK puede inhibir el incremento de la demanda de acoplamiento de proteínas con la fosforilación de eIF2 α , el cual también puede activar la isoforma 4 del factor activador de la transcripción (ATF4) para regular los genes blanco de la respuesta a proteínas mal plegadas [27, 61]. En mamíferos, la ruta PERK-eIF2 α -ATF4 puede activar la apoptosis debido al estrés del RE [62, 60].

Se ha visto que la respuesta a proteínas mal plegadas en hepatocitos es activada cuando hay enfermedades como hígado graso o alteraciones en el metabolismo de lípidos, promoviendo

la lipogénesis hepática incrementando la activación de proteínas que se unen a los elementos regulatorios de esteroides 1c (SREBP-1c) [26].

Posterior a la activación de las vías de señalización anteriormente mencionadas que incluyen a IRE1 α , ATF6 y PERK se puede atenuar la carga de trabajo del RE y aumentar su capacidad. En la figura 4 se observa como la expansión del RE puede posteriormente inhibir a XBP1 y a su vez XBP1 puede inhibir la respuesta a las proteínas mal plegadas. Incluimos estas inhibiciones para que la red pueda modular el balance que ocurre entre la homeostasis y el estrés RE aumentado. De lo contrario, el estrés del RE aumentaría de manera interminable en todas nuestras simulaciones del modelo.

4.1.4. Glucólisis y producción de ATP

Cuando la glucosa extracelular aumenta, entra a las células beta y hepatocitos respectivamente, a través del transportador de glucosa tipo 2 (GLUT2). La glucosa comienza un ciclo de glucólisis, cuyo metabolismo incluye oxidación mitocondrial, el cual genera e incrementa la razón adenosín trifosfato (ATP)/adenosín difosfato (ADP). Este cambio en la relación ATP/ADP cierra los canales de potasio sensibles a ATP y la membrana celular se despolariza, activando el influjo de calcio, resultado en exocitosis de insulina en las células beta. Este es el proceso de secreción de insulina estimulada por glucosa [65]. Un modelo de síndrome metabólico (SM) en ratas Wistar macho adulto con una dieta alta en sucrosa después de 24 semanas de tratamiento mostró obesidad central, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina y una sensibilidad incrementada al ATP en los canales de potasio sensibles a ATP, sugiriendo que este cambio puede explicar el incremento en la secreción de insulina [27, 5, 43, 44]. En hepatocitos la glucosa puede ser almacenada en forma de glucógeno, degradada a través de la ruta glucolítica o entrar a la vía de lipogénesis convirtiéndose en ácidos grasos [15].

La proteína cinasa activada por adenosín monofosfato (AMPK) funciona como un sensor

energético, es activada por estímulos fisiológicos como el ejercicio, algunas hormonas como la adiponectina y la privación de glucosa. En hepatocitos, se ha visto que AMPK inhibe la gluconeogénesis y lipogénesis [28, 21].

4.1.5. Inflamación

La liberación de factores inflamatorios sucede principalmente en el tejido adiposo cuando hay hipertrofia y puede presentarse por altos niveles de glucosa y ácidos grasos libres, algunos de estos factores son la interleucina 1β (IL 1β), la interleucina 6 (IL6), y el factor de necrosis tumoral (TNF α). Estas moléculas producen inflamación, deficiencias en la secreción de insulina y apoptosis en células beta pancreáticas [8]. En modelos de ratón obeso, la falla en la función de TNF α ha resultado en una mejora de la sensibilidad a la insulina y homeostasis de la glucosa. Las citocinas pro-inflamatorias pueden activar cinasas que participan en la fosforilación serina del receptor de la insulina, modificando la acción de la insulina y activando, por ejemplo, el factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF κ B) tanto en células beta como en hepatocitos [48]. Se ha visto que los efectos antiinflamatorios de las tiazolidinedionas (TZDs) actúan en los adipocitos, inhiben a NF κ B y mejoran la señalización de la insulina [56].

Los receptores tipo toll 2 y 4 (TLR 2/4) son receptores de superficie que activan la respuesta inmune innata y reconocen una amplia variedad de antígenos como los lipopolisacáridos de bacterias. Sin embargo, ellos pueden también ser activados por exceso de ácidos grasos libres, induciendo modificaciones en la señalización de la insulina, conduciendo a un estado de inflamación [51, 52, 53]. La línea celular pancreática MIN6 ha mostrado un incremento en TLR 4 en respuesta a lipopolisacáridos y un decremento en la síntesis y secreción de insulina [50, 49].

La proteína de interacción con tiorredoxina (TXNIP) juega un papel importante en el desarrollo de la diabetes tipo 2 (DT2), incrementa la expresión de IL 1β , activa las especies reactivas

de oxígeno y citocinas pro-inflamatorias, así como la inducción del estrés del retículo endoplásmico (RE) y apoptosis de células beta [57, 58, 59].

En líneas celulares de insulinoma de rata INS-1 se ha exhibido que PI3K activa la proteína cinasa B (Akt) por fosforilación y Akt inhibe la activación transcripcional de la proteína forkhead box O1 (FOXO1). Por otro lado, la activación excesiva de FOXO1 provoca apoptosis irreversible en células beta [54, 20, 55].

Algunas proteínas, como la proteína supresora de la señalización por citocinas-3 (SOCS3) inhiben la función del receptor de insulina en hepatocitos (figura 3, tomada de [22]) y se han encontrado de manera sobre expresada en casos de resistencia a la insulina, obesidad y DT2. [10]

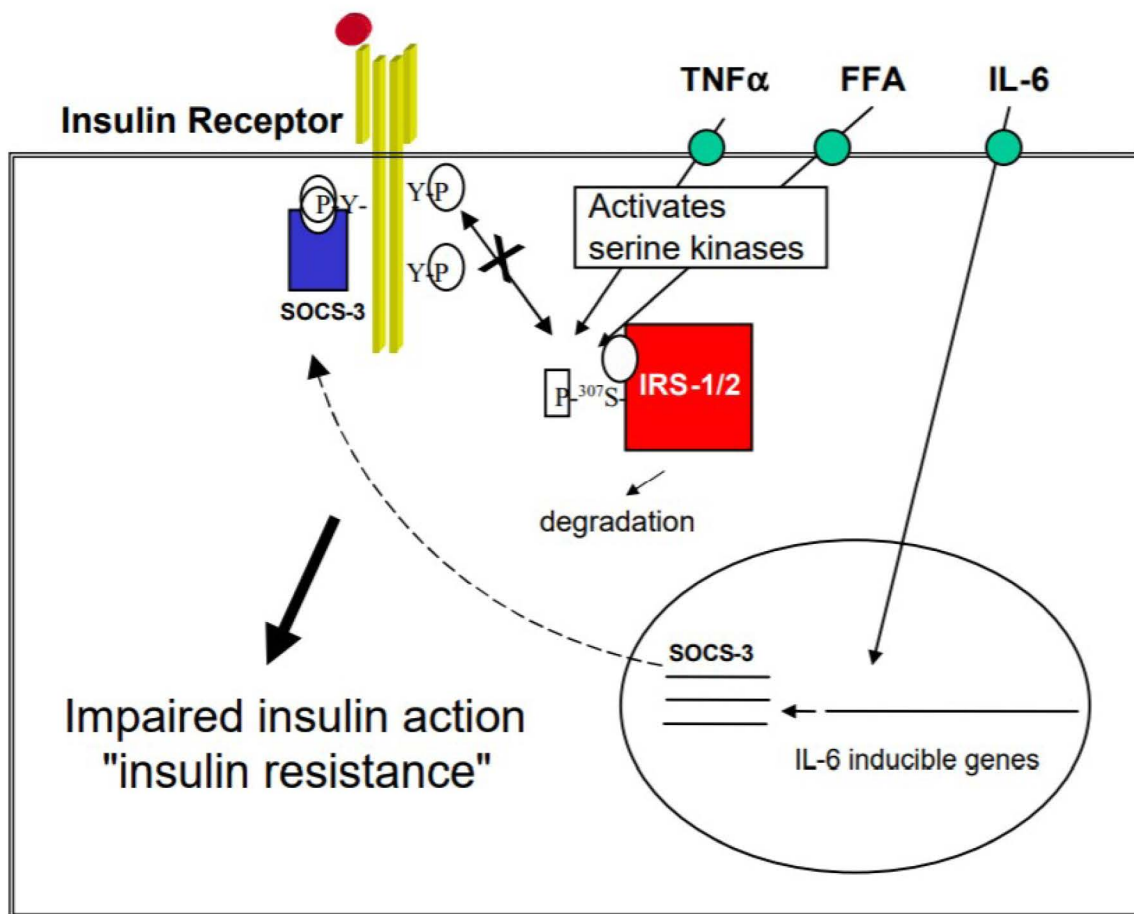


Figura 3. Resistencia a la insulina iniciada por factores inflamatorios en hepatocitos. TNF α y los ácidos grasos libres activan cinasas que fosforilan los sustratos receptores de insulina IRS-1 e IRS-2, produciendo una degradación en los mismos. IL-6 induce la expresión de SOCS-3, el cual se une al receptor de insulina activado e inhibe su actividad cinasa. En ambos casos, la respuesta de los hepatocitos a la insulina se deteriora. Imagen tomada de [22].

4.1.6. Síntesis de triglicéridos

Se ha reportado que las proteínas que se unen a los elementos regulatorios de esteroides 1c (SREBP-1c) tienen un papel importante en la regulación de ácidos grasos en el hígado. Su sobre activación puede causar un aumento en la producción de triglicéridos. La señalización de la insulina en hepatocitos lo activa por medio de la proteína cinasa C (PKC). En condiciones fisiológicas SREBP-1c es reprimido en el estado de ayuno y activado en el estado postprandial. Algunos factores relacionados con la nutrición, como la insulina y la glucosa, regulan la expresión de SREBP-1c [31]. Modelos de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa por más de 12

semanas han mostrado perfiles de lípidos anormales y aumento en la expresión de SREBP-1c, así como de algunos factores inflamatorios como el factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF κ B) [32].

Una de las isoenzimas de PKC (PKC λ) media el efecto regulador de la insulina sobre el contenido de triglicéridos hepáticos al contribuir a la expresión de SREBP-1c, y se ha probado que la falta de PKC λ en el el hígado de ratones produce un aumento de la sensibilidad a la insulina [33], disminuye la expresión excesiva de factores pro-inflamatorios y la gluconeogénesis, además de provocar una mejoría en niveles altos de hiperglucemia, hiperinsulinemia, obesidad abdominal y exceso de triglicéridos [25].

La resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2 (DT2) se relacionan con una reducción en lipoproteínas de alta densidad (HDL) y una predominancia en la secreción hepática de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Estas características se asocian a un aumento de riesgo de enfermedades cardiovasculares [24].

En casos de resistencia a la insulina y DT2, existe un aumento en la secreción de ácidos grasos desde el tejido adiposo y un incremento en la captación de los mismos en el hígado. Algunos estudios epidemiológicos han mostrado una relación entre los niveles de ácidos grasos libres y la resistencia a la insulina. Los ácidos grasos libres esterificados en forma de triglicéridos son depositados en músculo, hígado, corazón y páncreas cuando existe resistencia a la insulina [29, 30].

Se ha mostrado que los efectos del ejercicio, la dieta, pérdida de peso, como parte de un manejo integral del manejo de la DT2 pueden mejorar la dislipidemia en casos de DT2 [47]. Hay evidencias sobre una asociación positiva entre la adiponectina (una adipocina antiinflamatoria) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL), siendo la adiponectina un promotor del incremento de HDL [23].

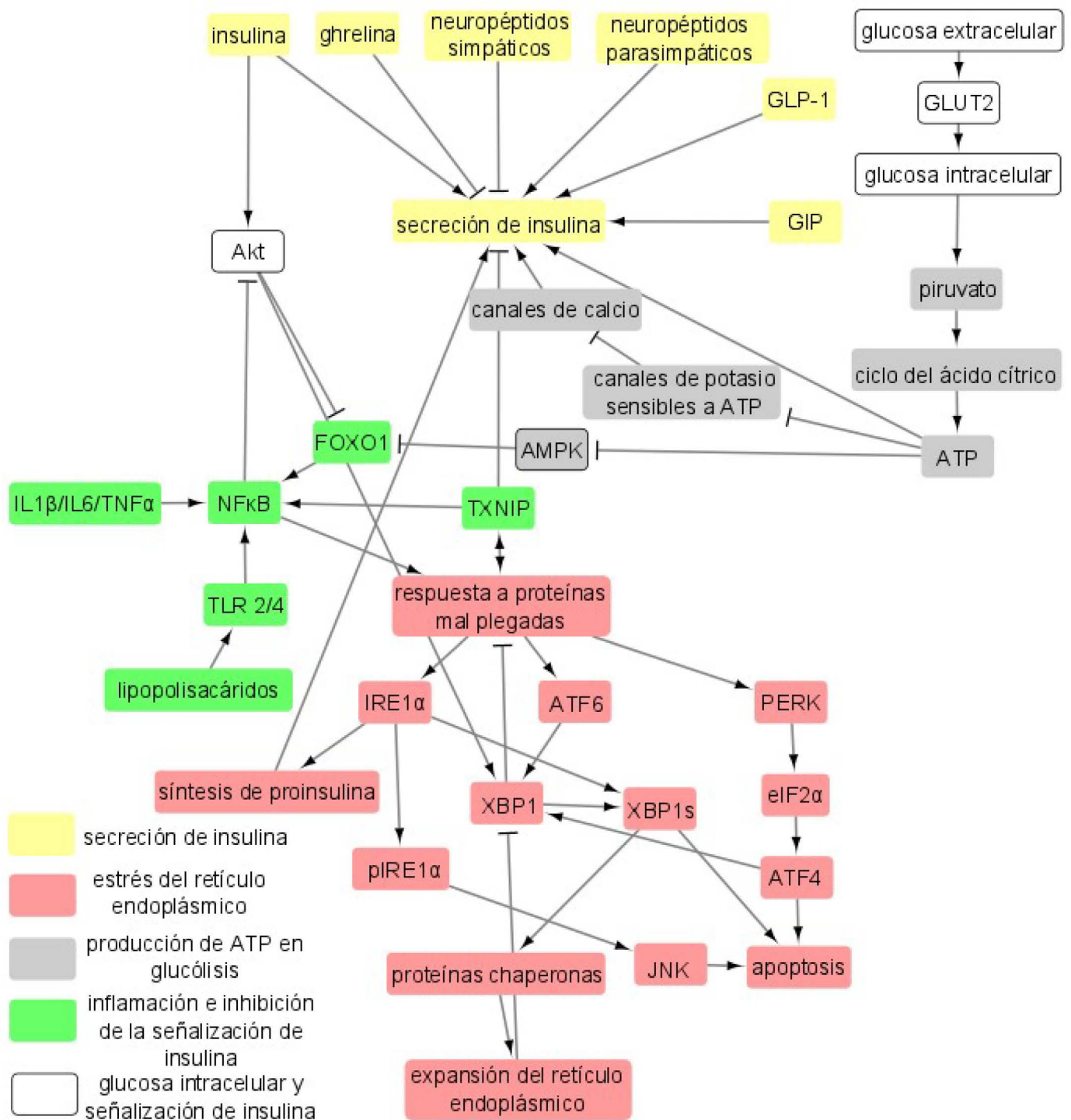


Figura 4. Red de células beta pancreáticas. La red incluye citocinas, proteínas, hormonas, receptores, factores de transcripción, etc., los cuales son centrales en la evolución de salud a síndrome metabólico (SM) y diabetes tipo 2 (DT2). Los colores de los rectángulos representan procesos y vías de señalización alteradas durante la evolución de la enfermedad. Las flechas y barras corresponden a interacciones positivas y negativas, respectivamente.

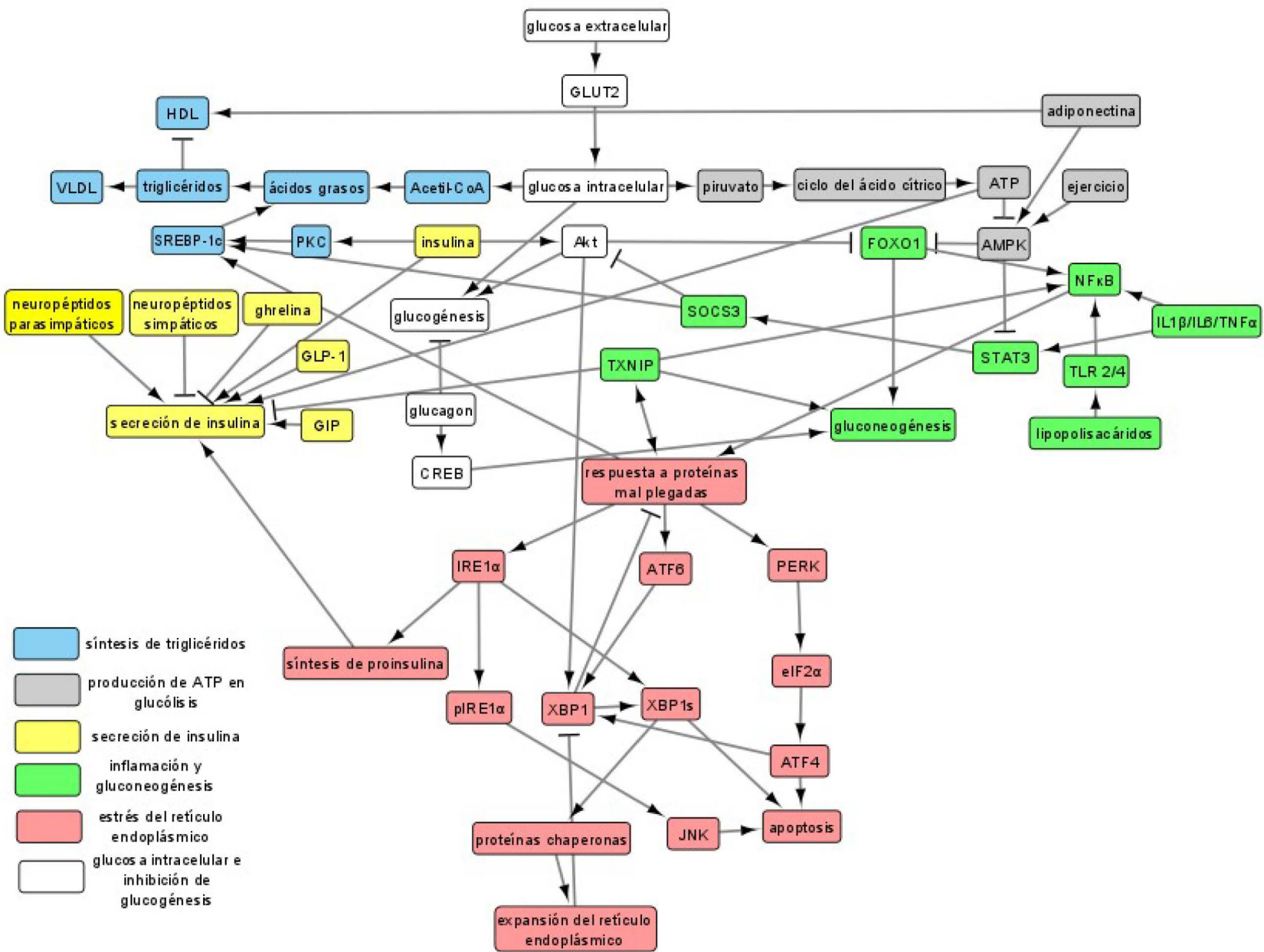


Figura 5. Red de células betas y hepatocitos. Los colores de los rectángulos representan procesos y vías de señalización alteradas durante la evolución de la enfermedad. Las flechas y barras corresponden a interacciones positivas y negativas, respectivamente.

4.2. Métodos matemáticos

Una red es un sistema formado por elementos conectados llamados nodos y relaciones entre ellos. Cada nodo puede representar un gen, un factor de transcripción, una citocina, etc. Un ejemplo de una red reguladora genética de células endoteliales progenitoras de un modelo murino de diabetes, cuyos nodos representan genes, ácido ribonucleico micro (miRNA) y factores de transcripción se muestra en la figura 6 [66]. Las relaciones entre los nodos están dadas por flechas y barras que representan activación y represión entre ellos, respectivamente. La dinámica de las redes puede ser estudiada con modelos matemáticos para analizar estados estacionarios, también llamados atractores, los cuales se asocian a patrones de expresión relacionados a destinos celulares. El uso de estos modelos puede incrementar el entendimiento de un proceso de diferenciación celular o incluso la evolución de una enfermedad [67, 68].

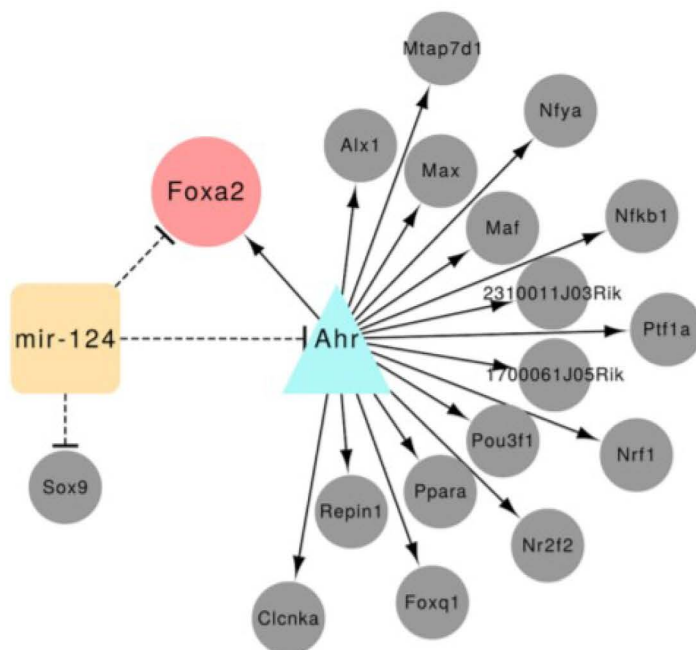


Figura 6. Circuito de una red reguladora genética de células endoteliales progenitoras en la regulación de diabetes en un modelo murino. La red contiene factores de transcripción, triángulo color turquesa; ácido ribonucleico micro (miRNA), cuadrado naranja; genes blanco, círculo rosa; y genes reguladores, círculos grises. Las flechas y barras corresponden a interacciones positivas o de activación y negativas o de represión, respectivamente. Las barras sólidas indican la regulación de los factores de transcripción a genes blanco, las barras punteadas indican la regulación del miRNA a los demás nodos de la red. Imagen tomada de [66].

Waddington introdujo en 1957 el concepto de paisaje epigenético para estudiar la evolución de las células como un fenómeno conducido por la dinámica de un paisaje. Él propuso una metáfora del paisaje epigenético donde la evolución celular es vista como un balón cayendo en un paisaje formado por picos y valles [69]. Siguiendo su trayectoria, el balón finalmente caía en un valle, representando su posición final, esta posición puede ser asociada con el concepto de atractor y representar una condición celular (figura 7). La dinámica de las redes complejas puede ser analizada estudiando su paisaje asociado [70].

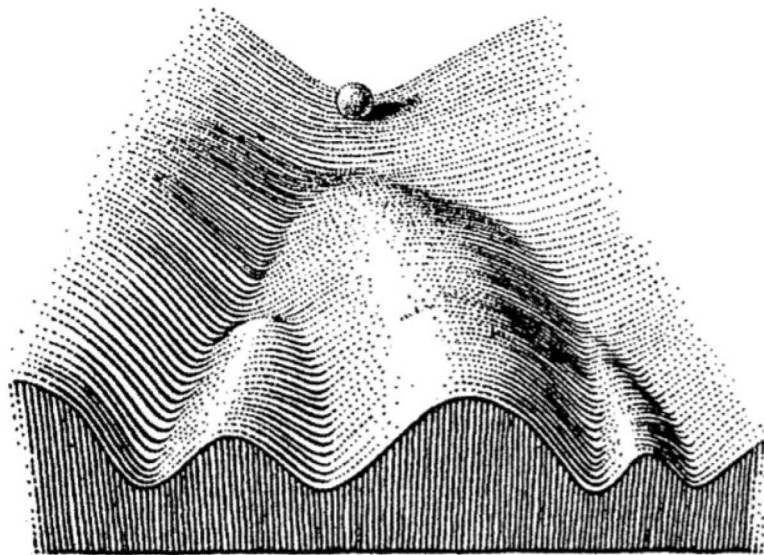


Figura 7. Metáfora del paisaje epigenético de Waddington. El destino final del balón en algún valle se asocia con un atractor celular. Imagen tomada de [71].

Distintos modelos matemáticos basados en sistemas biológicos con diferentes grados de complejidad, descripción biológica y clínica o experimental han sido considerados. Mencionando algunos ejemplos, en [72], Prana et al, 2019, investigaron el efecto de una dieta alta en calorías en el tejido adiposo in silico y el estado inflamatorio que se producía modelando la respuesta inflamatoria como resultado del incremento en la masa de adipocitos debido a la alta ingesta calórica; en [73], Topp et al., 2000, modelaron el efecto en la relación entre insulina y glucosa en casos donde no se puede mantener un nivel normal de glucosa, como en el caso de la resistencia a la insulina, este efecto incrementa la masa de células beta, pero posteriormente

si la glucosa sigue aumentando, se produce glucotoxicidad, causando que la masa celular se reduzca y se acelere el proceso de diabetes; en [74], J. Ha et al., 2016, agregaron al modelo de Topp et al., 2000 la caracterización de la función de las células beta, medida por el nivel de secreción de insulina y el número de células y propusieron una respuesta celular jerárquica ante la hiperglucemia, en donde primero aumenta la secreción de insulina cuando aumenta la glucosa, después cuando incrementa la glucosa de manera persistente de horas a días, se mantiene la secreción de insulina, luego si hay un incremento crónico en la glucosa, hay una respuesta de secreción máxima de insulina y por último, si existe un incremento crónico de hiperglucemia, se incrementa la masa de células beta. Otros modelos consultados se muestran en [75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 82, 84, 85].

4.2.1. Método Booleano

En primer lugar describimos las relaciones entre los nodos de las redes propuestas en términos de proposiciones de lógica Booleana, en donde los nodos pueden tomar dos valores, 0 (falso o inhibido), o 1 (verdadero o expresado) [86, 87]. En una red con n nodos, el estado del nodo k a un tiempo $t + \tau$ puede ser descrito por un mapeo dinámico

$$q_k(t + \tau) = f_k(q_1(t), \dots, q_n(t)). \quad (1)$$

Los atractores del mapeo satisfacen la condición de estado estacionario $q_k(t + \tau) = q_k(t)$. De acuerdo con la hipótesis de Kauffman [88], cada atractor define un patrón de expresión caracterizando un destino celular; en el contexto de este trabajo, los atractores representan estados celulares de salud, el síndrome metabólico (SM) y la diabetes tipo 2 (DT2).

Una ventaja de los modelos Booleanos es que dan información importante de la estructura básica de la red y pueden ser usados en el estudio de circuitos biológicos sin la necesidad de tener valores explícitos de los parámetros de la red. Estudios previos basados en redes reguladoras

Booleanas han empleado esta aproximación para caracterizar los mecanismos fundamentales de procesos biológicos [89, 90, 91, 92].

4.2.2. Método continuo

Para la descripción de las transiciones graduales observadas a largo plazo en la evolución de la enfermedad, una aproximación Booleana es insuficiente y se debe contemplar un formalismo menos restrictivo. Esto fue superado introduciendo un análisis de lógica continua, cuyas primeras bases fueron establecidas por Glass y Kauffman [93, 94]. En esta metodología, los niveles de expresión, concentraciones y parámetros de un sistema pueden adquirir cualquier valor en un rango continuo entre $\{0, 1\}$. Nosotros consideramos una aproximación alternativa basada en lógica difusa. Originalmente, esta lógica tuvo como objetivo dar un sustento formal a un razonamiento aproximado y ha tenido aplicaciones en las ciencias físicas, biomédicas y del comportamiento [95, 96, 97, 98, 99, 100]. El grado en el cual un objeto exhibe una propiedad p está dado por una función característica $\mu[p]$, definida en el intervalo $[0, 1]$. El nivel de expresión de las interacciones de la red es descrita por proposiciones de lógica difusa $\mu \left[w_k (q_1(t), \dots, q_n(t)) \right]$, donde w_k es una transformación continua de la proposición Booleana. La dinámica de las interacciones se expresa como sigue:

$$\frac{dq_k}{dt} = \mu \left[w_k (q_1(t), \dots, q_n(t)) \right] - \alpha_k q_k, \quad (2)$$

donde α_k es la tasa de decaimiento del nodo k . Los atractores del sistema son determinados por la condición de estado estacionario $dq_k/dt = 0$, teniendo que $q_k^s = \mu[w_k^s]/\alpha_k$. Entonces, los estados estacionarios son modulados por las tasas de decaimiento, así que cuando $\alpha_k \gg 1$ ($\alpha_k < 1$) se tendrá una subexpresión (sobrexpresión) del nodo k . Esto sugiere describir la progresión de la enfermedad introduciendo una metodología que contempla transiciones de fase fuera de equilibrio [101, 102]. En esta teoría, las transiciones de fase son generadas por alteraciones en los parámetros de control, los cuales, en muchos casos corresponden a tasas de decaimiento del sistema.

En este trabajo realizamos una conexión de nuestro modelo de lógica continua con datos experimentales descritos con otros modelos matemáticos disponibles que muestran variables fisiológicas que definen el desarrollo de la DT2 [73, 75, 76, 103, 104]. Estos estudios consideran la acción combinada de deficiencias metabólicas tales como la resistencia a la insulina, lo cual incrementa el nivel de insulina requerido para mantener la glucosa dentro de rangos normales y la falla de células beta pancreáticas relacionada con la demanda incrementada. Estos estudios describen predicciones confiables de variables básicas en ratas diabéticas hembras: masa de células beta, insulinemia, glucemia y hemoglobina glicosilada.

El análisis de lógica continua de las redes se hizo pasando las interacciones Booleanas a un escenario continuo $f_k \rightarrow w_k$, reemplazando los conectores Booleanos **y**, **o**, y **no** por sus contrapartes en la lógica difusa de acuerdo a las siguientes reglas [98].

$$\begin{aligned} q_i \text{ y } q_k &\rightarrow q_i \cdot q_k, \\ q_i \text{ o } q_k &\rightarrow q_i + q_k - q_i \cdot q_k, \\ \text{no } q_i &\rightarrow 1 - q_i. \end{aligned}$$

Estas definiciones no son únicas y existen diferentes alternativas que han sido propuestas [95]. Las proposiciones de la lógica difusa satisfacen un conjunto de axiomas equivalentes dentro de la lógica Booleana, excepto por los principios de contradicción y de exclusión. En este caso, la proposición w_k , y su negación, $1 - w_k$, puede ser simultáneamente verdaderas. Formalmente, esto se expresaría como $w_k = 1 - w_k$, con solución $w_k = 1/2$, y la condición $w_k \equiv w_{thr} = 1/2$ representa un umbral entre falso y verdadero [96]. Esta propiedad permite la descripción de, por ejemplo, situaciones en donde una célula refleja un patrón de expresión intermedio que no necesariamente corresponde a un fenotipo en particular.

4.3. Conexión con datos clínicos

Con el fin de investigar la relevancia de nuestro modelo en la representación de datos experimentales, conectamos nuestro análisis con modelos matemáticos específicamente diseñados para la descripción de variables fisiológicas que caracterizan la evolución de la enfermedad. [73, 75, 76, 103, 104]. Estos estudios consideran la combinación de dos defectos metabólicos, la resistencia a la insulina, que incrementa el nivel de insulina requerida para mantener la glucosa en un rango normal, y la falla de las células beta debido a la demanda incrementada de producción de insulina.

Para simular este proceso, efectuamos parametrizaciones de la evolución temporal observada en el modelo continuo para el cambio en la secreción de insulina y apoptosis de células beta, denotadas a continuación como $\beta(t)$ y $\gamma(t)$, respectivamente (figuras 10A-10B) en el conjunto de ecuaciones diferenciales propuestas en el modelo de De Gaetano *et al.* [103, 104] para la masa de células beta, insulinemia, glucemia y hemoglobina glicosilada a largo plazo durante el desarrollo de la enfermedad. Consideramos dos escenarios alternativos: uno consistente con un estado de síndrome metabólico (SM) puro y otro con el desarrollo de la diabetes tipo 2 (DT2) precedido por SM. Adaptamos el modelo original diseñado para describir datos en humanos a un modelo animal de ratas diabéticas tipo Zucker, descrito en las referencias [76]. Las ratas macho desarrollan de manera espontánea hiperglucemia entre las 6 y 12 semanas de edad, mientras que las hembras sólo se vuelven hiperglucémicas cuando son expuestas a una dieta alta en grasa [76]. Limitamos nuestro análisis a la población de ratas hembra porque tiene una mayor similitud con el desarrollo de la DT2 en humanos. El sistema de ecuaciones adaptado es el siguiente:

$$\frac{dB}{dt} = pB \left(1 - \frac{B}{B_{max}} \right) - \beta_{max}\beta(t)B \quad (3)$$

$$\frac{dI}{dt} = \frac{G^\nu}{G_h^\nu + G^\nu} T_{ig}\gamma(t) B - K_{xi}(t) I \quad (4)$$

$$\frac{dG}{dt} = T_{gl} - K_{xgI}(t) I G \quad (5)$$

$$\frac{dA}{dt} = K_{ag} G (1 - A/100) - K_{xa}A, \quad (6)$$

donde B es la masa de células beta, con un valor máximo B_{max} , una tasa de proliferación p , y una tasa de apoptosis con respecto al tiempo $\beta_{max}\beta(t)$, I es la concentración de insulina en sangre, G la concentración de glucosa en ayuno, con un nivel medio G_h , $T_{ig}\gamma(t)$ la secreción de insulina temporal, T_{gl} la producción de glucosa hepática, y A el porcentaje de hemoglobina glucosilada. La sensibilidad a la insulina y la tasa de eliminación de la misma son representadas por:

$$K_{xgI}(t) = \frac{K_{xgI0}}{1 + e^{-b(t-t_{half})}} \quad (7)$$

$$K_{xi}(t) = K_{xiStart} + \frac{t - t_0}{t_{max} - t_0} (K_{xiEnd} - K_{xiStart}), \quad (8)$$

donde t_0 , t_{half} , y t_{end} indican, el tiempo donde la resistencia a la insulina comienza, el tiempo donde la sensibilidad a la insulina disminuye a la mitad de su valor inicial y el tiempo final del estudio, respectivamente. La descripción y valores de los parámetros son presentados en la tabla 3.

B_0	masa celular inicial de células beta	1000 MC
B_{max}	masa de células beta máxima	3000 MC
p	tasa de proliferación de células beta	0.01 mes ⁻¹
β_{max}	tasa de apoptosis máxima	0.02 mes ⁻¹
I_0	nivel de insulina inicial	30 pM
G_0	nivel de glucosa inicial	4.2 mM
G_h	nivel medio del máximo de glucosa	9 mM
T_{ig}	máxima secreción de insulina	0.048 pM-min ⁻¹ MC ⁻¹
T_{gl}	producción de glucosa hepática	0.013 mM-min ⁻¹
K_{xgI0}	sensibilidad inicial de insulina	0.0001 min ⁻¹ pM ⁻¹
$K_{xiStart}$	tasa inicial de eliminación de insulina	0.050 min ⁻¹
K_{xiEnd}	tasa final de eliminación de insulina	0.035 min ⁻¹
t_0	edad de la etapa inicial de la enfermedad	6 semanas
t_{half}	edad de la sensibilidad media de insulina	10 semanas
t_{max}	edad de la etapa final de la enfermedad	12 semanas

Tabla 3. Definiciones de parámetros y valores. MC: millones de células.

5. Resultados

5.1. Análisis Booleano

Realizamos un mapeo dinámico de las redes para encontrar los estados estacionarios asociados a salud, síndrome metabólico (SM) y diabetes tipo 2 (DT2). En esta lógica, los nodos de la red sólo pueden tomar dos valores, 0 (falso o inhibido), o 1 (verdadero o expresado). En una red con n nodos, el estado del nodo k a un tiempo $t + \tau$ puede ser descrito por la ecuación 1 (Introducción), $q_k(t + \tau) = f_k(q_1(t), \dots, q_n(t))$, las proposiciones lógicas se encuentran en el apéndice B.1

En este mapeo, se tienen 2^n posibles condiciones iniciales para cada red. Sin embargo, para una red como la de las células beta, en donde se tienen $n = 37$ nodos, se tendrían un número extremadamente alto de posibles configuraciones diferentes a estudiar. Para simplificar y hacer viable este análisis, decidimos expresar el comportamiento de los nodos de la red en función de los valores de los nodos independientes. Para identificar a los nodos independientes, construimos

dos grupos (A y B). Grupo A) Nodos que representan entradas externas a la red de células beta pancreáticas. Aquí incluimos a la insulina extracelular, la ghrelina, los neuropéptidos simpáticos y parasimpáticos, la glucosa extracelular, las citocinas pro-inflamatorias IL1 β /IL6/TNF α , los lipopolisacáridos, así como el péptido similar al glucagon tipo 1 (GLP-1) y el péptido insulino-trópico dependiente de la glucosa (GIP). Grupo B) Nodos que debido a su centralidad son clave para determinar los estados de otros nodos a través de sus rutas de interacción. En este grupo incluimos a la proteína cinasa B (Akt) y la respuesta a proteínas mal plegadas debido a sus posiciones estratégicas en esta red. Como se puede ver en la figura 8, estos dos últimos nodos conectan circuitos involucrados en la homeostasis, el estrés del retículo endoplásmico (RE) y la respuesta inflamatoria, así que sus niveles de expresión influyen en los destinos de las células beta pancreáticas a través de rutas de señalización alternativas. Con estas consideraciones, el análisis de la red de células beta se redujo a analizar $2^{11} = 2048$ condiciones iniciales.

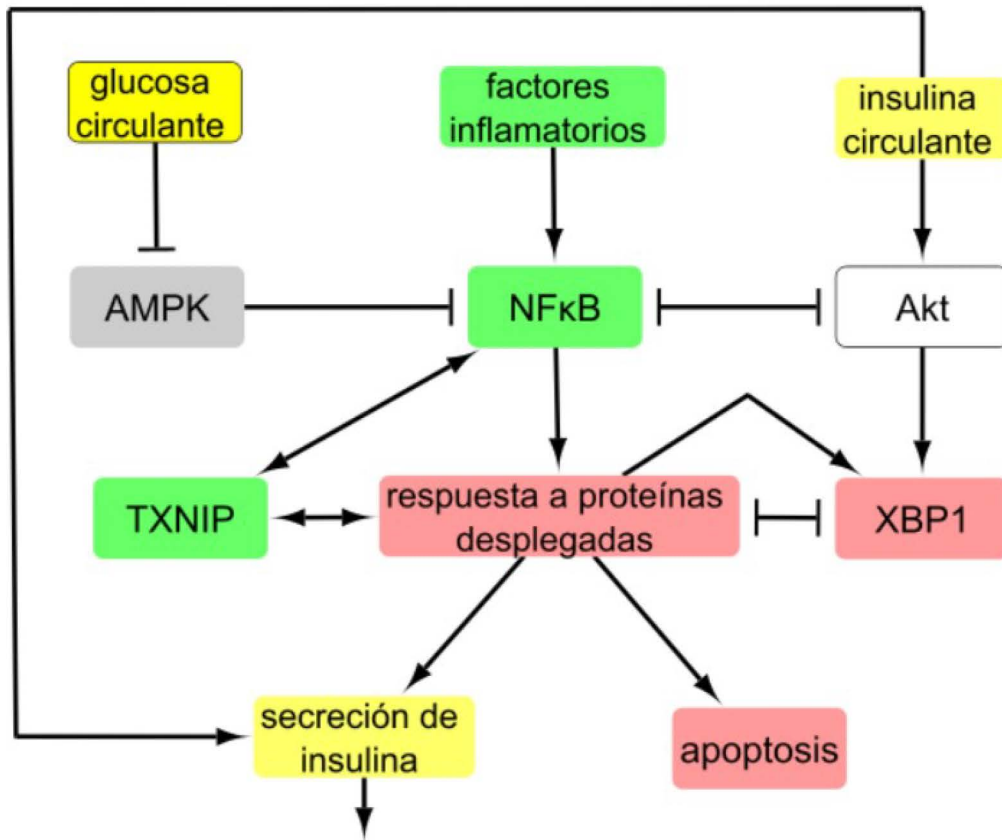


Figura 8. Elementos centrales involucrados en el desarrollo de la DT2 resultantes de la reducción de la red conjunta de células beta y hepatocitos (Figura 5). Los nodos superiores corresponden a factores independientes. Los colores de los nodos son los mismos de la figura 5, en donde el amarillo representa a la ruta de la secreción de la insulina, el verde a la inflamación y gluconeogénesis, el rosa al estrés del retículo endoplásmico, el gris a la producción de ATP en glucólisis y el blanco a la glucosa intracelular e inhibición de la gluconeogénesis.

El análisis Booleano fue llevado a cabo por medio de un código en Fortran 90 que da los atractores del sistema dinámico (apéndice B.2). En resumen, el código crea 2 arreglos, el primero corresponde a una matriz con todas las posibles configuraciones de condiciones iniciales y el segundo es formado por una matriz con todas las posibles configuraciones de condiciones finales, una por cada configuración inicial. El código especifica el número N_k y las condiciones iniciales específicas que conducen al mismo atractor k . N_k determina el tamaño de las cuencas de atracción y da una estimación de la probabilidad de que un patrón de activación o inhibición sea expresado.

Debido a que se generan 2^{11} configuraciones de condiciones iniciales independientemente, cada configuración inicial tendrían una probabilidad $p = 1/2^{11}$ de que un atractor k se alcance, así que la probabilidad de que un patrón k sea expresado, sería $P_k = N_k p$. Sin embargo, algunas combinaciones de variables independientes no tienen una interpretación biológica realista y fueron descartadas en el conteo probabilístico final.

Para clasificar los estados estacionarios de la red en estados asociados a salud, SM y DT2, construimos la tabla 2, basada en una revisión actual de la literatura. Esta tabla representa una clasificación de los valores “ideales” para cada estado. Estos valores son orientativos y pueden existir variaciones asociadas a cada paciente que se ha reportado en la literatura. Debido al origen multifactorial de la evolución de la enfermedad, los datos clínicos actuales pueden involucrar un patrón híbrido de la tabla 2. En el apéndice B.3 hicimos una clasificación de los estados finales arrojados por el análisis Booleano de la siguiente manera: Hay 4 nodos fundamentales que determinan los estados asociados a la salud, el SM y la DT2, los cuales son, la secreción de insulina, la proteína 1 de unión a X-box (XBP1), la proteína de interacción con tiorredoxina (TXNIP) y la apoptosis. Analizamos el valor de cada uno de estos 4 nodos; bajo la dinámica Booleana, sólo pueden tomar dos valores: 1, indicando que su valor es máximo o encendido, y 0, indicando que su valor es mínimo o se encuentran apagados.

A) Para el estado de salud, es necesario que los nodos correspondientes a la secreción de insulina y XBP1 tengan un valor de 1, mientras que los correspondientes a TXNIP y apoptosis permanezcan apagados, con un valor de 0; además se requiere que los módulos correspondientes al almacenamiento de la glucosa y producción de ATP se mantengan encendidos con un valor de 1, mientras que los módulos correspondientes a inflamación y estrés del RE permanezcan en su mayoría apagados, con un valor de 0. En el caso de salud, se requiere que el nodo XBP1 se mantenga activo con un valor de 1 para indicar que funciona la respuesta adaptativa ante la presencia de un posible estrés del RE y que se mantenga reprimida la respuesta mal adaptativa caracterizada por la vía de PERK y la apoptosis. B) Para el estado de SM, el nodo correspon-

diente a la secreción de insulina debe estar encendido, con un valor de 1 y el de apoptosis con un valor de 0; por otro lado, XBP1 y TXNIP pueden tener valores de 0 o 1, los módulos correspondientes a almacenamiento de glucosa y producción de ATP deben estar encendidos, pero los nodos correspondientes a inflamación en su mayoría deben mostrar un patrón encendido 1. C) Para la DT2, es necesario que los nodos correspondientes a secreción de insulina y XBP1 se mantengan apagados, con un valor de 0, mientras que TXNIP y la apoptosis mantengan un valor de 1; además, los módulos de la inflamación y el estrés del RE deben estar en su mayoría encendidos.

El análisis Booleano se realizó para determinar los atractores de la red de células beta, posteriormente hicimos un análisis continuo en la misma red para caracterizar las transiciones entre estados estacionarios (salud, SM y DT2) y lo ampliamos para la red conjunta de células beta y hepatocitos. La red conjunta de células beta y hepatocitos consta de 50 nodos, al hacer el análisis Booleano para encontrar los atractores o estados estacionarios se tendrían 1,125,899,906,842,624 posibles configuraciones de condiciones iniciales distintas; debido a la capacidad restringida de memoria computacional para hacer ese análisis, decidimos hacer directamente el análisis continuo para identificar los estados estacionarios asociados a salud, SM y DT2, compararlos con los datos de la Tabla 2 y posteriormente realizar el análisis dinámico de las transiciones entre estados de salud y enfermedad.

Nodo	Salud	SM	DT2
HDL	1	0	0
VLDL	0	1	1
triglicéridos	0	1	1
ácidos grasos	0	1	1
acetilCoA	0	1	1
SREBP1c	0	1	1
PKC	0	1	1
insulina extracelular	1	1	0
síntesis de proinsulina	1	1	0
secreción de insulina	1	1	0
neuropéptidos parasimpáticos	1	1	0
GLP-1	1	1	0
GIP	1	1	0
ghrelina	0	0	1
neuropéptidos simpáticos	0	0	1
glucosa extracelular	0	1	1
GLUT2	1	1	1
glucosa intracelular	1	1	1
glucogénesis	1	0	0
glucagon	0	1	1
CREB	1	0	0
Akt	1	1	0
piruvato	1	1	1
ciclo del ácido cítrico	1	1	1
ATP	1	1	1
canales de potasio sensibles a ATP	0	0	1
canales de calcio	1	1	0
adiponectina	1	0	0
ejercicio	1	0	0
AMPK	1	0	0
IL1 β /IL6/TNF α	0	1	1
gluconeogénesis	0	1	1
SOCS3	0	1	1
STAT3	0	1	1
TLR 2/4	0	1	1
lipopolisacáridos	0	1	1
FOXO1	0	1	1
NF κ B	0	1	1
TXNIP	0	1	1
respuesta a proteínas mal plegadas	0	1	1
XBP1	1	1	0
XBP1s	0	0	1
IRE1 α	1	1	0
pIRE1 α	0	0	1
síntesis de proinsulina	1	1	0
PERK	0	0	1
eIF2 α	0	0	1
ATF4	1	1	1
ATF6	0	0	1
proteínas chaperonas	0	0	1
expansión del retículo endoplásmico	0	0	1
JNK	0	0	1
apoptosis	0	0	1

Tabla 2. Patrones asociados a salud, síndrome metabólico (SM) y diabetes tipo 2 (DT2). El estado de inhibición o activación de cada uno de los nodos está representado por 0 o 1, respectivamente. Los valores pueden cambiar durante el desarrollo de la enfermedad.

5.2. Análisis Continuo

En nuestro estudio, consideramos que las fases correspondientes a la salud, el síndrome metabólico (SM) y la diabetes tipo 2 (DT2) fueron determinadas por la dinámica Booleana y analizamos las propiedades dinámicas del sistema por medio de un sistema de ecuaciones diferenciales no lineales [99, 89, 105, 106, 107, 108, 109]:

$$\frac{dq_k}{dt} = \frac{1}{1 + \exp \left[-b \left(w_k(q_1, \dots, q_n) - w^{thr} \right) \right]}, -\alpha_k q_k. \quad (9)$$

α_k es una tasa de decaimiento de la expresión de cada nodo. El primer término de la parte derecha de la ecuación representa una función característica $\mu[w_k]$ con una estructura sigmoide y una tasa de saturación b . Esta tasa determina la velocidad a la cual $\mu[w_k]$ evoluciona de un estado de inexpressión a uno totalmente expresado, teniendo una variación gradual para pequeñas b , y precipitado para grandes valores de b . En el límite cuando $b \gg 1$, la función característica se comporta como una función de tipo escalón: $\mu[w_k - w^{thr}] \rightarrow \Theta[w_k - w^{thr}]$. En este trabajo usamos una $b = 5$.

Con dichas ecuaciones diferenciales modelamos las transiciones entre estados de salud y enfermedad asociadas a condiciones iniciales y a tasas de decaimiento de los componentes de la red. Esto último se asocia con la influencia de la sub expresión de elementos de la red en el desarrollo de la DT2. Un estado estacionario puede ser alterado debido a modificaciones en las condiciones externas pertenecientes a diferentes estados de salud. Analizamos cuáles condiciones pueden promover esta transición. En específico, investigamos el papel de cada uno de los nodos de la red por medio de modificaciones en sus tasas de decaimiento α_k y en cambios en las condiciones iniciales externas que puedan perturbar la dinámica general y los estados finales estacionarios.

Llevamos a cabo un análisis dinámico para caracterizar las transiciones de salud a síndro-

me metabólico (SM) y diabetes tipo 2 (DT2). Consideramos que cada atractor de la tabla 2 representa con conjunto de condiciones iniciales de cada nodo asociado a su estado de salud o enfermedad, asumiendo una tasa de decaimiento inicial $\alpha_k = 1$; después, analizamos si la perturbación sucesiva de cada nodo generaba una transición de fase de su estado original de salud a un atractor diferente. Para lograr esto, cada tasa de decaimiento fue incrementada gradualmente desde su valor inicial $\alpha_k = 1$ a su máximo valor $\alpha_k = 5$, permitiendo determinar su capacidad para generar una modificación en la dinámica del sistema y la progresión de la enfermedad. Este procedimiento fue implementado por medio del programa computacional Wolfram Mathematica, presentado en el apéndice B.4.

Un estudio analítico de las reglas lógicas permite la reducción o colapso de las rutas de señalización de la red de células beta y hepatocitos (figura 5) y obtener un grupo central de factores involucrados en la homeostasis y enfermedad (figura 8). Este grupo incluye diversos circuitos. En particular, involucra dos módulos o conjuntos de nodos que actúan como un switch que conduce a destinos alternativos. El módulo $\text{NF}\kappa\text{B} \leftrightarrow \text{Akt}$ regula el balance entre inflamación y funcionalidad normal, el cual depende de niveles exógenos de glucosa, insulina y citocinas pro-inflamatorias. Un segundo módulo está compuesto por $\text{XBP1} \leftrightarrow$ respuesta a proteínas mal plegadas. La doble inhibición mostrada entre estos dos nodos indica que posterior a la expansión del RE se puede inhibir a XBP1 y a su vez XBP1 puede inhibir la respuesta a proteínas mal plegadas para modular el balance entre homeostasis y el estrés del RE aumentado. Encontramos que la respuesta a proteínas mal plegadas juega un papel central en este grupo, y depende de diferentes condiciones micro ambientales: homeostasis celular, homeostasis alterada debido a un aumento en el estrés del RE y apoptosis.

En la figura 9 se muestra un núcleo central de nodos constituido por la vecindad de la respuesta a proteínas mal plegadas, la activación de cada uno de ellos está relacionada con diferentes estados de salud o enfermedad.

Existe un circuito de retroalimentación positiva constituido por $\text{NF}\kappa\text{B}$, respuesta a proteínas mal plegadas y la proteína de interacción con tiorredoxina (TXNIP), asociado a inflamación crónica (figura 9A), el cual conduce a la supresión de insulina vía TXNIP. TXNIP actúa como un puente entre el estrés del RE y la respuesta inflamatoria. Se observa una retroalimentación positiva a la respuesta a proteínas mal plegadas vía la isoforma 6 del factor activador de la transcripción (ATF6) (figura 9B). Por el contrario, se aprecia un circuito de retroalimentación negativa en la figura 9C, representa la inhibición de la respuesta a proteínas mal plegadas vía la cinasa del retículo endoplásmico semejante a la proteína cinasa R (PERK). También existe una retroalimentación positiva entre la respuesta a proteínas mal plegadas vía la hiperfosforilación de $\text{IRE1}\alpha$ (p $\text{IRE1}\alpha$) (figura 9D), en este caso existe apoptosis debido a la hiperfosforilación de $\text{IRE1}\alpha$.

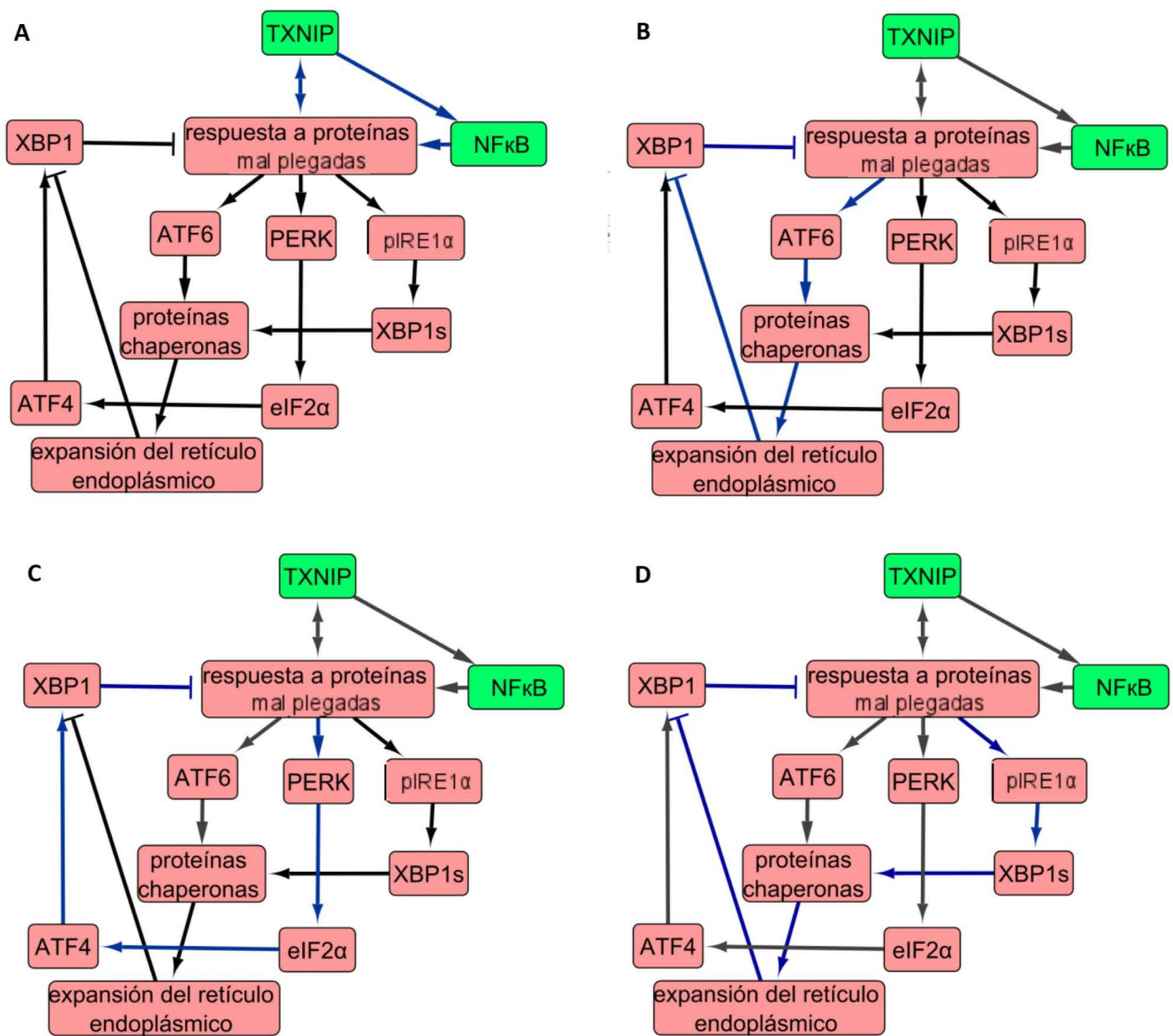


Figura 9. Rutas principales de activación e inhibición del estrés del retículo endoplásmico. A) Circuito de retroalimentación positiva asociada a inflamación crónica entre $\text{NF}\kappa\text{B}$, la respuesta a proteínas mal plegadas y TXNIP (flechas azules). B) Circuito de retroalimentación positiva de la respuesta a proteínas mal plegadas vía ATF6 (flechas azules). C) Circuito de retroalimentación negativa de la respuesta a proteínas mal plegadas vía PERK (flechas azules). D) Circuito de retroalimentación positiva de la respuesta a proteínas mal plegadas vía pIRE1 α (flechas azules).

5.2.1. Red de células beta: de salud a síndrome metabólico y diabetes tipo 2

En la figura 10A se observa una transición de un estado de salud a uno de síndrome metabólico (SM) en las células beta pancreáticas, originado por un leve, pero crónico incremento de glucosa extracelular, cuyo valor inicial fue tomado como 0.5. Como resultado, existe un

pequeño decremento en la secreción de insulina, la proteína cinasa B (Akt) y la proteína 1 de unión a X-box (XBP1). La reducción en la expresión de Akt es consistente con la evidencia experimental que describe a Akt como un factor que regula la expresión de las enzimas glucogénicas y lipogénicas al controlar la actividad de la proteína forhead box O1 (FOXO1), el cual en la red promueve la acción del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas ($\text{NF}\kappa\text{B}$). Esta alteración induce un nivel moderado de apoptosis. A pesar de que no se logra reproducir un incremento en la secreción de la insulina, lo cual caracteriza a los estados de SM, si se logra reproducir un aumento en ($\text{NF}\kappa\text{B}$), TXNIP y la respuesta a proteínas mal plegadas.

En la figura 10B se observa una transición de salud a diabetes tipo 2 (DT2), precedido por SM en las células beta pancreáticas. Inducimos este tránsito incrementando el nivel de glucosa extracelular a 2.0. El estado celular inicial corresponde a un estado de salud con niveles normales de Akt y sin estrés del retículo endoplásmico (RE) ni síntomas inflamatorios. La condición de hiperglucemia lleva posteriormente a un estado de SM, que en el curso del tiempo evoluciona a un estado de inflamación incrementada, estrés del RE y apoptosis inducida por una sobre expresión de $\text{NF}\kappa\text{B}$, FOXO1, la proteína de interacción con tiorredoxina (TXNIP), and respuesta a proteínas mal plegadas. Por otro lado, la secreción de insulina y Akt sufren un decremento con el tiempo, lo cual concuerda con un estado de DT2 avanzada. La actividad prolongada de la respuesta a proteínas mal plegadas es un indicador de que la homeostasis celular no se pudo reestablecer y se relaciona con la apoptosis, resultando en una reducción en la insulina circulante.

En la figura 10D se observa una trayectoria alternativa al tránsito de salud a DT2 en células beta pancreáticas asociado con la inhibición de XBP1, para lo cual aumentamos su tasa de decaimiento. El tránsito a este estado resultó ser rápido, comparado con la figura 10B, la secreción de insulina y apoptosis muestran un decremento e incremento, respectivamente.

5.2.2. Red de células beta: transición a un estado mejorado de salud

En la figura 10C se observa una transición de un estado avanzado de enfermedad a uno más sano en células beta pancreáticas. Para lograr esta transición, aumentamos la tasa de decaimiento de la proteína de interacción con tiorredoxina (TXNIP), así como de los lipopolisacáridos. La secreción de insulina se recuperó de un estado inicial reducido a uno casi normal. Los signos inflamatorios aún persisten y se observan oscilaciones entre los valores medios de los niveles de expresión de varios componentes de la red, principalmente la respuesta a proteínas mal plegadas y la proteína 1 de unión a X-box (XBP1). Este comportamiento puede ser atribuido a su acción mutuamente inhibitoria que actúa como un switch en la red: cuando el nivel de expresión de la respuesta a proteínas mal plegadas es alto, XBP1 lo regula tratando de bajar ese nivel, para que esto suceda XBP1 aumenta su propia expresión. Sin embargo, un nivel suficientemente bajo de la respuesta a proteínas mal plegadas induce un decremento de XBP1.

El análisis de la dinámica de transiciones de salud a SM y DT2, así como de un estado reversible de enfermedad a uno mejorado en la red de células beta muestra el papel relevante de los nodos TXNIP y XBP1 en la activación de dichas transiciones. El aumento en la tasa de decaimiento de TXNIP promueve su rápida inhibición, estimulando el tránsito a un estado mejorado de salud, mientras que el aumento en la tasa de decaimiento de expresión de XBP1 provoca una transición acelerada de salud a DT2.

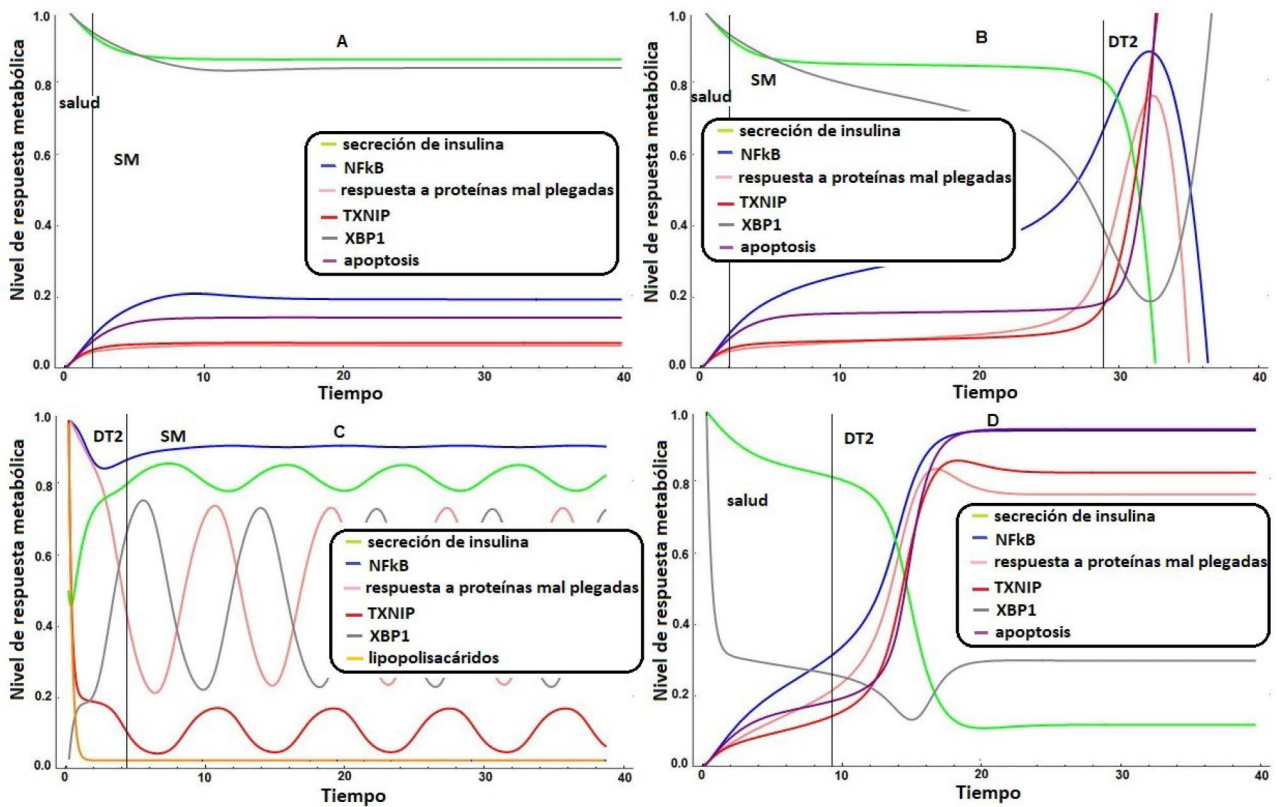


Figura 10. A) De salud a síndrome metabólico (SM). Evolución dinámica de los perfiles de respuesta metabólica de células beta pancreáticas asociados a un nivel reducido de glucosa extra e intracelular. La tasa de decaimiento de todos los nodos es $\alpha_k = 1$. B) De salud a SM y diabetes tipo 2 (DT2). Evolución dinámica de los perfiles de respuesta metabólica de células beta pancreáticas asociados a un nivel aumentado de glucosa extra e intracelular. La tasa de decaimiento de todos los nodos es $\alpha_k = 1$. C) De un estado avanzado de enfermedad asociado a DT2 a uno de mejoría asociado a SM. Evolución dinámica de los perfiles de respuesta metabólica de células beta pancreáticas de un estado inicial con altos niveles de estrés del retículo endoplásmico e inflamación, así como secreción de insulina reducida. La tasa de decaimiento de todos los nodos es $\alpha_k = 1$, con excepción de los factores de transcripción TXNIP y los lipopolisacáridos, $\alpha_{TXNIP} = \alpha_{LPS} = 5$. D) De salud a DT2. Evolución dinámica de los patrones de respuesta metabólica de células beta de un estado de salud a uno de DT2. La tasa de decaimiento de todos los nodos es $\alpha_k = 1$ excepto $\alpha_{XBP1} = 3$. En todas las gráficas las líneas verticales negras representan un cambio de estado de salud a SM (Fig. 10 A), de salud a SM y DT2 (Fig. 10 B), de DT2 a SM (Fig. 10C) y de salud a DT2 (Fig. 10 D). El eje x representa la evolución temporal asociada a la resolución de las ecuaciones diferenciales del modelo continuo.

5.2.3. Red de células beta: predicción de datos experimentales

En las figuras 11a a 11c presentamos una comparación de las predicciones del modelo con los datos experimentales [76] para la evolución de la masa de células beta, niveles de insulina y glucemia en ayuno para ratas Zucker hembras sujetas a dieta alta en grasa y dieta control.

Existe congruencia de la teoría con los resultados experimentales, lo cual se observa para los grupos normo e hiper glucémicos. Además, en la figura 11d se puede apreciar una predicción del nivel de hemoglobina glicosilada. Para este último caso, no existen datos experimentales disponibles.

En el grupo de hiperglicemia, la masa de células beta y las curvas de insulina muestran un comportamiento bifásico [74], lo cual se observa como un aumento en el número de células beta y una producción de insulina acelerada, conduciendo a una regulación relativa de los niveles de glucosa durante las primeras 3 semanas. Esto es consistente con los resultados presentados en modelos previos [73, 76, 103, 74].

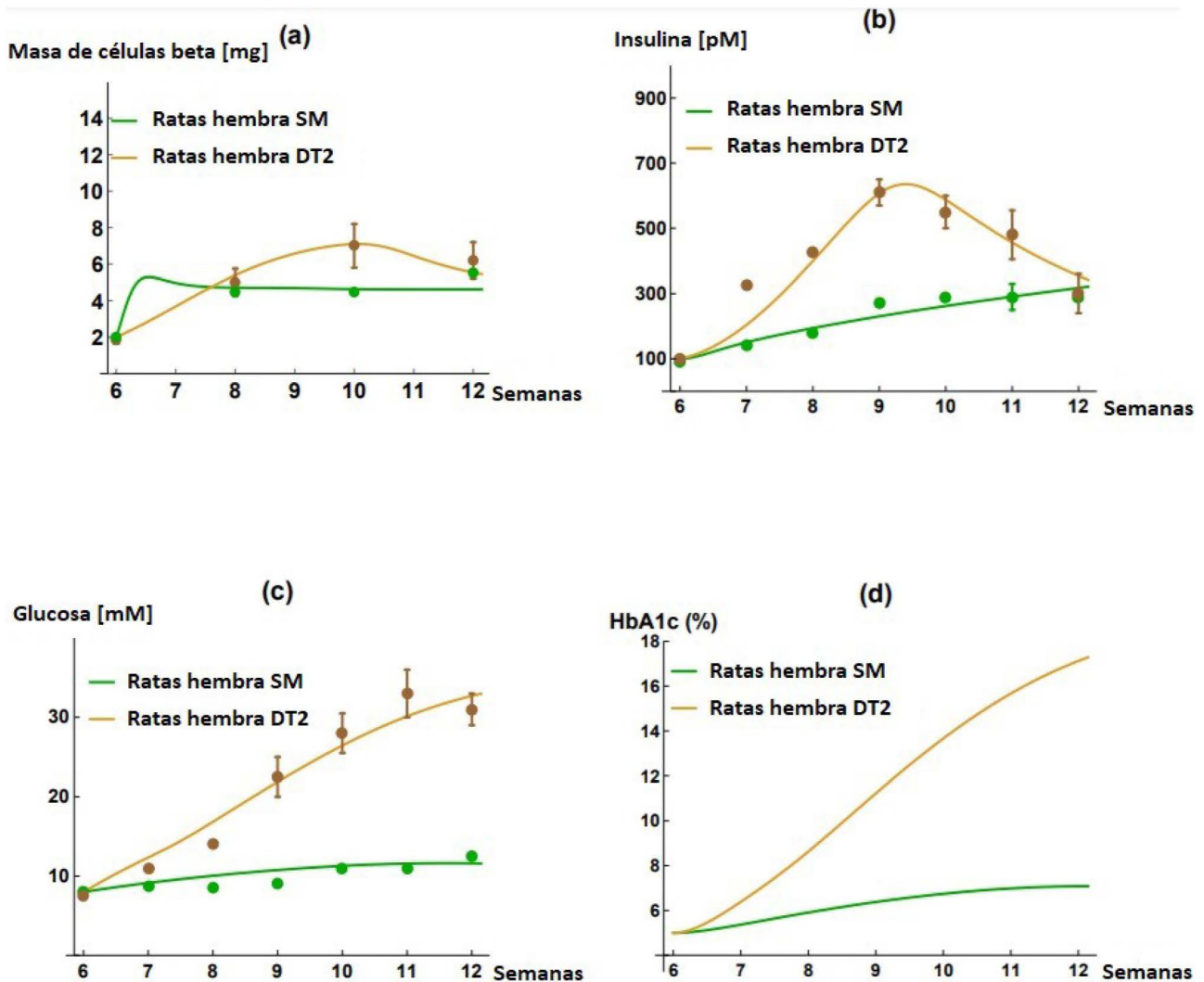


Figura 11. Comparación de las predicciones del modelo y datos experimentales[76] para la evolución de masa de células beta (fig 11a); niveles de insulina (fig 11b); glucosa en ayunas (fig 11c), para ratas hembra sujetas a una dieta normal y alta en grasas. Se observa similitud entre la teoría (líneas continuas) y los datos experimentales (puntos). Las predicciones para la evolución de los niveles de hemoglobina glucosilada se presentan en la figura 11d. En este último caso no hay datos experimentales disponibles.

5.2.4. Red conjunta de células beta y hepatocitos (figura 5): de salud a síndrome metabólico y diabetes tipo 2

La figura 12A muestra una transición de salud a síndrome metabólico (SM) en ambas células (pancreáticas y hepatocitos), que resulta del análisis de la figura 5, la secreción de insulina en las células beta pancreáticas tiene una ligera caída inicial, con un posterior aumento y el factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas ($\text{NF}\kappa\text{B}$) en ambos

tipos celulares incrementa su valor. Esto se llevó a cabo cuando incrementamos los niveles de expresión de la proteína de interacción con tiorredoxina (TXNIP) y los lipopolisacáridos en células beta y hepatocitos.

La figura 12B representa un deterioro rápido de salud hacia la diabetes tipo 2 (DT2) en células beta y hepatocitos, la secreción de insulina en células beta cae. La secreción de insulina y apoptosis en células beta tienen un comportamiento contrario, ya que un decremento en insulina corresponde a un incremento en apoptosis. Además, está presente la acción inflamatoria de TXNIP, $\text{NF}\kappa\text{B}$ y la respuesta a proteínas mal plegadas en ambos tipos celulares. Aumentamos los niveles de expresión de la interleucina 1 beta/ interleucina 6/factor de necrosis tumoral ($\text{IL1}\beta/\text{IL6}/\text{TNF}\alpha$) para inducir esta transición.

Al modificar las tasas de decaimiento de algunos nodos, como la proteína 1 de unión a X-box (XBP1), insulina, TXNIP y la respuesta a proteínas mal plegadas observamos transiciones entre estados de salud tanto en células beta como en hepatocitos, algunas transiciones tienen un comportamiento reversible, mostrando un tránsito entre un estado de enfermedad avanzado hasta uno mejorado.

La figura 13A representa una transición de salud a SM en células beta y hepatocitos, donde la secreción de insulina en células beta muestra un ligero incremento, así como $\text{NF}\kappa\text{B}$ y la respuesta a proteínas mal plegadas en ambos tipos celulares; la gluconeogénesis en hepatocitos y la apoptosis en células beta aumentan sus valores en el tiempo. Esto se logró gracias al incremento en la tasa de decaimiento del XBP1.

Al incrementar la tasa de decaimiento de la insulina (figura 13B), se obtuvo una transición de un estado de salud a uno de DT2 en hepatocitos y células beta. Comparado con la figura 13A, en este caso existe un decremento en la secreción de insulina y aumenta más rápido la apoptosis en células beta, TXNIP, $\text{NF}\kappa\text{B}$ y la respuesta a proteínas mal plegadas también aumentan en

ambos tipos celulares.

5.2.5. Red conjunta de células beta y hepatocitos (figura 5): de síndrome metabólico a diabetes tipo 2

En la figura 12D se observa que al reducir el nivel de activación de XBP1 y de potenciar la respuesta mal adaptativa del estrés del RE en células beta y hepatocitos en un estado inicial de síndrome metabólico (SM), hay una transición a un estado de diabetes tipo 2 (DT2), con un incremento en la apoptosis en células beta. Se observa que se mantiene incrementado el nivel de $\text{NF}\kappa\text{B}$ en ambos tipos celulares y la gluconeogénesis en hepatocitos.

5.2.6. Red conjunta de células beta y hepatocitos (figura 5): transición a un estado mejorado de salud

En la figura 12C se aumentó la capacidad de la respuesta adaptativa de la proteína 1 de unión a X-box (XBP1), inhibiendo la respuesta mal adaptativa del estrés del RE en ambos tipos celulares (células beta y hepatocitos). La gráfica muestra un estado inicial de síndrome metabólico (SM), y la posterior reducción del nivel de la respuesta a proteínas mal plegadas y de la proteína de interacción con tiorredoxina (TXNIP), transitando a un estado más sano.

Se muestran dos casos de mejoría en el estado de salud en células beta y hepatocitos en las figuras 13C y 13D. En la figura 13C incrementamos la tasa de decaimiento de TXNIP y de los lipopolisacáridos, como consecuencia, se inhibieron los valores de la respuesta a proteínas mal plegadas y el factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas ($\text{NF}\kappa\text{B}$) en ambos tipos celulares. En la figura 13D el valor de TXNIP disminuyó, aumentó el valor de XBP1 y se mantuvo el nivel de secreción de insulina en células beta pancreáticas. Esto último se logró cuando aumentamos la tasa de decaimiento de la respuesta a proteínas mal plegadas.

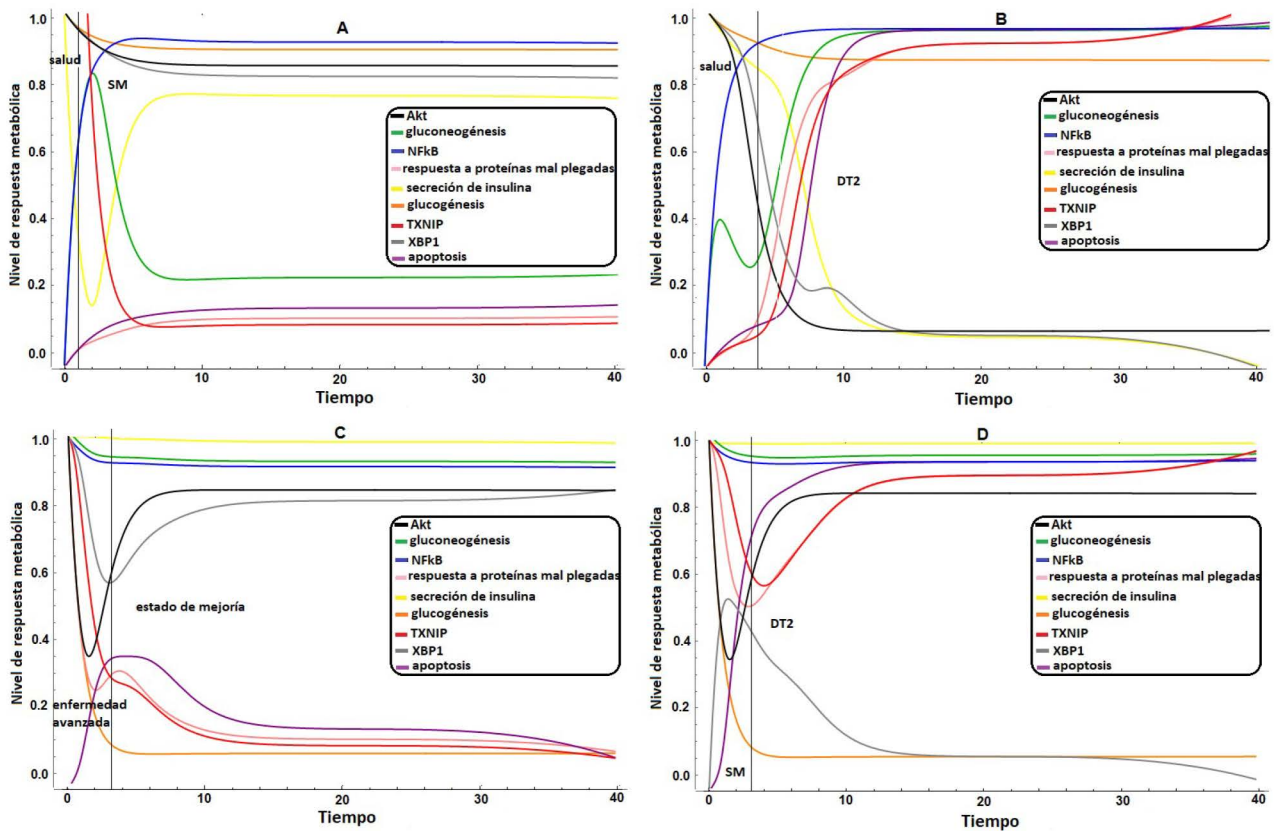


Figura 12. A) Evolución dinámica de salud a síndrome metabólico (SM) debido a un nivel aumentado de TXNIP y los lipopolisacáridos; todas las tasas de decaimiento $\alpha_k = 1$. B) Evolución dinámica de salud a diabetes tipo 2 (DT2) debido a un nivel aumentado de $IL1\beta/IL6/TNF\alpha$; todas las tasas de decaimiento $\alpha_k = 1$. C) De un estado avanzado de enfermedad asociado a SM a un estado mejorado de salud debido a un incremento de XBP1; todas las tasas de decaimiento $\alpha_k = 1$. D) Evolución dinámica de un estado de SM a uno de DT2 debido a una disminución en el nivel de XBP1; todas las tasas de decaimiento $\alpha_k = 1$. En todas las gráficas las líneas verticales negras representan un cambio de estado de salud a SM (Fig. 12 A), de salud a DT2 (Fig. 12 B), de SM avanzado a un estado de mejoría (Fig. 12C) y de SM a DT2 (Fig. 12 D). El eje x representa la evolución temporal asociada a la resolución de las ecuaciones diferenciales del modelo continuo.

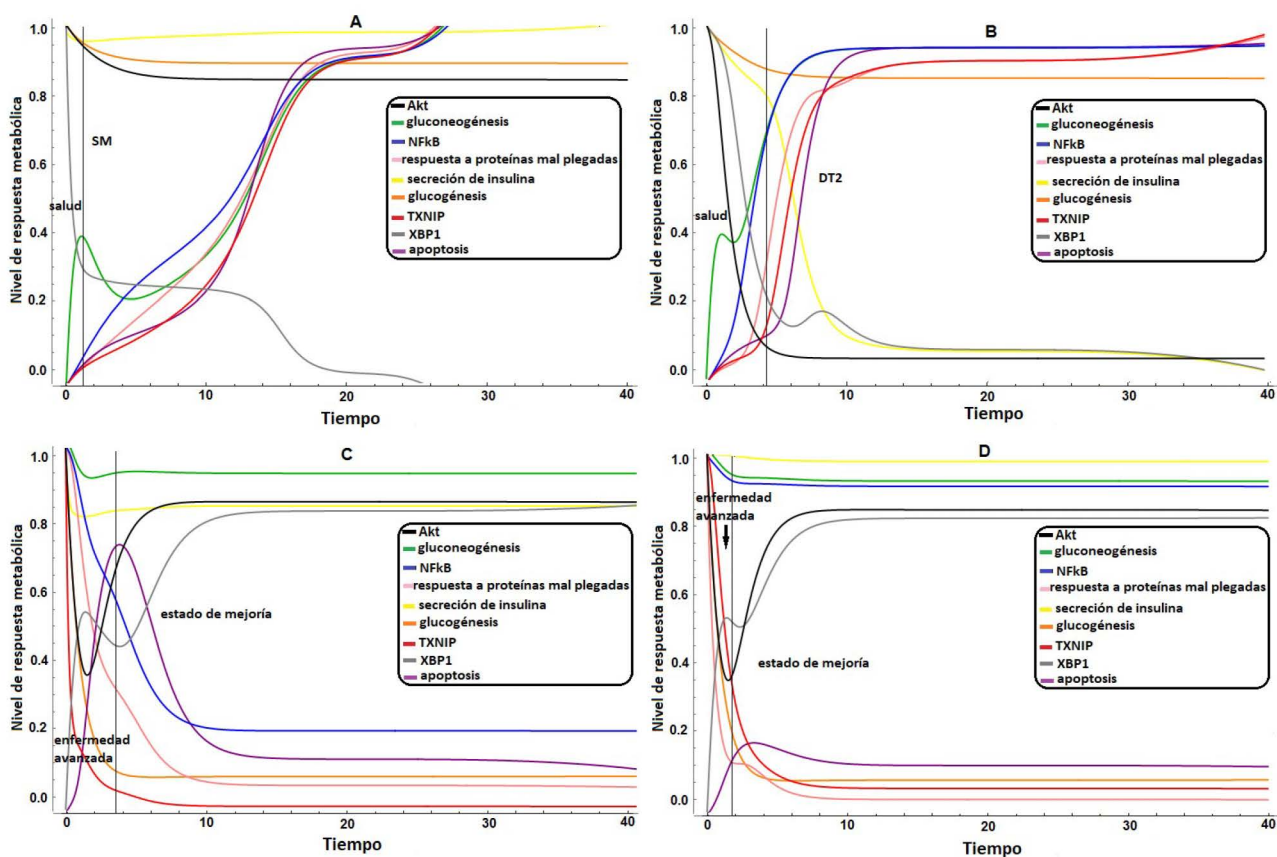


Figura 13. A) Evolución dinámica de salud a síndrome metabólico (SM) debido a un incremento en la tasa de decaimiento de XBP1. B) Evolución dinámica de salud a diabetes tipo 2 (DT2) debido a un nivel elevado de la tasa de decaimiento de la insulina. C) Evolución dinámica de un estado avanzado de enfermedad asociado a SM a uno de sintomatología mejorada debido a un incremento en la tasa de decaimiento de TXNIP y los lipopolisacáridos. D) Evolución dinámica de un estado avanzado de enfermedad asociado a SM a uno de mejoría debido a un incremento en la tasa de decaimiento de la respuesta a proteínas mal plegadas. En todas las gráficas las líneas verticales negras representan un cambio de estado de salud a SM (Fig. 13 A), de salud a DT2 (Fig. 13 B), de SM avanzado a un estado de mejoría (Fig. 13C y 13D). El eje x representa la evolución temporal asociada a la resolución de las ecuaciones diferenciales del modelo continuo.

Al igual que en los resultados de la dinámica de la red de células beta, el análisis de la red conjunta de células beta y hepatocitos que resulta de la figura 5 muestra la importancia de XBP1 y TXNIP en el tránsito entre estados estacionarios (salud, SM y DT2). La inhibición de XBP1 por medio del aumento de su tasa de decaimiento de expresión provoca una transición de salud a SM, mientras que la activación de este factor de transcripción conduce a una mejoría en el estado de salud. Por otro lado, el aumento en la expresión de TXNIP y los lipopolisacáridos se asocia con el tránsito de salud a SM y la inhibición de ambos provoca un efecto de reversión

de síndrome metabólico a salud.

Al aumentar los niveles de factores inflamatorios, como $IL1\beta/IL6/TNF\alpha$ en hepatocitos, se promueve el tránsito entre salud y DT2, debido a que una de sus acciones es la inhibición de Akt, con lo que se puede favorecer la gluconeogénesis y reprimir la glucogénesis hepática.

6. Discusión

Las interacciones entre nodos de mapas redes (figura 4 y figura 5) fueron inicialmente caracterizadas por reglas Booleanas que recuperan estados finales estables relacionados con la salud, el síndrome metabólico (SM) y la diabetes tipo 2 (DT2). Posteriormente, hicimos un análisis continuo para modelar la progresión de la enfermedad como una transición sucesiva entre estos estados estacionarios induciendo alteraciones en el microambiente celular (definido por cambios en los valores iniciales de componentes exógenos), o por agotamiento de elementos clave involucrados en las rutas de señalización (alterando las tasas de decaimiento de componentes endógenos). El análisis de las redes arrojó elementos claves involucrados en la progresión de la DT2, entre ellos, la proteína 1 de unión a X-box (XBP1) y la proteína de interacción con tiorredoxina (TXNIP), así como los lipopolisacáridos, la insulina y los factores inflamatorios: interleucina 1 beta/interleucina 6/factor de necrosis tumoral ($IL1\beta/IL6/TNF\alpha$).

XBP1 es uno de los principales componentes de la respuesta a proteínas mal plegadas, regula el estrés del RE y puede conducir a un incremento en el estado inflamatorio, así como al estrés del RE. A pesar de que el SM puede aumentar el riesgo de desarrollo de la DT2 [110, 111], en este trabajo se muestra que puede ocurrir el tránsito directo entre un estado de salud y uno de DT2 (figura 10D) al aumentar la tasa de decaimiento de expresión de XBP1; como resultado, la secreción de la insulina disminuye y la apoptosis aumenta. Se ha visto que la exposición crónica a niveles altos de glucosa fomentan la actividad cinasa de ($IRE1\alpha$), incrementa el proceso de splicing del XBP1 y conducen a apoptosis en las células beta. Existen componentes que selec-

tivamente se dirigen hacia IRE1 α con la finalidad de inhibir el proceso de “splicing” del XBP1. Este tipo de técnicas de inhibición del splicing en XBP1 ha emergido como un tratamiento potencial de enfermedades metabólicas[112].

TXNIP regula la homeostasis metabólica a través de múltiples mecanismos. Modula negativamente la actividad de las proteínas tiorredoxinas, controladoras del balance celular de especies reactivas de oxígeno[113]. TXNIP es sobre expresado en DT2, mientras que su deficiencia protege contra diabetes tipo 1 y 2, al prevenir la apoptosis de células beta [114], haciendo que este sea un blanco terapeutico emergente para promover la masa de células beta y su producción de insulina [115, 113]. Algunos estudios experimentales han mostrado evidencia farmacológica y genética de los efectos benéficos de la inhibición de TXNIP y su habilidad no para prevenir, si no para mejorar la condición de salud en DT2 [116, 115]. Se ha documentado que los bloqueadores de canales de calcio (verapamil) inhiben la expresión de TXNIP y la apoptosis de células beta [116]. La posibilidad de mejorar la sintomatología de la DT2 a través de la inhibición de TXNIP concuerda con las predicciones teóricas de nuestro modelo (figuras 10C y 13C).

En el caso de la sobre expresión de los lipopolisacáridos, es evidente una transición de salud a SM (figura 12A) y el comportamiento opuesto es observado en las figuras 10C y 13C, donde incrementamos la tasa de decaimiento de lipopolisacáridos y hubo una mejora en la condición reportada de SM. Se ha reportado que los lipopolisacáridos se pueden activar por exceso de ácidos grasos, llevando a un estado de inflamación [51, 52, 53].

En la figura 12B se aprecia que un elevado nivel de IL1 β /IL6/TNF α produce una transición entre un estado de salud a uno de DT2. Se ha reportado que estas citocinas pueden producir inflamación, decremento en la secreción de insulina y apoptosis al ser activadas por el factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF κ B) en células beta y hepatocitos [8].

Un incremento en la tasa de decaimiento de la insulina produce una transición entre salud y DT2 (figura 13B). La insulina ha sido reportada como un factor cuya producción puede estimular la secreción de la misma en células beta y aumentar la tolerancia a la glucosa [18, 19, 20], su inhibición produce un efecto contrario y está relacionada con el desarrollo de la DT2.

Los hallazgos de este trabajo están limitados por el diseño de las redes consideradas. Estas redes pueden ser complementadas con elementos que aporten más detalle a la descripción de los mecanismos celulares involucrados en el desarrollo de la DT2. Así mismo, se puede incrementar la complejidad del presente trabajo introduciendo redes que representen al tejido adiposo y muscular, en donde la captación de glucosa es dependiente de la correcta señalización de insulina y participan de manera importante en el desarrollo del SM y la DT2 mediante distintos procesos como la resistencia a la insulina, que promueve la hiperglucemia y la producción de citocinas pro-inflamatorias que genera el tejido adiposo.

7. Conclusiones

Las redes reguladoras propuestas reflejan vías de señalización en células beta pancreáticas, como la secreción de insulina, el estrés del retículo endoplásmico, la producción de ATP en la glucólisis, la inflamación e inhibición de la señalización de insulina y la glucosa intracelular, mientras que en los hepatocitos se reflejan las vías de señalización de la síntesis de triglicéridos, producción de ATP en la glucólisis, inflamación y gluconeogénesis, estrés del retículo endoplásmico y glucosa intracelular e inhibición de la glucogénesis. Ambas redes dilucidan elementos centrales involucrados en la diabetes tipo 2 (DT2). Nuestro modelo caracteriza la evolución de la enfermedad como transiciones de estados de salud a síndrome metabólico (SM) y DT2.

Logramos identificar factores clave en la progresión de la enfermedad, la proteína 1 de unión a X-box (XBP1), que al ser inhibida induce la respuesta mal adaptativa relacionada con la ac-

tivación de PERK y la apoptosis en células beta, promoviendo el tránsito hacia DT2. Otro de los factores clave encontrados fue la proteína de interacción con tiorredoxina (TXNIP). Nuestro análisis es congruente con hallazgos previos que reportan terapias potenciales basadas en bloqueadores de calcio, como el verapamil, que inhibe la expresión de TXNIP y la apoptosis en células beta. La conjunción de este análisis con modelos matemáticos para describir datos experimentales en modelos animales hace posible la predicción de masa de células beta, insulinemia, glucemia y hemoglobina glicosilada en ratas diabéticas.

Referencias

- [1] “Global report on diabetes,” <http://www.who.int/diabetes/global-report/en/>.
- [2] M. Velasco, C. Díaz-García, C. Larqué, and M. Hiriart, “Modulation of ionic channels and insulin secretion by drugs and hormones in pancreatic beta cells,” *Molecular Pharmacology*, vol. 90, 2016.
- [3] A. Lusic, A. Attie, and K. Reue, “Metabolic syndrome: from epidemiology to systems biology,” *Nature reviews. Genetics*, vol. 9, 2008.
- [4] C. Rask-Madsen and C. Kahn, “Tissue-specific insulin signaling, metabolic syndrome, and cardiovascular disease,” *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 32, pp. 2052–2059, 2012.
- [5] M. Hiriart, M. Velasco, C. Larqué, and C. Diaz-Garcia, “Metabolic syndrome and ionic channels in pancreatic beta cells,” *Vitamins and Hormones*, vol. 95, pp. 87–114, 2014.
- [6] A. Chadt and H. Al-Hasani, “Glucose transporters in adipose tissue, liver, and skeletal muscle in metabolic health and disease,” *Eur J Physiol*, vol. 472, pp. 1273–1298, 2020.
- [7] A. Pradhan, J. Manson, N. Rifai, J. Buring, and R. PM, “C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus,” *Jama*, vol. 286, 2001.

- [8] M. Donath and S. Shoelson, “Type 2 diabetes as an inflammatory disease,” *Nature Publishing Group*, vol. 11, pp. 98–107, 2011.
- [9] P. Dandona, “Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes,” *Trends in Immunology*, vol. 25, 2004.
- [10] C. Taniguchi, B. Emanuelli, and C. Kahn, “Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action,” *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 7, pp. 85–96, 2006.
- [11] P. Walter and D. Ron, “The unfolded protein response: From stress pathway to homeostatic regulation,” *Science*, vol. 334, pp. 1081–1086, 2011.
- [12] H. Kadowaki and H. Nishitoh, “Signaling pathways from the endoplasmic reticulum and their roles in disease,” *Genes*, vol. 4, pp. 306–333, 2013.
- [13] J. Lee and U. Ozcan, “Unfolded protein response signaling and metabolic diseases,” *The Journal Of Biological Chemistry*, vol. 289, pp. 1203–1211, 2014.
- [14] N. Rabhi, E. Salas, P. Frogue, and J. S. Annicotte, “Role of the unfolded protein response in β cell compensation and failure during diabetes,” *Journal of Diabetes Research*, vol. 2014, p. 795171, 2014.
- [15] B. Thorens, “Glut2, glucose sensing and glucose homeostasis,” *Diabetologia*, vol. 58, pp. 221–232, 2015.
- [16] M. Prentki, F. Matschinsky, and M. Madiraju, “Metabolic signaling in fuel-induced insulin secretion,” *Cell Metabolism*, vol. 18, 2013.
- [17] E. Stolarczyk, M. Le Gall, P. Even, A. Houllier, P. Serradas, E. Brot-Laroche, and A. Leturque, “Loss of sugar detection by glut2 affects glucose homeostasis in mice,” *Plos One*, vol. 2, p. e1288, 2007.

- [18] S. Martinez, C. Cras-Meneur, E. Bernal-Mizrachi, and A. Permutt, "Glucose regulates foxo1 through insulin receptor signaling in the pancreatic islet -cell," *Diabetes*, vol. 55, 2006.
- [19] R. Tuttle, M. Gill, W. Pugh, J. Lee, B. Koeberlein, E. Furth, K. Polonsky, A. Naji, and M. Birnbaum, "Regulation of pancreatic β -cell growth and survival by the serine/threonine protein kinase akt1/pkb," *Nature Medicine*, vol. 7, pp. 1133–1137, 2001.
- [20] G. Kops and B. Burgering, "Forkhead transcription factors are targets of signalling by the proto-oncogene pkb (c-akt)," *J. Anat.*, vol. 197, p. 571–574, 2000.
- [21] R. Mackenzie and B. Elliott, "Akt/pkb activation and insulin signaling: a novel insulin signaling pathway in the treatment of type 2 diabetes," *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, vol. 7, pp. 55–64, 2014.
- [22] P. J. Klover and R. A. Mooney, "Hepatocytes: critical for glucose homeostasis," *International Journal of Biochemistry Cell Biology*, vol. 36, pp. 753–758, 2004.
- [23] R. Maser, M. Lenhard, R. Pohling, and B. Balagopal, "Pre-heparin lipoprotein lipase mass as a potential mediator in the association between adiponectin and hdl-cholesterol in type 2 diabetes," *Journal of clinical and traslational endocrinology*, vol. 7, pp. 7–11, 2017.
- [24] K. R., "Lipids and lipoproteins in patients with type 2 diabetes," *Diabetes Care*, vol. 27, pp. 1496–1504, 2014.
- [25] M. Sajan, S. Nimal, S. Mastorides, M. Acevedo, R. Kahn, A. Fields, U. Braun, M. Leitges, and R. Farese, "Correction of metabolic abnormalities in a rodent model of obesity, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus by inhibitors of hepatic protein kinase c," *Metabolism*, vol. 61(4), pp. 459–69, 2012.
- [26] A. Henkel and R. Green, "The unfolded protein response in fatty liver disease," *Semin Liver Dis.*, vol. 33, p. 321–329, 2013.

- [27] D. Muoio and C. Newgard, “Mechanisms of disease: Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and β -cell failure in type 2 diabetes,” *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 9, 2008.
- [28] Y. Deuk, K. Park, Y. Lee, Y. Park, D. Kim, B. Nedumaran, W. Jang, W. Cho, J. Ha, I. Lee, C. Lee, and H. Choi, “Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis through amp-activated protein kinase-dependent regulation of the orphan nuclear receptor shp,” *Diabetes*, vol. 57, p. 306–314, 2008.
- [29] M. AB, H. RS, D. S, L. V, B. D, C. GW, E. S, I. SE, S. GI, and P. KF, “The effects of rosiglitazone on insulin sensitivity, lipolysis, and hepatic and skeletal muscle triglyceride content in patients with type 2 diabetes,” *Diabetes*, vol. 51, p. 797–802, 2002.
- [30] M. Y, M. A, M. M, M. S, H. J, C. K, M. LJ, and D. RA, “Effect of pioglitazone on abdominal fat distribution and insulin sensitivity in type 2 diabetic patients,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 87, pp. 2784–2791, 2002.
- [31] T. Yamamoto, K. Watanabe, N. Inoue, Y. Nakagawa, N. Ishigaki, T. Matsuzaka, Y. Takeuchi, K. Kobayashi, S. Yatoh, A. Takahashi, H. Suzuki, N. Yahagi, T. Gotoda, N. Yamada, and H. Shimano, “Protein kinase c beta mediates hepatic induction of sterol-regulatory element binding protein-1c by insulin,” *Journal of Lipid Research*, vol. 51, p. 1859–1870, 2010.
- [32] S. Khadke, A. Kuvalekar, A. Harsulkar, and N. Mantri, “High energy intake induced overexpression of transcription factors and its regulatory genes involved in acceleration of hepatic lipogenesis: a rat model for type 2 diabetes,” *Biomedicines*, vol. 7(4), 2019.
- [33] M. Matsumoto, W. Ogawa, K. Akimoto, H. Inoue, K. Miyake, K. Furukawa, Y. Hayashi, H. Iguchi, Y. Matsuki, R. Hiramatsu, H. Shimano, N. Yamada, S. Ohno, M. Kasuga, , and T. Noda6, “Pkc in liver mediates insulin-induced srebp-1c expression and determines both hepatic lipid content and overall insulin sensitivity,” *J Clin Invest*, vol. 112(6), pp. 935–944, 2003.

- [34] I. Leibiger, B. Leibiger, and P. Berggren, “Insulin feedback action on pancreatic beta-cell function,” *FEBS Letters*, vol. 532, pp. 1–6, 2002.
- [35] Y. Chiu, T. Hua, Y. Fu, P. Pasricha, and S. Tang, “3-d imaging and illustration of the perfusive mouse islet sympathetic innervation and its remodelling in injury,” *Diabetologia*, vol. 55, p. 3252–3261, 2012.
- [36] B. Ahren, N. Wierup, and F. Sundler, “Neuropeptides and the regulation of islet function,” *DIABETES*, vol. 55, pp. s98–s107, 2006.
- [37] D. Koh, J. Cho, and L. Chen, “Paracrine interactions within islets of langerhans,” *Journal of Molecular Neuroscience*, vol. 48, 2012.
- [38] L. Phillips and J. Prins, “Modulation of ionic channels and insulin secretion by drugs and hormones in pancreatic beta cells,” *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1243, p. E55–E74, 2011.
- [39] L. Baggio and D. Drucker, “Biology of incretins: Glp-1 and gip,” *Gastroenterology*, vol. 132, p. 2131–2157, 2007.
- [40] B. Ahren, “Dpp-4 inhibition and islet function,” *J Diabetes Invest*, vol. 3, 2012.
- [41] J. Tong, H. Davis, A. Gastaldelli, and D. D’Alessio, “Ghrelin impairs prandial glucose tolerance and insulin secretion in healthy humans despite increasing glp-1,” *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 101, p. 2405–2414, 2016.
- [42] G. Pradhan, C. Wu, J. Lee, P. Kanikarla, S. Guo, V. Yechoor, S. Samson, and Y. Sun, “Obestatin stimulates glucose induced insulin secretion through ghrelin receptor ghs-r,” *Scientific Reports*, vol. 7, 2017.
- [43] M. Velasco, C. Larque, G. Gutierrez-Reyes, R. Arredondo, C. Sanchez-Soto, and M. Hiriart, “Metabolic syndrome induces changes in katp-channels and calcium currents in pancreatic beta-cells,” *Islets*, vol. 4, p. 302–311, 2012.

- [44] C. Nolan, M. Madiraju, V. Delghingaro-Augusto, M. Peyot, and M. Prentki, “Fatty acid signaling in the β -cell and insulin secretion,” *DIABETES*, vol. 55, pp. S16–S23, 2006.
- [45] I. Leclerc, G. Rutter, G. Meur, and N. Noorde, “Roles of ca ions in the control of chrebp nuclear translocation,” *Journal of Endocrinology*, vol. 213, p. 115–122, 2012.
- [46] N. Noorden, G. Meur, G. Rutter, and I. Leclerc, “Glucose-induced nuclear shuttling of chrebp is mediated by sorcin and ca ions in pancreatic b cells,” *DIABETES*, vol. 61, 2012.
- [47] K. WE, H. JA, D. BD, K. KJ, W. MB, M. JS, B. CW, H. S, S. GP, O. JD, K. KR, and S. CA, “Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins,” *N Engl J Med*, vol. 347, pp. 1483–1492, 2002.
- [48] G. Hotamisligil, “Inflammation and metabolic disorders,” *Nature*, vol. 444, 2006.
- [49] Vives-Pi, N. Somoza, J. Fernández-Alvarez, F. VARGAS, P. Caro, A. Gomis, M. Labeta, and R. Pujol-Borrell, “Evidence of expression of endotoxin receptors cd14, toll-like receptors tlr4 and tlr2 and associated molecule md-2 and of sensitivity to endotoxin (lps) in islet beta cells,” *Clin Exp Immunol*, vol. 133, p. :208–218, 2003.
- [50] H. Garay-Malpartida, H. Mourao, M. , Mantovani, I. Santos, M. Sogayar, and A. Goldberg, “Toll-like receptor 4 (tlr4) expression in human and murine pancreatic beta-cells affects cell viability and insulin homeostasis,” *BMC Immunology.*, pp. 12–18, 2011.
- [51] A. Guilherme, J. Virbasius, P. Vishwajeet, and M. Czech, “Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes,” *Nature Reviews Molecular*, vol. 9, 2008.
- [52] M. Laat, K. Gruntmeir, C. Pollitt, C. McGowan, M. Sillence, and V. Lacombe, “Hyperinsulinemia down-regulates tlr4 expression in the mammalian heart,” *Frontiers in Endocrinology*, vol. 5, 2014.
- [53] B. Jayashree, Y. Bibin, D. Prabhu, C. Shanthirani, K. Gokulakrishnan, B. Lakshmi, V. Mohan, and M. Balasubramanyam, “Increased circulatory levels of lipopolysaccharide

- (Ips) and zonulin signify novel biomarkers of proinflammation in patients with type 2 diabetes,” *Mol Cell Biochem*, vol. 388, p. 203–210, 2014.
- [54] D. Fang, Z. Huang, H. Guan, L. Jianbin, B. Yao, H. Xiao, and Y. Li, “The akt/foxo1/p27 pathway mediates the proliferative action of liraglutide in β cells,” *Molecular Medicine Reports*, vol. 5, pp. 233–238, 2011, <https://doi.org/10.3892/mmr.2011.607>.
- [55] T. Kitamura and Y. Kimamura, “Role of foxo proteins in pancreatic beta cells,” *Endocrine Journal*, vol. 54, pp. 507–515, 2007.
- [56] S. Shoelson, J. Lee, and A. Goldfine, “Inflammation and insulin resistance,” *J. Clin. Invest.*, vol. 116, p. 1793–1801, 2006.
- [57] M. Andrews Guzmán, M. Arredondo Olguín, and M. Olivares Gronhert, “Glycemic control and oxidative stress markers and their relationship with the thioredoxin interacting protein (txnip) gene in type 2 diabetic patients,” *Nutricion hospitalaria*, vol. 31, 2015.
- [58] A. Lerner, J. Upton, P. Praveen, R. Ghosh, Y. Nakagawa, A. Igarria, S. Shen, V. Nguyen, B. Backes, M. Heiman, N. Heintz, P. Greengard, S. Hui, Q. Tang, A. Trusina, S. Oakes, and F. Papa, “Ire1 α induces thioredoxin-interacting protein to activate the nlrp3 inflammasome and promote programmed cell death during endoplasmic reticulum stress,” *Cell Metab*, vol. 16, p. 250–264, 2012.
- [59] G. Leibowitz, A. Ktorza, and K. Cerasi, “The role of txnip in the pathophysiology of diabetes and its vascular complications: a concise review,” *Medicographia*, vol. 36, pp. 391–397, 2014.
- [60] Y. Chen and F. Brandizzi, “Ire1:er stress sensor and cell fate executor,” *Trends Cell Biol.*, vol. 23, 2013.
- [61] N. Rabhi, E. Salas, P. Froguel, and A. JS, “Role of the unfolded protein response in β cell compensation and failure during diabetes,” *Journal of Diabetes Research*, 2014.

- [62] C. Hetz, “The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under er stress and beyond,” *Nat Rev Mol Cell Bio*, vol. 13, p. 89–102, 2012.
- [63] M. Usui, S. Yamaguchi, Y. Tanji, R. Tominaga, Y. Ishigaki, M. Fukumoto, H. Kata-giri, K. Mori, Y. Oka, and H. Ishihara, “Atf6 α -null mice are glucose intolerant due to pancreatic β -cell failure on a high-fat diet but partially resistant to diet-induced insulin resistance,” *Metabolism*, vol. 61, pp. 1118–28, 2012.
- [64] C. J. Nolan, P. Damm, and M. Prentki, “Type 2 diabetes across generations: from pat-hophysiology to prevention and management,” *Lancet*, vol. 378, pp. 169–81, 2011.
- [65] M. Prentki and C. Nolan, “Islet b cell failure in type 2 diabetes,” *The journal of clinical investigation*, vol. 116, 2006.
- [66] M. R, M. H, D. B, Y. G, V. H, W. S, and M. G, “Identification of novel diabetes impaired mirna-transcription factor co-regulatory networks in bone marrow-derived lin-/vegfr2+ endothelial progenitor cells,” *Plos One*, vol. 13(7), 2018.
- [67] A. Bhaduri, A. Ungewickell, L. Boxer, V. Lopez-Pajares, B. Zarnegar, and P. Khava-ri, “Network analysis identifies mitochondrial regulation of epidermal differentiation by mpzl3 and fdxr,” *Dev Cell*, vol. 35, 2016.
- [68] O. Resendis-Antonio, C. González-Torres, G. Jaime-Muñoz, C. Hernandez-Patiño, and C. Salgado-Muñoz, “Modeling metabolism: A window toward a comprehensive interpre-tation of networks in cancer,” *Seminars in Cancer Biology*, vol. 30, pp. 79–87, 2015.
- [69] E. Jablonka and M. Lamb, “The changing concept of epigenetics,” *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 981, pp. 82–96, 2002.
- [70] J. Wang, K. Zhang, L. Xu, and E. Wang, “Quantifying the waddington landscape and bio-logical paths for development and differentiation,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 108, 2011.

- [71] W. C. H., *The Strategy of the Genes*. Allen Unwin, 1957.
- [72] V. Prana, P. Tieri, M. C. Palumbo, E. Mancini, and F. Castiglione, “Modeling the effect of high calorie diet on the interplay between adipose tissue, inflammation, and diabetes,” *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, vol. 2019, p. ID 7525834, 2019.
- [73] B. Topp, K. Promislow, G. De Vries, R. M. Miura, and D. T. Finegood, “A model of β -cell mass, insulin, and glucose kinetics: Pathways to diabetes,” *Journal of Theoretical Biology*, vol. 206, pp. 605–619, 2000.
- [74] J. Ha, L. S. Satin, and S. S. Sherman, “A mathematical model of the pathogenesis, prevention, and reversal of type 2 diabetes,” *Endocrinology*, vol. 157, pp. 624–635, 2016.
- [75] B. G. Topp, M. D. · McArthur, and D. T. Finegood, “Metabolic adaptations to chronic glucose infusion in rats,” *Diabetologia*, vol. 47, pp. 1602–1610, 2004.
- [76] B. G. Topp, L. L. · Atkinson, and D. T. Finegood, “Dynamics of insulin sensitivity, β -cell function, and β -cell mass during the development of diabetes in fa/fa rats,” *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, vol. 293, pp. E1730–E1735, 2007.
- [77] G. Cedersund and P. Stralfors, “Putting the pieces together in diabetes research: Towards a hierarchical model of whole-body glucose homeostasis,” *European journal of pharmaceutical sciences*, vol. 36, p. 91–104, 2009.
- [78] E. Nyman, C. Brannmark, R. Palmer, J. Brugard, F. H. Nystrom, P. Stralfors, and G. Cedersund, “A hierarchical whole-body modeling approach elucidates the link between in vitro insulin signaling and in vivo glucose homeostasis,” *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 286, p. 26028–26041, 2011.
- [79] E. Nyman, G. Cedersund, and P. Stralfors, “Insulin signaling – mathematical modeling comes of age,” *Trends in Endocrinology and Metabolism*, vol. 23, pp. 1043–2760, 2012.

- [80] E. Nyman, M. Rohini, S. Fagerholm, C. Brannmark, and P. Stralfors, “A single mechanism can explain network-wide insulin resistance in adipocytes from obese patients with type 2 diabetes,” *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 289, p. 33215–33230, 2014.
- [81] N. Le Novere, “Quantitative and logic modelling of gene and molecular networks,” *Nat Rev Genet*, vol. 16, pp. 146–158, 2015.
- [82] I. Ajmera, M. Swat, C. Laibe, N. Le Novère, , and V. Chelliah, “The impact of mathematical modeling on the understanding of diabetes and related complications,” *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, vol. 2, p. e54, 2013, <https://doi.org/10.1038/psp.2013.30>.
- [83] C. Z. W. Hassell Sweatman, “Mathematical model of diabetes and lipid metabolism linked to diet, leptin sensitivity, insulin sensitivity and vldltg clearance predicts paths to health and type ii diabetes,” *Journal of Theoretical Biology*, vol. 486, p. 110037, 2020.
- [84] P. Palumbo, S. Ditlevsen, A. Bertuzzi, and A. De Gaetano, “Mathematical modeling of the glucose–insulin system: A review,” *Mathematical Biosciences*, vol. 244, p. 69–81, 2013.
- [85] E. Nyman, Y. Rozendaal, G. Helmlinger, B. Hamre, M. Kjellsson, P. Stralfors, N. Riel, P. Gennemark, and G. Cedersund, “Requirements for multi-level systems pharmacology models to reach end usage: the case of type 2 diabetes,” *Interface Focus*, vol. 6, p. 20150075, 2016.
- [86] R. S. Wang, A. Saadatpour, and R. Albert, “Boolean modeling in systems biology: an overview of methodology and applications,” *Phys. Biol.*, vol. 9, p. 055001, 2012.
- [87] R. Albert and J. Thakar, “Boolean modeling: a logic-based dynamic approach for understanding signaling and regulatory networks and for making useful predictions,” *WIREs Syst Biol Med*, vol. 6, pp. 353–369, 2014.
- [88] S. Kauffman, “Metabolic stability and epigenesis in randomly constructed genetics nets,” *Journal of theoretical biology*, vol. 22, pp. 437–467, 1969.

- [89] C. Villarreal, P. Padilla-Longoria, and E. Alvarez-Buylla, “General theory of genotype to phenotype mapping: Derivation of epigenetic landscapes from n-node complex gene regulatory networks,” *Physical Review Letters*, vol. 109, pp. 1–5, 2012.
- [90] E. Alvarez-Buylla, A. Chaos, M. Aldana, M. Benítez, Y. Cortes-Poza, and C. e. a. Espinosa-Soto, “Floral morphogenesis: Stochastic explorations of a gene network epigenetic landscape,” *PLoS ONE*, vol. 3, 2008.
- [91] M. Martinez-Sanchez, L. Mendoza, C. Villarreal, and E. Alvarez-Buylla, “A minimal regulatory network of extrinsic and intrinsic factors recovers observed patterns of cd4+ t cell differentiation and plasticity,” *PLoS Computational Biology*, vol. 11, pp. 1–23, 2015.
- [92] J. Enciso, H. Mayani, L. Mendoza, and P. R., “Modeling the pro-inflammatory tumor microenvironment in acute lymphoblastic leukemia predicts a breakdown of hematopoietic-mesenchymal communication networks,” *Frontiers in Physiology*, vol. 7, 2016.
- [93] L. Glass and S. A. Kauffman, “The logical analysis of continuous, non-linear biochemical control networks,” *Journal of Theoretical Biology*, vol. 39, pp. 103–129, 1973.
- [94] L. Glass, “Classification of biological networks by their qualitative dynamics,” *Journal of Theoretical Biology*, vol. 54, pp. 85–107, 1975.
- [95] L. Zadeh, “Fuzzy sets,” *Information and control*, vol. 8, pp. 228–353, 1965.
- [96] B. Kosko, “Fuzziness versus probability,” *Int. J. Gen. Syst.*, vol. 17, pp. 211–240, 1990.
- [97] D. Dubois, S. Moral, and Prade, “A semantics for possibility theory based on likelihoods,” *J. Math. Anal. Appl.*, vol. 205, pp. 359–380, 1997.
- [98] V. Novak, I. Perfilieva, and J. Mockor, *Mathematical Principles of Fuzzy Logic*. Czech Republic: Springer US, 1999.

- [99] L. Mendoza and Xenarios, “A method for the generation of standardized qualitative dynamical systems of regulatory networks,” *Theoretical Biology and Medical Modelling*, vol. 3:13, pp. 1–18, 2006.
- [100] J. Enciso, R. Pelayo, and C. Villarreal, “From discrete to continuous modeling of lymphocyte development and plasticity in chronic diseases,” vol. 10, 2019.
- [101] H. Haken, “Cooperative phenomena in systems far from thermal equilibrium and in nonphysical systems,” *Rev. Mod. Phys.*, vol. 47, pp. 67–121, 1975.
- [102] ———, *Synergetics An Introduction Nonequilibrium Phase Transitions and Self-Organization in Physics, Chemistry and Biology*. Berlin: Springer-Verlag, 1978.
- [103] A. De Gaetano, T. Hardy, B. Beck, E. Abu-Raddad, P. Palumbo, J. Bue-Valleskey, and N. Porksen, “Mathematical models of diabetes progression,” *Am J Physiol Endocrinol Metab*, vol. 295, p. E1462–E1479, 2008.
- [104] T. Hardy, E. Abu-Raddad, E. Porksen, and A. De Gaetano, “Evaluation of a mathematical model of diabetes progression against observations in the diabetes prevention program,” *Am J Physiol Endocrinol Metab*, vol. 303, p. E200–E212, 2012.
- [105] J. Davila-Velderrain, C. Villarreal, and E. Alvarez-Buylla, “Reshaping the epigenetic landscape during early flower development: induction of attractor transitions by relative differences in gene decay rates,” *BMC systems biology*, vol. 9, 2015.
- [106] L. Mendoza and A. Mendez, “A dynamical model of the regulatory network controlling lymphopoiesis,” *Biosystems*, vol. 137, pp. 26–33, 2015.
- [107] A. Mendez and L. Mendoza, “A network model to describe the terminal differentiation of b cells.” *PLOS Computational Biology*, vol. 12:e1004696, 2016.
- [108] V. Hernández-Hernández, R. A. Barrio, M. Benítez, N. Nakayama, J. R. Romero-Arias, and V. C, “A physico-genetic module for the polarisation of auxin efflux carriers pin-formed (pin),” *Physical Biology*, vol. 15 (036002), pp. 1–17, 2018.

- [109] M. Martinez-Sanchez, L. Huerta, E. Alvarez-Buylla, and C. Villarreal, “Role of cytokine combinations on cd4+ t cell differentiation, partial polarization and plasticity: continuous network modeling approach,” *Frontiers in Physiology*, vol. 9 (877), pp. 1–14, 2018.
- [110] K. Nsiah, V. O. Shang, and K. A. Boateng, “Prevalence of metabolic syndrome in type 2 diabetes mellitus patients,” *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, vol. 5, 2015.
- [111] P. Saeedia, I. Petersohna, P. Salpeaa, B. Malandaa, S. Karuranga, N. Unwinb, S. Colagiuric, L. Guariguatad, A. A. Motalae, K. Ogurtsovaf, J. E. Shawg, D. Brighth, and R. Williamsh, “Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the international diabetes federation diabetes atlas, 9th edition,” *Diabetes Research and Clinical Practice*, vol. 157, 2019.
- [112] C. Piperi, C. Adamopoulos, and A. G. Papavassiliou., “Xbp1: A pivotal transcriptional regulator of glucose and lipid metabolism.” *Trends in Endocrinology and Metabolism*, vol. 27, p. 8885–8890, 2016.
- [113] N. Alhawiti, S. Al Mahri, A. Azhar, and S. Shafi, “Txnip in metabolic regulation: Physiological role and therapeutic outlook.” *Current Drug Targets*, vol. 18, pp. 1095–1103, 2017.
- [114] G. Xu, J. Chen, G. Jing, and A. Shalev, “Thioredoxin-interacting protein regulates insulin transcription through microrna-204,” *Nature Medicine*, vol. 19, 2013.
- [115] A. Shalev, “Thioredoxin-interacting protein: Regulation and function in the pancreatic β cell,” *Mol Endocrinol*, vol. 28(8), pp. 1211–1220, 2014.
- [116] G. Xu, J. Chen, G. Jing, and A. Shalev., “Preventing β -cell loss and diabetes with calcium channel blockers,” *DIABETES*, vol. 61, pp. 848–856, 2012.

Apéndices

A. Artículo publicado

Type 2 diabetes progression: A regulatory network approach

Cite as: Chaos 30, 093132 (2020); <https://doi.org/10.1063/5.0011125>

Submitted: 17 April 2020 . Accepted: 17 August 2020 . Published Online: 18 September 2020

M. Barrera, M. Hiriart, G. Cocho, and C. Villarreal 



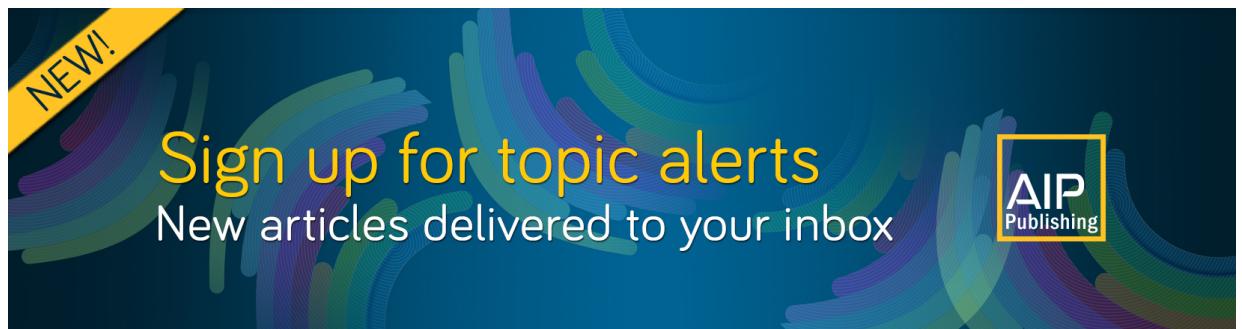
View Online



Export Citation



CrossMark



NEW!

Sign up for topic alerts

New articles delivered to your inbox

AIP Publishing



Type 2 diabetes progression: A regulatory network approach

Cite as: Chaos 30, 093132 (2020); doi: 10.1063/5.0011125

Submitted: 17 April 2020 · Accepted: 17 August 2020 ·

Published Online: 18 September 2020



View Online



Export Citation



CrossMark

M. Barrera,¹ M. Hiriart,^{2,a)} G. Cocho,^{3,b)} and C. Villarreal^{3,c)} 

AFFILIATIONS

¹Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, Mexico

²Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, Mexico

³Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, Mexico

^{a)}**Also at:** Centro de Ciencias de la Complejidad, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, Mexico.

^{b)}**Deceased. Also at:** Centro de Ciencias de la Complejidad, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, Mexico.

^{c)}**Author to whom correspondence should be addressed:** carlos@fisica.unam.mx. **Also at:** Centro de Ciencias de la Complejidad, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, Mexico.

ABSTRACT

In order to elucidate central elements underlying type 2 diabetes, we constructed a regulatory network model involving 37 components (molecules, receptors, processes, etc.) associated to signaling pathways of pancreatic beta-cells. In a first approximation, the network topology was described by Boolean rules whose interacting dynamics predicted stationary patterns broadly classified as health, metabolic syndrome, and diabetes stages. A subsequent approximation based on a continuous logic analysis allowed us to characterize the progression of the disease as transitions between these states associated to alterations of cell homeostasis due to exhaustion or exacerbation of specific regulatory signals. The method allowed the identification of key transcription factors involved in metabolic stress as essential for the progression of the disease. Integration of the present analysis with existent mathematical models designed to yield accurate account of experimental data in human or animal essays leads to reliable predictions for beta-cell mass, insulinemia, glycemia, and glycosylated hemoglobin in diabetic fatty rats.

Published under license by AIP Publishing. <https://doi.org/10.1063/5.0011125>

Type 2 diabetes (T2D) is a significant public health problem around the world.¹ It develops due to beta-cell exhaustion with accompanying decrease in insulin secretion, leading to hyperglycemia and eventual damage of nerve, kidney, and eye tissues. It is usually preceded by a metabolic syndrome (MS) encompassing alterations related to insulin signaling, inflammatory pathways, or intracellular glucose processing. In order to elucidate central factors underlying the disease, we developed an analysis based on a regulatory network of pancreatic beta-cells. The analysis reveals the prime role of metabolic stress in cell functionality and the role of key genes transcription factors.

I. INTRODUCTION

Type 2 diabetes (T2D) is associated to dysregulation of carbohydrate, lipid, and protein metabolism.² The disease is characterized by a steady decline in insulin secretion from pancreatic beta-cells,

resulting in elevated glucose levels that cause long-term complications in patients leading to eye, nerve, and kidney dysfunction. It is well documented that pancreatic beta-cells may undergo exhaustion by excessive insulin secretion caused by unsustainable demands.² As a consequence, some cells decrease their insulin secretory capacity while others may suffer premature programmed cell death (apoptosis), naturally resulting in a reduction of circulating insulin. T2D is usually preceded by metabolic syndrome (MS), constituted by a group of signs such as central obesity, dyslipidemia, glucose intolerance, hypertension, and insulin resistance, which increases the risk of developing T2D, as well as cardiovascular diseases and some types of cancer.³⁻⁵ Furthermore, components of the immune response are also altered in obesity and T2D,⁶ including increased levels of inflammatory cytokines like interleukin 1 β (IL1 β), interleukin 6 (IL6), and tumor necrosis factor (TNF), originating changes in the number and activation state of different leucocyte populations, increased apoptosis, and tissue fibrosis.⁷⁻⁹ Other studies suggest an association of genes related to MS with molecular and physiological

components involved in T2D.^{3,10} A central mechanism involved in the development of the disease is the endoplasmic reticulum stress (ERS).¹¹ The ER is an important cellular compartment for insulin biosynthesis since most of the proteins that a cell secretes or displays on its surface first enter this compartment, where they fold and assemble. Protein flux through ER must be carefully monitored to prevent dysregulation of cell homeostasis. Insufficient folding capacity of the ER elicits a signaling cascade known as the unfolded protein response (UPR) to restore homeostasis. Prolonged activity of the UPR, an indication that ERS cannot be mitigated correlates with premature programmed cell death (apoptosis), naturally resulting in a reduction of circulating insulin and the concomitant progress to T2D.^{11–14}

Mathematical models based on a systems biology approach with different levels of complexity, biological description, and clinical or experimental data have been previously considered in a number of works,^{6,15–25} and excellent reviews may be found in Refs. 23, 26, and 27. With the purpose of elucidating the mechanisms underlying the beta-cell homeostasis and its alterations, in the present work, we constructed a regulatory network of 35 components that incorporates current experimental evidence of cellular and molecular interactions involved in beta-cell regulation (Fig. 1). The network is formed by connected nodes and their inner relations where every node represents a gene, a transcription factor, a cytokine, etc. In a first approach, these relations were described in terms of Boolean logic propositions with truth values 0 (false or inhibited), or 1 (true or expressed).^{28,29} In a network with n nodes, the state of the node k 'th at a time $t + \tau$ can be described by the dynamical mapping

$$q_k(t + \tau) = f_k(q_1(t), \dots, q_n(t)). \quad (1)$$

The attractors of the mapping satisfy the steady-state condition $q_k(t + \tau) = q_k(t)$. According to Kauffman's hypothesis,³⁰ each attractor defines an expression pattern characterizing a cellular fate; in the present context, the attractors represent cellular states consistent with health, MS, or T2D.

One advantage of Boolean models is that they provide important information on the basic network's structure and can be used in the study of biological circuits without requiring explicit values of the network parameters. However, for the description of the gradual transitions observed in the long-term progression of the disease, a Boolean approach is insufficient and a less restrictive formalism must be contemplated. This was achieved by introducing a continuous logical analysis, whose early foundations were established by Glass and Kauffman.^{31,32} In this formalism, the expression levels, concentrations, and parameters of the system may acquire any real value within a continuous range $\{0, 1\}$. In this work, we considered an alternative approach based on fuzzy logic. Originally aimed to provide formal foundation to approximate reasoning, fuzzy logic has found applications in physical, control, biomedical, and behavioral sciences.^{33–38} In this scheme, the degree to which an object exhibits a property p is given by a characteristic or membership function $\mu[p]$, defined in the interval $[0, 1]$. The expression level of the network interactions is then described by fuzzy propositions $\mu[w_k(q_1(t), \dots, q_n(t))]$, where w_k is a continuous realization of the Boolean proposition. The interactive dynamics is now expressed as

follows:

$$\frac{dq_k}{dt} = \mu[w_k(q_1(t), \dots, q_n(t))] - \alpha_k q_k, \quad (2)$$

where α_k is the decay rate of node k . Notice that although this equation system shares some similarities with Glass piece-wise linear dynamics³¹ it considers only continuous differentiable variables. The system attractors are now determined by the fixed-point condition $dq_k/dt = 0$, leading to $q_k^i = \mu[w_k^i]/\alpha_k$. It follows that the steady states are modulated by the actual value of the decay rates, so that a value $\alpha_k \gg 1$ ($\alpha_k < 1$) will conduce to underexpression (overexpression) of node k .

This latter fact suggested to describe the progression of the disease by introducing a methodology contemplated by a theory of non-equilibrium phase transitions and self-organization in cooperative systems.^{39,40} In this theory, phase transitions between macroscopic ordered phases are generated by alterations of control parameters, which in a number of cases correspond to the system decay rates. We then modeled the pathway to T2D as a gradual transit between health, MS, and T2D disease stages induced by variations of the parameters α_k . This may be interpreted as functional exhaustion or exacerbation of specific intracellular components. An alternative way to induce a phase transition is by modifications of the system environment, represented in our case by the initial values of exogenous factors such as circulating insulin, pro-inflammatory factors, etc. Both pathways were considered in the model.

Connection with experimental data was achieved by merging the continuous logic analysis with available mathematical models that yield accurate descriptions of primary physiological variables defining the development of T2D.^{15–17,41,42} These studies consider the combined action of metabolic deficiencies such as insulin resistance, which increases the level of insulin required to maintain glucose within the normal range, and failure of pancreatic beta-cells to compensate for the increased demand. This approach conducted to reliable predictions of primary variables in a group of female diabetic fatty rats: beta-cell mass, insulinemia, glycemia, and glycosylated hemoglobin.

II. METHODS

A. Network construction

Based on a literature review, we constructed a regulatory network of 37 pancreatic beta-cell components that integrates current evidence of cellular and molecular interactions involved in MS and T2D (Table 1). The network incorporates five modules associated with (i) insulin signaling and secretion, (ii) glucose internalization, (iii) glycolysis and adenosine triphosphate (ATP) production, (iv) inflammatory pathways, and (v) endoplasmic reticulum stress (ERS) (Fig. 1). The elements conforming each module and their interactions are presented in Appendix A. By collapsing downstream signaling pathways of the network, it is possible to construct a central core of key factors involved in homeostasis and dysregulation of beta-cells (Fig. 2). The core includes several regulatory circuits. In particular, it involves two mutually inhibitory loops acting as switching modules conducting to alternative cellular fates. The module NFkB \leftrightarrow Akt regulates the balance between inflammation and

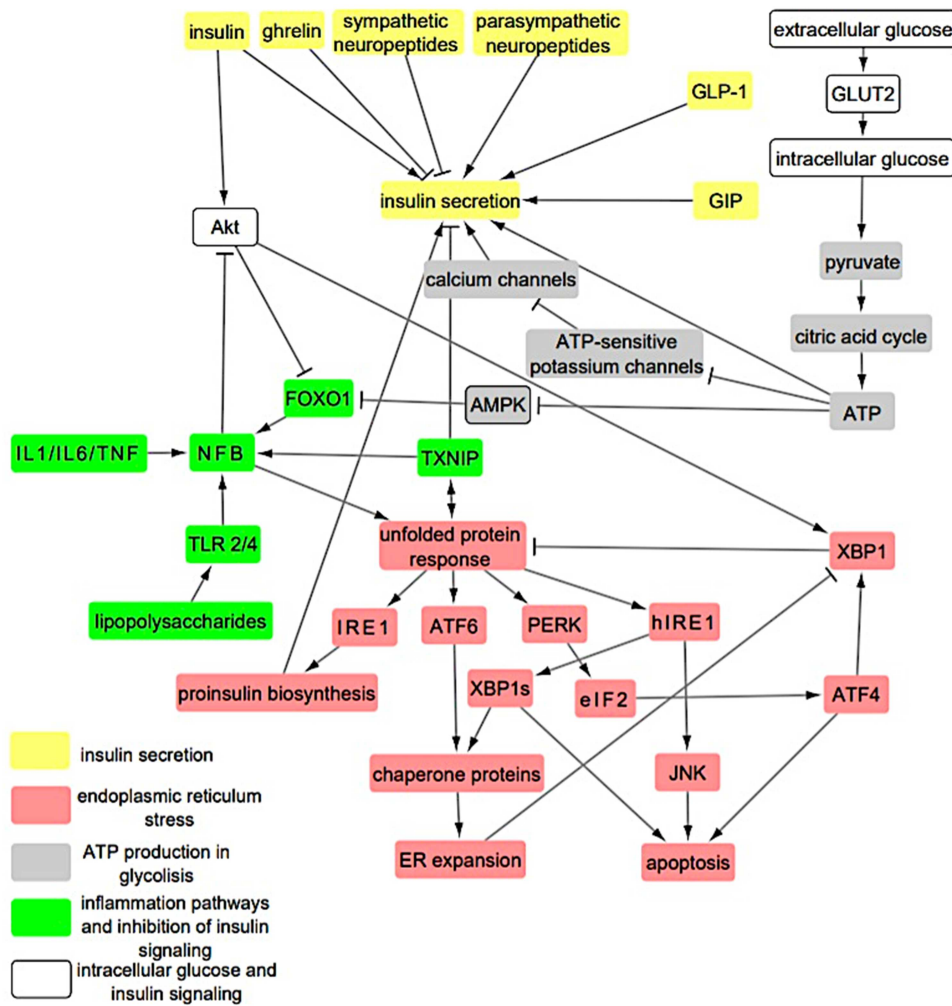


FIG. 1. Interaction network in pancreatic beta-cells. The network includes cytokines, proteins, hormones, receptors, transcription factors, etc., which are central in the evolution of health to metabolic syndrome and type 2 diabetes. The colors of the rectangles represent processes and signaling pathways altered during the T2D evolution. The arrows and bars correspond to positive and negative regulatory interactions, respectively.

normal functionality, which depends on the relative exogenous levels of circulating glucose, insulin, and pro-inflammatory cytokines. Downstream, a second switching module X-box binding protein 1 (XBP1) ↔ UPR modulates the balance between homeostasis vs enhanced ERS. We observe that UPR plays a central role in this core, as it defines the beta-cell fates associated to different micro-environmental conditions: cell homeostasis, altered homeostasis involving an enhanced ERS, or cell dead (apoptosis).

B. Boolean analysis

The stationary states of a Boolean network with *n* nodes are determined by the final steady states resulting from the dynamical trajectories of the system with origin at a set of 2^{*n*} possible initial conditions. However, for a network with *n* = 37 nodes considered in this study, this is an exceedingly large number (more than 34 billions) of different configurations. In order to circumvent this difficulty, we divided the node interactions into two sets, corresponding

to independent and dependent interactions. The first set includes the external inputs, as well as those nodes that due to their centrality are key to determine the states of other nodes through the interactive rules. In the input set, we identified nine components: extracellular insulin, ghrelin, sympathetic neuropeptides, parasympathetic neuropeptides, extracellular glucose, IL1β/IL6/TNFα (inflammatory cytokines), lipopolysaccharides (LPSs), glucagon-like peptide 1 (GLP-1), and glucose-dependent insulinotropic peptide (GIP). To this set, we also added Akt and UPR due to their strategic positions within the network (Fig. 2). As described in Secs. I and II A, they connect circuits involved in homeostasis, ERS, and the inflammatory response, so that their expression levels influence the pancreatic beta-cell fates through alternative signaling routes. Although these nodes involve dependent interactions, they were considered as inputs subject to the condition that the rest of variables actualize their values consistently with the Boolean rules. We took into account that, since Akt is controlled upstream by insulin, if insulin is inactive, then Akt is also inactive; on the other hand, if insulin is

TABLE I. Experimental evidence of each node and its function in the network.

Node	Expt. evidence
Insulin	43
Parasympathetic neuropeptides	44–46
GLP-1	5, 47–49
GIP	5, 47–49
Ghrelin	50, 51
Sympathetic neuropeptides	44–46
Insulin secretion	5, 43–51
Extracellular glucose	52–54
GLUT2	52–54
Intracellular glucose	52–54
Akt	55–57
Pyruvate	58–61
Citric acid cycle	58–61
ATP	58–61
ATP-sensitive potassium channels	62, 5, 63
Calcium channels	62, 5, 63
AMPK	58–61
IL1 β /IL6/TNF α	9, 64, 65
TLR 2/4	65–69
Lipopolysaccharides	65–69
FOXO1	70, 71, 56
NF κ B	72, 64
TXNIP	73–75
Unfolded protein response	76–78
XBP1	76–78
IRE1 α	76–78
Proinsulin biosynthesis	76–78
PERK	76–78
eIF2 α	76–78
ATF4	76–78
ATF6	76–78
hIRE1 α	76–78
XBP1s	76–78
Chaperone proteins	76–78
ER expansion	76–78
JNK	76–78
Apoptosis	76–78

active, then Akt may initiate with any value 0 or 1. It follows that the analysis can be reduced to consider only a set of $2^{11} = 2048$ initial conditions.

The Boolean analysis was carried up by means of a program in Fortran 90 (supplementary material 1) that provides the attractors of the dynamical system (supplementary material 2). Briefly, the code creates two arrays, the first one corresponds to a matrix of all the possible configurations of initial conditions and the second one is formed by a matrix with all the possible configurations of final conditions, one for each initial configuration. The code specifies the number N_k and the specific initial conditions that lead to the same attractor k . N_k determines the size of the attraction basin and provides, in principle, an estimation of the probability that a given activation and inhibition pattern is expressed. Since the 2^{11}

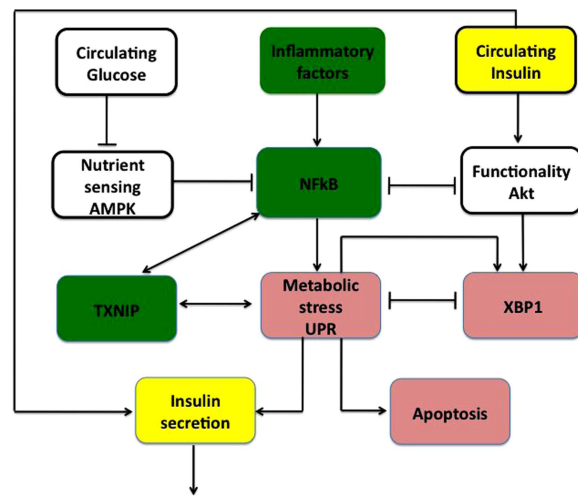


FIG. 2. Central elements involved in the development of MS and T2D. The upper nodes correspond to inputs of the regulatory network presented in Fig. 1 (excepting the inhibitory action of ghrelin and sympathetic neuropeptides). Two switching modules including NF κ B and Akt, as well as UPR and XBP1 can be observed. These modules mediate alternative pathways leading to cell homeostasis or apoptosis.

configurations of initial conditions are generated independently, each initial configuration would entail an *a priori* probability $p = 1/2^{11}$ that a given attractor k is reached, so that the probability that the k th pattern is expressed would be $P_k = N_k p$. However, certain combinations of input variables could have no realistic biological sense, and such combinations should be discarded in a probabilistic counting.

In order to classify the steady states of the network into states corresponding to health, MS, and T2D stages, we constructed Table II, based on a review of current literature. This table represents a kind of “idealistic” classification scheme since, due to the multifactorial nature of the disease, actual clinical data may involve a hybrid pattern of the elements considered in that table. Therefore, in supplementary material 2 we considered classification criteria based on the following: there are four fundamental nodes that determine the former states: insulin secretion, XBP1, TXNIP, and apoptosis. For the healthy state, it is necessary that the nodes corresponding to insulin secretion, and XBP1 are active, while those corresponding to TXNIP and apoptosis are inactive; in addition, the modules corresponding to glucose internalization and ATP production are active, while the modules corresponding to inflammation and ERS are mostly inactive. For the MS state, the node corresponding to insulin secretion is active, while that corresponding to apoptosis is inactive; on the other hand, XBP1 and TXNIP may be either active or inactive; as before, the modules corresponding to glucose internalization and ATP production are active, but now the module corresponding to inflammation is mostly active. For the T2D state, it is necessary that the nodes corresponding to insulin secretion, and XBP1 are inactive, while those corresponding to TXNIP and apoptosis are active; in addition, the modules corresponding to inflammation and ER stress are mostly active.

TABLE II. Expression patterns associated to health, metabolic syndrome, and T2D. The state of inhibition or activation of each of pancreatic beta-cell nodes is represented by 0 and 1, respectively.

Node	Definition	Health state	MS state	T2D state
Insulin	Insulin	1	1	0
Parasympathetic neuropeptides	Parasympathetic neuropeptides	1	1	0
GLP-1	Glucagon-like peptide 1	1	1	0
GIP	Glucose-dependent insulinotropic peptide	1	1	0
Ghrelin	Ghrelin	0	0	1
Sympathetic neuropeptides	Sympathetic neuropeptides	0	0	1
Insulin secretion	Insulin secretion	1	1	0
Extracellular glucose	Extracellular glucose	1	1	1
GLUT2	Glucose transporter 2	1	1	1
Intracellular glucose	Intracellular glucose	1	1	1
Akt	Protein kinase B	1	1	0
Pyruvate	Pyruvate	1	1	1
Citric acid cycle	Citric acid cycle	1	1	1
ATP	Adenosine triphosphate	1	1	1
ATP-sensitive potassium channels	Adenosine triphosphate potassium channels	1	1	1
Calcium channels	Calcium channels	1	1	0
AMPK	AMP-activated protein kinase	1	0	0
IL1 β /IL6/TNF α	Interleukin 1- β / Interleukin 6/ Tumor necrosis factor	0	1	1
TLR 2/4	Toll-like receptor 2 or 4	0	1	1
Lipopolysaccharides	Lipopolysaccharides	0	1	1
FOXO1	Forkhead box protein O1	0	1	1
NF κ B	Nuclear factor κ -light-chain-enhancer of activated B cells	0	1	1
TXNIP	Thioredoxin interacting protein	0	1	1
Unfolded protein response	Unfolded protein response	0	1	1
XBP1	X-box binding protein 1	1	1	0
IRE1 α	Inositol-requiring enzyme 1	1	1	0
Proinsulin biosynthesis	Proinsulin biosynthesis	1	1	0
PERK	Protein kinase R-like ER kinase	0	0	1
eIF2 α	Eukaryotic initiation factor 2	0	0	1
ATF4	Activating transcription factor 4	1	1	1
ATF6	Activating transcription factor 6	0	0	1
hIRE1 α	Hyperphosphorylation of IRE1 α	0	0	1
XBP1 s	X-box binding protein 1 splicing	0	0	1
Chaperone proteins	Chaperone proteins	0	0	1
ER expansion	Endoplasmic reticulum expansion	0	0	1
JNK	C-Jun N-terminal kinase	0	0	1
Apoptosis	Apoptosis	0	0	1

C. Continuous logical analysis

The translation of the original Boolean interactions to the continuous scenario $f_k \rightarrow w_k$ was straightforwardly implemented by replacing the Boolean connectives **and**, **or**, and **not**, by their fuzzy counterparts according to the rules,³⁶

$$q_i \text{ and } q_k \rightarrow q_i \cdot q_k,$$

$$q_i \text{ or } q_k \rightarrow q_i + q_k - q_i \cdot q_k,$$

$$\text{not } q_i \rightarrow 1 - q_i.$$

This definition is not unique and a number of different alternatives, not entirely equivalent, have been proposed.³³ Fuzzy logic propositions satisfy a set of axioms equivalent to those of Boolean logic,

except for the principles of no-contradiction and excluded-middle. In that case, the seemingly paradoxical proposition, w_k , and its negation, $1 - w_k$, may be simultaneously true. This is formally expressed by the equality $w_k = 1 - w_k$, with solution $w_k = 1/2$, and then the condition $w_k \equiv w_{thr} = 1/2$ represents a threshold between falsity and truth.³⁴ This property allows the description, for example, of situations in which a cell displays an intermediate expression pattern that does not necessarily belong to a standard phenotype. The dynamical properties of the system were analyzed by means of a system of nonlinear differential equations,^{37,79–84}

$$\frac{dq_k}{dt} = \frac{1}{1 + \exp[-\beta(w_k(q_1, \dots, q_n) - w^{thr})]}, -\alpha_k q_k. \quad (3)$$

As before, α_k is a decay rate, whereas the first term in the r.h.s. represents a characteristic function $\mu[w_k]$ with a sigmoidal structure and saturation rate β . This rate determines the speed at which $\mu[w_k]$ evolves from an unexpressed to a totally expressed state, being this variation gradual for small β , and steep for large β . In the limit $\beta \gg 1$, the characteristic function becomes a step-like Heaviside function: $\mu[w_k - w^{thr}] \rightarrow \Theta[w_k - w^{thr}]$. In this work, we assumed that $\beta = 5$.

D. Transitions between health, metabolic syndrome, and diabetes

A dynamical logic analysis was employed to study the transitions from health to MS and manifest T2D. The strategy was to consider that each attractor in [Table II](#) represented a set of initial conditions of every node associated to either health or MS, assuming an initial decay rate $\alpha_k = 1$; subsequently, we analyzed whether the successive perturbation of each node generated a dynamic involving a phase transition from the original to a different attractor. To address this goal, every decay rate was gradually increased from its initial value $\alpha_k = 1$ to a maximal value $\alpha_k = 5$, allowing us to determine its capacity to generate a qualitative modification of the system dynamics, thus testing its relevance on the overall dynamics underlying the progression of the disease. This procedure was implemented by means of a Wolfram Mathematica computing program presented in the [supplementary material 3](#).

E. Connection with clinical data

Connection with experimental data was achieved by merging the continuous logic analysis with available mathematical models that yield accurate descriptions of primary physiological variables that characterize the development of the disease.^{15–17,41,42} These studies consider the combination of two metabolic defects, insulin resistance, which increases the level of insulin required to maintain glucose within the normal range, and failure of pancreatic beta-cells to compensate for the increased demand.

To simulate these processes, we introduced a parameterization of the curves predicted by the continuous analysis for the progressive change of insulin secretion and beta-cell apoptosis with time [[Figs. 3\(a\)](#) and [3\(b\)](#)] into the set of differential equations of the model proposed by De Gaetano *et al.*^{41,42} for the dynamics of beta-cell mass, insulinemia, glycemia, and glycosylated hemoglobin in the long-term progression of the disease. We considered two alternative scenarios: one consistent with a pure MS stage, and another one consistent with the development of T2D preceded by MS. In order to deal with reasonable time-scales we adapted the original model, designed to describe human data to an animal model for Zucker diabetic fatty (ZDF) rats, described in [Ref. 17](#). Male ZDF rats spontaneously develop overt hyperglycemia between 6 and 12 weeks of age, whereas female ZDF rats only become hyperglycemic when placed on a high-fat diet.¹⁷ Since this latter case has a greater similarity with human T2D, we limited our analysis to the female rats population.

On these terms, the adapted system of equations is given by

$$\frac{dB}{dt} = pB \left(1 - \frac{B}{B_{max}}\right) - \beta_{max}\beta(t)B, \quad (4)$$

$$\frac{dI}{dt} = \frac{G^v}{G_h^v + G^v} T_{ig}\gamma(t) B - K_{xi}(t) I, \quad (5)$$

$$\frac{dG}{dt} = T_{gl} - K_{xgl}(t) I G, \quad (6)$$

$$\frac{dA}{dt} = K_{ag} G (1 - A/100) - K_{xa}A, \quad (7)$$

where B is the pancreatic beta-cell mass, with maximal value B_{max} , proliferation rate p , and time-dependent apoptotic rate $\beta_{max}\beta(t)$, I is the fasting serum insulin concentration, G the fasting plasma glucose concentration, with half-maximum level G_h , $T_{ig}\gamma(t)$ the time-dependent insulin secretion, T_{gl} the liver glucose output, and A the percentage of glycosylated hemoglobin. The explicit parameterization of $\beta(t)$ and $\gamma(t)$ is presented in [Appendix B](#) and depicted in [Fig. 4](#). Notice that the curve representing the decrease of insulin production is delayed in time with respect to the curve representing the increment in cell apoptosis. On the other hand, the insulin sensitivity and insulin elimination rates are represented by

$$K_{xgl}(t) = \frac{K_{xgl0}}{1 + e^{-b(t-t_{half})}}, \quad (8)$$

$$K_{xi}(t) = K_{xiStart} + \frac{t - t_0}{t_{max} - t_0} (K_{xiEnd} - K_{xiStart}), \quad (9)$$

where t_0 , t_{half} , and t_{end} indicate, respectively, the time where insulin resistance starts, the time where the insulin sensitivity decreases to half its initial value, and the final time of the study. The description and values of the parameters are presented in [Table III](#).

III. RESULTS

A. From health to metabolic syndrome and diabetes

In [Fig. 3\(a\)](#), we observe an overall dynamic behavior consistent with a transition from health to MS, originated by a chronic but low-level expression of extracellular glucose, represented in the model by an input smaller than unity ($G_{extra} = 0.5$). This condition promotes in the system a moderate decrease of insulin secretion, Akt and XBP1. The reduction of Akt expression is consistent with experimental evidence describing Akt as a factor that regulates the expression of gluconeogenic and lipogenic enzymes by controlling the activity of the FOXO1, which in the network promotes the action of the pro-inflammatory transcription factor NF κ B. Consistently, this alteration induces a moderate level of apoptosis.

In [Fig. 3\(b\)](#), we present a pathway leading from health to T2D, preceded by MS. This outcome was induced by a beta-cell microenvironment defined by a high-level of extracellular glucose ($G_{ext} = 2$). The initial cellular condition corresponds to a healthy state with normal Akt and insulin secretion levels, with no ER stress or inflammatory symptoms. The hyperglycemic condition subsequently leads to a transient MS state which with the course of time evolves into a state of incremented inflammation, ER stress, and apoptosis induced

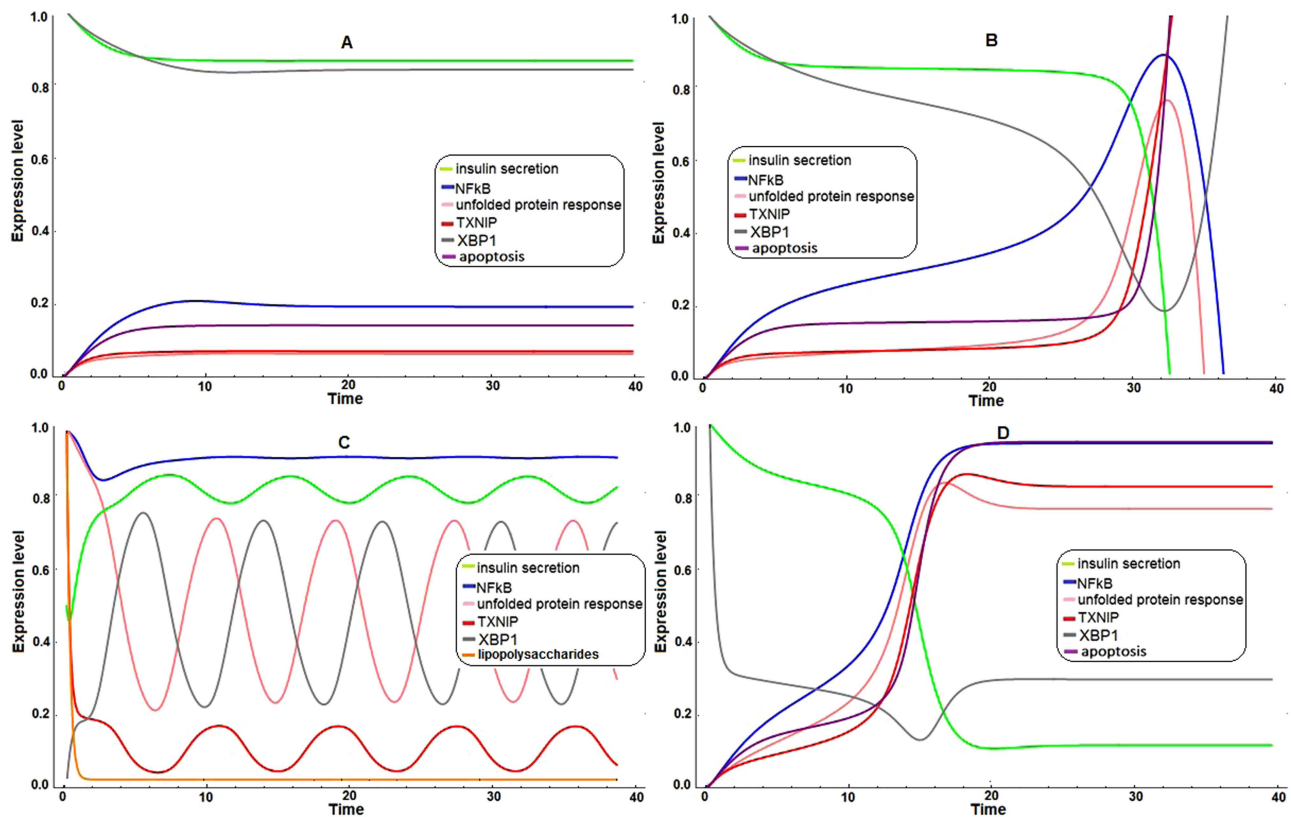


FIG. 3. (a) From health to metabolic syndrome. Dynamic evolution of pancreatic beta-cell expression profiles associated to under-expression of intra- and extracellular glucose. The decay rates of all nodes in the beta-cell network are assumed $\alpha_k = 1$. (b) From health to transient metabolic syndrome and subsequent type 2 diabetes. Dynamic evolution of pancreatic beta-cell expression profiles associated to over-expression two cellular components involved in metabolic regulation: intra- and extracellular glucose. The decay rates of all nodes in the beta-cell network are assumed $\alpha_k = 1$. As a result, a strong increment of apoptosis is shown. (c) From advanced to improved symptomatology. Dynamic evolution of pancreatic beta-cell expression profiles, from an initial state with high levels of ER stress and inflammation and reduced levels of insulin secretion, arising from under-expression of TXNIP and lipopolysaccharides. The decay rates of all nodes in the beta-cell network are $\alpha_k = 1$, except for the transcription factor TXNIP and LPS, with decay rates $\alpha_{TXNIP} = \alpha_{LPS} = 5$. Insulin secretion recovers from an under-expressed to quasi-normal levels with a mild oscillatory behavior. Inflammation persists, while UPR displays oscillations about a decreased mean level. (d) From health to type 2 diabetes. Dynamic evolution of pancreatic beta-cell expression profiles associated to under-expression of XBP1. The decay rates of all nodes in the beta-cell network are $\alpha_k = 1$, except for the transcription factor XBP1, with an increased decay rate of $\alpha_{XBP1} = 3$. The system transits from the healthy state to diabetes, where insulin secretion and XBP1 are strongly suppressed, while inflammatory signals and apoptosis are over-expressed.

by an overexpression of NF κ B, FOXO1, TXNIP, and UPR; in contrast, insulin secretion and Akt suffer a steady decrease with time. Thus, the model recovers characteristic facts in the progress of the T2D since the prolonged activity of the UPR, an indication that homeostasis cannot be reestablished, correlates with apoptosis, resulting in a reduction of circulating insulin.

Figure 3(c) describes a transition from an advanced disease to an improved stage. This is induced by an increased decay rate of TXNIP, as well as that of exogenous LPS. In this case, insulin secretion is recovered from an initial impaired condition to a state with quasi-normal levels. On the other hand, inflammatory signals still persist. In this case, we observe oscillations about a mean value of the expression level of several components of the network, mainly UPR and XBP1. This behavior may be attributed to their action as a mutually inhibitory switching module of the network (see Fig. 2):

when the expression level of UPR is high, XBP1 downregulates it by increasing its own expression, however, a low-enough level of UPR induces a decrease of XBP1.

In Fig. 3(d), we observe an alternative pathway to T2D associated with inhibition of the transcription factor XBP1, associated with an increased decay rate. This causes a rapid transition from health to T2D, so that insulin secretion and apoptosis show a faster decline and increase, respectively, than those described above.

B. Predictions of experimental data

In Figs. 5(a)–5(c) we present a comparison of the predictions of the model and experimental data¹⁷ for the progression of beta-cell mass, insulin levels, and fasting glycemia for female ZDF rats subject to either a normal or a high-fat diet. A good agreement of the theory

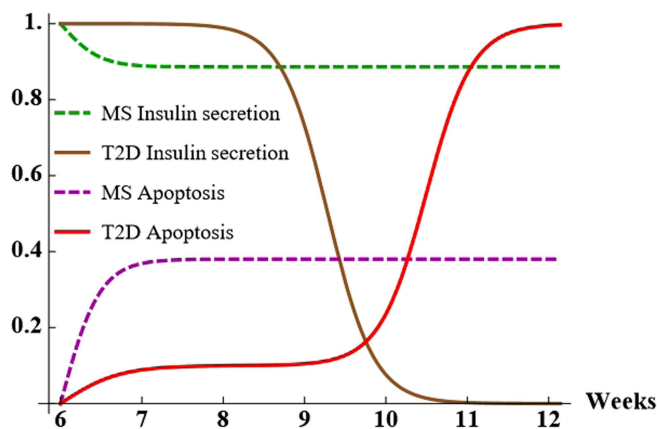


FIG. 4. Temporal dependence of insulin secretion and apoptosis associated to two different scenarios: pure metabolic syndrome and manifest diabetes preceded by metabolic syndrome.

with experiment may be observed both for the normoglycemic and the hyperglycemic groups. In addition, predictions for the evolution of the glycosylated hemoglobin level are presented in Fig. 5(d). In this latter case, no experimental data are available.

In the hyperglycemic group, the beta-cell mass and insulin curves show a biphasic behavior²⁴ signaled by an increment in the number of beta-cells and an accelerated insulin production, conducting to a relative regulation of glucose levels during the first 3 weeks. This is consistent with results presented in previous models.^{15,17,24,41}

IV. DISCUSSION

We constructed a regulatory network of components of pancreatic beta-cells involved in homeostasis, early manifestations, and

progression of T2D. The network comprises five modules representing insulin signaling and secretion, glucose internalization, glycolysis and ATP production, inflammatory pathways, and endoplasmic reticulum stress. The regulatory interactions are initially characterized by Boolean rules that recover steady states consistent with health, MS, and T2D. Subsequent introduction of a continuous logic approach allowed to model the progression of the disease as successive transitions between these stages induced either by alterations of the cell microenvironment (defined by initial values of exogenous components), or functionality exhaustion of key elements involved in signaling pathways (prompted by altered decay rates of endogenous components).

The network analysis reveals that two key elements involved in T2D progression are the transcription factors XBP1 and TXNIP. XBP1 is a major component of the unfolded protein response (UPR), crucial for glucose homeostasis and lipid metabolism. Among other functions, XBP1 regulates ER stress, so that underexpression of this protein leads to increased ER stress and inflammation. Compounds selectively targeting the Inositol-requiring enzyme 1 (IRE1 α)-XBP1 pathway aimed to inhibit XBP1 splicing have emerged as a potential approach for treatment of metabolic diseases.⁸⁵ On the other hand, TXNIP regulates metabolic homeostasis through multiple mechanisms. It negatively modulates the activity of thioredoxin, a main controller of the cellular redox balance.⁸⁶ TXNIP is upregulated in diabetes, whereas TXNIP deficiency protects against type 1 and T2D by preventing beta-cell apoptosis,⁸⁷ thus emerging as a novel therapeutic target for the promotion of endogenous-cell mass and insulin production.^{86,88} Experimental studies have provided genetic and pharmacological evidence of the beneficial effects of TXNIP inhibition and its ability to not only prevent but also improve overt diabetes.^{88,89} It has been recently documented that calcium channel blockers (i.e., verapamil) inhibit TXNIP expression and beta-cell apoptosis.⁸⁹ The possibility of ameliorating the symptomatology of the disease through TXNIP inhibition agrees with the theoretical predictions presented above [Fig. 3(c)].

Connection of the logic continuous analysis with available models that yield accurate descriptions of primary physiological variables in T2D^{15-17,41,42} leads to reasonable agreement with experimental data. We focused our analysis on studies involving female ZDF rats. Particularly, the curves for beta-cell mass and insulin secretion show a clear biphasic behavior²⁴ [Figs. 5(a) and 5(b)] with initial increasing phases reaching a maximal level with threshold periods of $T_{\beta} = 10$ weeks and $T_{ins} = 9$ weeks, respectively, afterward followed by decreasing trends. Consistently, the glucose curve [Fig. 5(c)] displays an initial phase of relative control followed by a hyperglycemic phase starting at T_{ins} ; the curve for glycosylated hemoglobin shows a similar behavior. Notably, the threshold times T_{β} and T_{ins} have their counterpart in the continuous logic analysis, since they correspond to the times in which the predicted curves for insulin production and apoptosis (Fig. 4) suffer drastic reductions and increments, respectively. In the model, the decrease of insulin production precedes the rise in apoptosis, implying that the deleterious effects arising from defective insulin secretion should manifest prior to the diminution of beta-cells by apoptosis. It could be hypothesized that the effect of medical therapies (as those

TABLE III. Parameter definitions and values. MC: million cells.

B_0	Initial beta-cell mass	1000 MC
B_{max}	Maximal beta mass	3000 MC
ρ	Beta-cell proliferation rate	0.01 month ⁻¹
β_{max}	Maximum apoptotic rate	0.02 month ⁻¹
I_0	Initial insulin level	30 pM
G_0	Initial glucose level	4.2 mM
G_h	Half-maximum glucose level	9 mM
T_{ig}^*	Maximal insulin secretion	0.048 pM min ⁻¹ MC ⁻¹
T_{gl}^*	Liver glucose output	0.013 mM min ⁻¹
K_{xgI0}	Initial insulin sensitivity	0.0001 min ⁻¹ pM ⁻¹
$K_{xiStart}$	Initial insulin elimination rate	0.050 min ⁻¹
K_{xiEnd}	Final insulin elimination rate	0.035 min ⁻¹
t_0	Age at initial disease stage	6 weeks
t_{half}	Age at half insulin sensitivity	10 weeks
t_{max}	Age at final disease stage	12 weeks

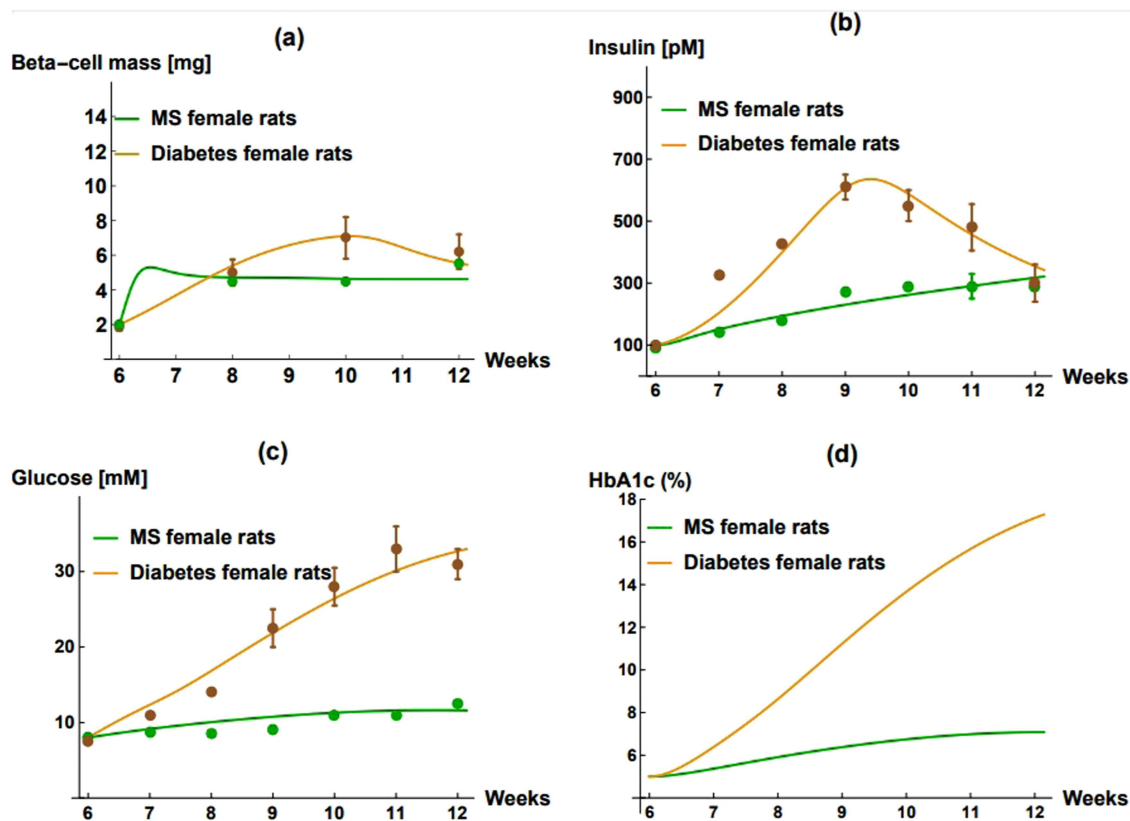


FIG. 5. Comparison of the predictions of the model and experimental data¹⁷ for the progression of beta-cell mass (a); insulin levels (b); and fasting glycemia (c) for female ZDF rats subject to either a normal or a high-fat diet. A good agreement of the theory with experiment may be observed both for the normoglycemic and the hyperglycemic groups. In addition, predictions for the evolution of the glycosylated hemoglobin level are presented in (d). In this latter case, no experimental data are available.

described above) should be much more effective as far as they were administered before the onset signaled by these threshold times.

The findings of this study are naturally limited by the topology of the pancreatic beta-cell network considered here. This network may be complemented by inclusion of supplementary elements that may provide a more detailed description of the cellular mechanisms leading to T2D. In a forthcoming analysis, we will investigate the consequences of connecting this network with a regulatory network for hepatocytes, and its consequences on the prediction of clinical data and the progression of the disease.

V. CONCLUSIONS

The proposed regulatory fuzzy network portraying signaling pathways of pancreatic beta-cells allows us to elucidate central elements underlying T2D. The model characterizes the progression of the disease as dynamic transitions between health, metabolic syndrome, and T2D stages. Integration of the present analysis with updated mathematical models to describe experimental data in animal essays leads to reliable predictions for beta-cell mass, insulinemia, glycemia, and glycosylated hemoglobin in diabetic fatty

rats. The method allowed the identification of key transcription factors involved in metabolic stress, XBP1 and TXNIP, as essential for the progression of the disease. The analysis is consistent with findings indicating that therapies based on calcium channel blockers, such as verapamil, inhibit TXNIP expression and beta-cell apoptosis.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

See the [supplementary material](#) for 1. **Fortran code:** Computational code in Fortran 90 for numerical determination of system attractors by means of a Boolean analysis. 2. **System attractors:** List of attractors arising from Boolean rules. 3. **Wolfram code:** Wolfram Mathematica computing program for calculation of inter-attractor transitions.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

M.B., G.C., M.H., and C.V. contributed to the conception of the model. M.B., M.H., and C.V. designed the regulatory network. M.B. constructed the logical propositions, conducted numerical experiments, and performed the analysis of the system dynamics. All

authors contributed to the interpretation of the results. M.B. and C.V. wrote the manuscript. M.B., M.H., and C.V. reviewed the manuscript.

ACKNOWLEDGMENTS

M.B., M.H., and C.V. acknowledge the enormous intellectual influence and teachings of G. Cocho, co-author of this paper, who passed away during the elaboration of this work. We also acknowledge valuable comments of C. F. Bunge. M.B. is a Ph.D. student from Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) and received Fellowship (No. 379165) from CONACYT. C.V. acknowledges financial support from Project CONACYT (No. 180381). All authors acknowledge support from Centro de Ciencias de la Complejidad, UNAM.

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

APPENDIX A: NETWORK MODULES AND INTERACTIONS

1. Intracellular glucose and insulin signaling

In pancreatic beta-cells, the glucose-stimulated insulin secretion (GSIS) is a consequence of increased circulating glucose concentrations, and the glucose transporter 2 (GLUT2) participates in this process. GLUT2 leads to an equilibrium between extra and intracellular glucose.^{52,53} In different animal models of diabetes, it has been proposed that if the expression of GLUT 2 is strongly reduced, impaired GSIS is associated with this fact, while GLUT 2 is active in the control of GSIS.⁵⁴

In addition to extracellular glucose, peripheral insulin may stimulate insulin secretion in pancreatic beta-cells. The insulin receptor signaling includes the activation of phosphoinositol 3-kinase (PI3K) and the subsequent expression of protein kinase B (PKB), also known as Akt. The over-expression of PKB/Akt has been related to beta-cell mass expansion and incremented insulin secretion by Langerhans islets, while its under-expression results in reduced islet mass and impaired pancreatic beta-cell function.⁵⁷ An overexpression of active Akt in mouse pancreatic beta-cell models has been associated to improving glucose tolerance and resistance to experimental diabetes, being Akt central in pancreatic beta-cell size and function.^{55,56}

2. Glycolysis and ATP production

When extracellular glucose increases, it is internalized in pancreatic beta-cell through a GLUT2 transporter. Glucose then enters into the glycolysis cycle: the associated metabolic processes include mitochondrial oxidation, which generates and increases the ratio ATP/adenosine diphosphate (ADP). This change in ATP/ADP relationship closes the ATP-sensitive potassium (K) channels, and the membrane depolarizes activating the influx of calcium (Ca), resulting in insulin exocytosis. A model of MS induced in adult male Wistar rats with high sucrose diet after 24 weeks of treatment showed central obesity, hyperinsulinemia, insulin resistance, and an

increased sensitivity to ATP in ATP-sensitive K channels, suggesting that this change can explain the increase in insulin secretion.^{58–61} This is the course followed by the major triggering pathway for GSIS.⁹⁰ Insulin interacts with their targets by binding to the insulin receptor and producing tyrosine transphosphorylation of its internal subunits, and a cascade of protein phosphorylation, starting with the substrate of the insulin receptor proteins (IRS-1 and 2).

3. Insulin secretion

Several factors regulate insulin secretion by pancreatic beta-cells; the primary are nutrients, mainly glucose. Others are some amino acids, free fatty acids, hormones, and neurotransmitters. For example, some insulin potentiators are the incretins, glucagon-like peptide 1 (GLP-1), and glucose-dependent insulinotropic peptide (GIP). They are produced in the intestine and increase the GSIS. *In vitro* and in preclinical models, GLP-1 and GIP promote pancreatic-cell proliferation and potentiate nutrient-induced insulin secretion.^{5,47,48} It has been corroborated that the insulin secretory response to GLP-1 is augmented in insulin-resistant mice compared with normal mice.⁴⁹ In contrast, the hormone ghrelin produced by the stomach during fasting inhibits the GSIS, probably by opening the ATP-sensitive K channels and inhibiting the activation of Ca channels.^{50,51}

Neuropeptides are released molecules involved in neural communication; some of them also regulate insulin secretion and protect the brain from possible damages due to hypoglycemia; parasympathetic neuropeptides, released during electrical vagal activation like vasoactive intestinal polypeptide (VIP) stimulate insulin secretion, while sympathetic islet neuropeptides inhibit insulin secretion.⁴⁶ Several rodent models of diabetes have proved the stimulatory effect of parasympathetic nerves and the inhibitory action of sympathetic nerves over insulin secretion.^{44,45} It has been reported by mice models that secreted insulin also stimulates the immediate process of insulin exocytosis, the probable explanation is due to an insulin-dependent increase in cytosolic free Ca.⁴³

4. Inflammation pathways

High levels of glucose and free fatty acids can stimulate the release of pro-inflammatory cytokines, for example, interleukin 1 β (IL1 β), interleukin 6 (IL6), and tumor necrosis factor (TNF). These molecules produce inflammation of pancreatic beta-cells, impairment of insulin secretion, and apoptosis.⁹ In obese mouse models, a lack of TNF function has resulted in improved insulin sensitivity and glucose homeostasis. Cytokines may activate kinases that participate in serine phosphorylation of the insulin receptor or the IRSs, modifying insulin action, activating, for example, the nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF κ B).⁶⁴ The anti-inflammatory actions of the thiazolidinediones (TZDs) have shown inhibit NF κ B and improve insulin signaling.⁷²

Toll-like receptors 2 and 4 (TLR 2/4) are cell-surface receptors that activate the innate immune response and recognize a wide variety of antigenic motifs like lipopolysaccharides (LPSS) and lipoproteins of bacterial walls. However, they may also be triggered by excess of circulating fatty acids, inducing modifications in insulin signaling, persuading inflammation.^{67–69} Pancreatic beta-cell lines

MIN6 have shown increase of TLR 4 in response to LPS and a decreased insulin synthesis and secretion.^{65,66}

Thioredoxin interacting protein (TXNIP) plays an important role in the type 2 diabetes (T2D) development and activates reactive oxygen species and cytokines; its overexpression induces ER stress and pancreatic beta-cell apoptosis.^{73–75}

One of the forkhead transcription factor class O isoforms, FOXO1, is the most abundant isoform in pancreatic beta-cells and regulates its immediate target gene p27 at the mRNA level. It has been exhibited in cell lines of rat insulinoma INS-1 and in mammalian cell lines that PI-3K activates Akt through phosphorylation, and active Akt, in turn, inhibits the transcriptional activation of FoxO1 via phosphorylation-dependent nuclear exclusion, resulting in inhibition of its target gene expression. On the other hand, excessive FOXO1 activation has shown irreversible apoptosis in pancreatic beta-cells.^{56,70,71}

5. Endoplasmic reticulum stress

When the folding capacity of the ER is exceeded, misfolded or unfolded proteins accumulate in the ER lumen, resulting in ER stress. During the T2D progression, pancreatic beta-cells produce more insulin in response to elevated levels of glycemia and insulin resistance, where the ER regulates its capacity in order to prevent unfolded proinsulin accumulation and to preserve the ER homeostasis.^{11–14} These signaling pathways are designated as the unfolded protein response (UPR). There have been genetic and biochemical studies on mouse models and human UPR sensor mutations that describe the processes involved in the UPR response during the progression of T2D to prevent pancreatic beta-cell failure and the disease adaptation.⁷⁷

Under normal physiological conditions, UPR reduces ER stress triggering transcription of folding proteins, attenuates eukaryotic initiation factor 2 (eIF2 α) protein translation, and promotes proinsulin synthesis via inositol-requiring enzyme 1 (IRE1 α) kinase. On the other hand, under physiopathological conditions IRE1 α may activate several downstream signaling of the UPR. For example, by splicing the X-box binding protein 1 (XBP1) mRNA, to enhance the protein-folding capacity, or triggering apoptosis when the ER recovery mechanism fails. Similar to IRE1, the protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase (PERK) and the activating transcription factor 6 (ATF6) are ER transmembrane proteins that contain an ER luminal stress-sensing domain. PERK may inhibit the increase in protein-folding demand by phosphorylating eIF2 α , which can also activate the activating transcription factor 4 (ATF4) to regulate UPR target genes. In mammals, PERK-eIF2 α -ATF4 activate ER stress-triggered apoptosis.^{76,78} High levels of ER stress also activate the C-Jun N-terminal kinase (JNK) by the kinase activity of IRE1 and participate in the apoptosis process.⁷⁷ ATF6 and XBP1s drive to expression of ER chaperon and ER expansion. Experiments with ATF6 knockout mice fed with a high-fat diet to create diet-induced obesity have demonstrated a severe hypoglycemia suggesting that suppression of ATF6 increased insulin sensitivity.⁹¹ In the present work, we will assume that besides its normal action, UPR concurrently displays elements associated to physiopathological conditions.

APPENDIX B: PARAMETERIZATION OF THE CURVES ASSOCIATED TO INSULIN SECRETION AND APOPTOSIS

The time-dependence of the curves associated to insulin secretion and apoptosis (Fig. 4) was parameterized as follows:

$$\begin{aligned}\gamma_{MS}(t) &= \gamma_{MS}^{(0)} \tanh[b_{MS}(t - t_0)], \\ \beta_{MS}(t) &= 1 - \beta_{MS}^{(0)} \tanh[a_{MS}(t - t_0)], \\ \gamma_{T2D}(t) &= \gamma_{T2D}^{(0)} \tanh[b_{T2D}^{(1)}(t - t_0)] \\ &\quad + \gamma_{T2D}^{(1)} \left(1 + \exp[-b_{T2D}^{(2)}(t - r_{delay} t_{half})]\right)^{-1}, \\ \beta_{T2D}(t) &= (1 + \exp[a_{T2D}(t - t_{half})])^{-1}.\end{aligned}$$

The values of the parameters were $\beta_{MS}^{(0)} = 0.114$, $a_{MS} = 0.3$, $a_{T2D} = 0.5$, $\gamma_{MS}^{(0)} = 0.30$, $b_{MS} = 0.3$, $\gamma_{T2D}^{(0)} = 0.5$, $b_{T2D} = 1.5$, $\gamma_{T2D}^{(1)} = 1.5$, $b_{T2D}^{(2)} = 0.5$, and $r_{delay} = 1.3$.

DATA AVAILABILITY

The data that support the findings of this study are available within the article and its supplementary material.

REFERENCES

- G. Roglic, "Global report on diabetes," *Int. J. Non-Commun. Dis.* **1**, 3–8 (2016).
- R. A. DeFronzo, E. Ferrannini, L. Groop, R. R. Henry, W. H. Herman, J. J. Holst, F. B. Hu, C. R. Kahn, I. Raz, G. I. Shulman, D. Simonson, M. A. Testa, and R. Weiss, "Type 2 diabetes mellitus," *Nat. Rev.* **1**, 1–22 (2015).
- A. Lusa, A. Attie, and K. Reue, "Metabolic syndrome: From epidemiology to systems biology," *Nat. Rev. Genet.* **9**, 819–830 (2008).
- C. Rask-Madsen and C. Kahn, "Tissue-specific insulin signaling, metabolic syndrome, and cardiovascular disease," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **32**, 2052–2059 (2012).
- M. Velasco, C. Díaz-García, C. Larqué, and M. Hiriart, "Modulation of ionic channels and insulin secretion by drugs and hormones in pancreatic beta cells," *Mol. Pharmacol.* **90**, 341–357 (2016).
- V. Prana, P. Tieri, M. C. Palumbo, E. Mancini, and F. Castiglione, "Modeling the effect of high calorie diet on the interplay between adipose tissue, inflammation, and diabetes," *Comput. Math. Methods Med.* **2019**, 7525834 (2019).
- A. Pradhan, J. Manson, N. Rifai, J. Buring, and P. M. Ridker, "C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus," *JAMA* **286**, 327–234 (2001).
- P. Dandona, "Inflammation: The link between insulin resistance, obesity and diabetes," *Trends Immunol.* **25**, 4–7 (2004).
- M. Donath and S. Shoelson, "Type 2 diabetes as an inflammatory disease," *Nat. Publ. Group* **11**, 98–107 (2011).
- C. Taniguchi, B. Emanuelli, and C. Kahn, "Critical nodes in signalling pathways: Insights into insulin action," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 85–96 (2006).
- P. Walter and D. Ron, "The unfolded protein response: From stress pathway to homeostatic regulation," *Science* **334**, 1081–1086 (2011).
- H. Kadowaki and H. Nishitoh, "Signaling pathways from the endoplasmic reticulum and their roles in disease," *Genes* **4**, 306–333 (2013).
- J. Lee and U. Ozcan, "Unfolded protein response signaling and metabolic diseases," *J. Biol. Chem.* **289**, 1203–1211 (2014).
- N. Rabhi, E. Salas, P. Frogue, and J. S. Annicotte, "Role of the unfolded protein response in β cell compensation and failure during diabetes," *J. Diabetes Res.* **2014**, 795171 (2014).
- B. Topp, K. Promislow, G. De Vries, R. M. Miura, and D. T. Finegood, "A model of β -cell mass, insulin, and glucose kinetics: Pathways to diabetes," *J. Theor. Biol.* **206**, 605–619 (2000).

- ¹⁶B. G. Topp, M. D. McArthur, and D. T. Finegood, "Metabolic adaptations to chronic glucose infusion in rats," *Diabetologia* **47**, 1602–1610 (2004).
- ¹⁷B. G. Topp, L. L. Atkinson, and D. T. Finegood, "Dynamics of insulin sensitivity, β -cell function, and β -cell mass during the development of diabetes in fa/fa rats," *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **293**, E1730–E1735 (2007).
- ¹⁸G. Cedersund and P. Stralfors, "Putting the pieces together in diabetes research: Towards a hierarchical model of whole-body glucose homeostasis," *Eur. J. Pharm. Sci.* **36**, 91–104 (2009).
- ¹⁹E. Nyman, C. Brannmark, R. Palmer, J. Brugard, F. H. Nystrom, P. Stralfors, and G. Cedersund, "A hierarchical whole-body modeling approach elucidates the link between *in vitro* insulin signaling and *in vivo* glucose homeostasis," *J. Biol. Chem.* **286**, 26028–26041 (2011).
- ²⁰E. Nyman, G. Cedersund, and P. Stralfors, "Insulin signaling—Mathematical modeling comes of age," *Trends Endocrinol. Metab.* **23**, 1043–2760 (2012).
- ²¹E. Nyman, M. Rohini, S. Fagerholm, C. Brannmark, and P. Stralfors, "A single mechanism can explain network-wide insulin resistance in adipocytes from obese patients with type 2 diabetes," *J. Biol. Chem.* **289**, 33215–33230 (2014).
- ²²N. Le Novère, "Quantitative and logic modelling of gene and molecular networks," *Nat. Rev. Genet.* **16**, 146–158 (2015).
- ²³I. Ajmera, M. Swat, C. Laibe, N. Le Novère, and V. Chelliah, "The impact of mathematical modeling on the understanding of diabetes and related complications," *Biochem. Eng.* **2**, 1–14 (2013).
- ²⁴J. Ha, L. S. Satin, and S. S. Sherman, "A mathematical model of the pathogenesis, prevention, and reversal of type 2 diabetes," *Endocrinology* **157**, 624–635 (2016).
- ²⁵C. Z. W. Hassell Sweatman, "Mathematical model of diabetes and lipid metabolism linked to diet, leptin sensitivity, insulin sensitivity and VLDLTG clearance predicts paths to health and type II diabetes," *J. Theor. Biol.* **486**, 110037 (2020).
- ²⁶P. Palumbo, S. Ditlevsen, A. Bertuzzi, and A. De Gaetano, "Mathematical modeling of the glucose–insulin system: A review," *Math. Biosci.* **244**, 69–81 (2013).
- ²⁷E. Nyman, Y. Rozendaal, G. Helmlinger, B. Hamre, M. Kjellsson, P. Stralfors, N. Riel, P. Gennemark, and G. Cedersund, "Requirements for multi-level systems pharmacology models to reach end usage: The case of type 2 diabetes," *Interface Focus* **6**, 20150075 (2016).
- ²⁸R. S. Wang, A. Saadatpour, and R. Albert, "Boolean modeling in systems biology: An overview of methodology and applications," *Phys. Biol.* **9**, 055001 (2012).
- ²⁹R. Albert and J. Thakar, "Boolean modeling: A logic-based dynamic approach for understanding signaling and regulatory networks and for making useful predictions," *WIREs Syst. Biol. Med.* **6**, 353–369 (2014).
- ³⁰S. Kauffman, "Metabolic stability and epigenesis in randomly constructed genetics nets," *J. Theor. Biol.* **22**, 437–467 (1969).
- ³¹L. Glass and S. A. Kauffman, "The logical analysis of continuous, non-linear biochemical control networks," *J. Theor. Biol.* **39**, 103–129 (1973).
- ³²L. Glass, "Classification of biological networks by their qualitative dynamics," *J. Theor. Biol.* **54**, 85–107 (1975).
- ³³L. Zadeh, "Fuzzy sets," *Inform. Control* **8**, 228–353 (1965).
- ³⁴B. Kosko, "Fuzziness versus probability," *Int. J. Gen. Syst.* **17**, 211–240 (1990).
- ³⁵D. Dubois, S. Moral, and H. Prade, "A semantics for possibility theory based on likelihoods," *J. Math. Anal. Appl.* **205**, 359–380 (1997).
- ³⁶V. Novak, I. Perfilieva, and J. Mockor, *Mathematical Principles of Fuzzy Logic* (Springer, 1999).
- ³⁷L. Mendoza and I. Xenarios, "A method for the generation of standardized qualitative dynamical systems of regulatory networks," *Theor. Biol. Med. Modell.* **3**(13), 1–18 (2006).
- ³⁸J. Enciso, R. Pelayo, and C. Villarreal, "From discrete to continuous modeling of lymphocyte development and plasticity in chronic diseases," *Front Immunol.* **10**, 1927 (2019).
- ³⁹H. Haken, "Cooperative phenomena in systems far from thermal equilibrium and in nonphysical systems," *Rev. Mod. Phys.* **47**, 67–121 (1975).
- ⁴⁰H. Haken, *Synergetics An Introduction Nonequilibrium Phase Transitions and Self-Organization in Physics, Chemistry and Biology* (Springer-Verlag, Berlin, 1978).
- ⁴¹A. De Gaetano, T. Hardy, B. Beck, E. Abu-Raddad, P. Palumbo, J. Bue-Valleskey, and N. Porksen, "Mathematical models of diabetes progression," *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **295**, E1462–E1479 (2008).
- ⁴²T. Hardy, E. Abu-Raddad, E. Porksen, and A. De Gaetano, "Evaluation of a mathematical model of diabetes progression against observations in the diabetes prevention program," *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **303**, E200–E212 (2012).
- ⁴³I. Leibiger, B. Leibiger, and P. Berggren, "Insulin feedback action on pancreatic beta-cell function," *FEBS Lett.* **532**, 1–6 (2002).
- ⁴⁴Y. Chiu, T. Hua, Y. Fu, P. Pasricha, and S. Tang, "3D imaging and illustration of the perfusive mouse islet sympathetic innervation and its remodelling in injury," *Diabetologia* **55**, 3252–3261 (2012).
- ⁴⁵B. Ahren, N. Wierup, and F. Sundler, "Neuropeptides and the regulation of islet function," *Diabetes* **55**, s98–s107 (2006).
- ⁴⁶D. Koh, J. Cho, and L. Chen, "Paracrine interactions within islets of Langerhans," *J. Mol. Neurosci.* **48**, 429–440 (2012).
- ⁴⁷L. Phillips and J. Prins, "Modulation of ionic channels and insulin secretion by drugs and hormones in pancreatic beta cells," *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1243**, E55–E74 (2011).
- ⁴⁸L. Baggio and D. Drucker, "Biology of incretins: GLP-1 and GIP," *Gastroenterology* **132**, 2131–2157 (2007).
- ⁴⁹B. Ahren, "Dpp-4 inhibition and islet function," *J. Diabetes Invest.* **3**, 3–10 (2012).
- ⁵⁰J. Tong, H. Davis, A. Gastaldelli, and D. D'Alessio, "Ghrelin impairs prandial glucose tolerance and insulin secretion in healthy humans despite increasing GLP-1," *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **101**, 2405–2414 (2016).
- ⁵¹G. Pradhan, C. Wu, J. Lee, P. Kanikarla, S. Guo, V. Yechoor, S. Samson, and Y. Sun, "Obestatin stimulates glucose induced insulin secretion through ghrelin receptor GHS-R," *Sci. Rep.* **7**, 979 (2017).
- ⁵²M. Prentki, F. Matschinsky, and M. Madiraju, "Metabolic signaling in fuel-induced insulin secretion," *Cell Metab.* **18**, 162–185 (2013).
- ⁵³B. Thorens, "GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis," *Diabetologia* **58**, 221–232 (2015).
- ⁵⁴E. Stolarczyk, M. Le Gall, P. Even, A. Houllier, P. Serradas, E. Brot-Laroche, and A. Leturque, "Loss of sugar detection by GLUT2 affects glucose homeostasis in mice," *PLoS One* **2**, e1288 (2007).
- ⁵⁵R. Tuttle, M. Gill, W. Pugh, J. Lee, B. Koeberlein, E. Furth, K. Polonsky, A. Najj, and M. Birnbaum, "Regulation of pancreatic β -cell growth and survival by the serine/threonine protein kinase Akt1/PKB," *Nat. Med.* **7**, 1133–1137 (2001).
- ⁵⁶G. Kops and B. Burgering, "Forkhead transcription factors are targets of signalling by the proto-oncogene PKB (C-AKT)," *J. Anat.* **197**, 571–574 (2000).
- ⁵⁷S. Martinez, C. Cras-Meneur, E. Bernal-Mizrachi, and A. Permutt, "Glucose regulates foxo1 through insulin receptor signaling in the pancreatic islet-cell," *Diabetes* **55**, 1581–1591 (2006).
- ⁵⁸D. Muoio and C. Newgard, "Mechanisms of disease: Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and β -cell failure in type 2 diabetes," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **9**, 193–205 (2008).
- ⁵⁹M. Hiriart, M. Velasco, C. Larqué, and C. Diaz-Garcia, "Metabolic syndrome and ionic channels in pancreatic beta cells," *Vitam. Horm.* **95**, 87–114 (2014).
- ⁶⁰M. Velasco, C. Larqué, G. Gutierrez-Reyes, R. Arredondo, C. Sanchez-Soto, and M. Hiriart, "Metabolic syndrome induces changes in KATP-channels and calcium currents in pancreatic beta-cells," *Islets* **4**, 302–311 (2012).
- ⁶¹C. Nolan, M. Madiraju, V. Delghingaro-Augusto, M. Peyot, and M. Prentki, "Fatty acid signaling in the β -cell and insulin secretion," *Diabetes* **55**, S16–S23 (2006).
- ⁶²I. Leclerc, G. Rutter, G. Meur, and N. Noorde, "Roles of Ca ions in the control of ChREBP nuclear translocation," *J. Endocrinol.* **213**, 115–122 (2012).
- ⁶³N. Noorden, G. Meur, G. Rutter, and I. Leclerc, "Glucose-induced nuclear shuttling of ChREBP is mediated by sorcin and Ca ions in pancreatic β cells," *Diabetes* **61**, 574–585 (2012).
- ⁶⁴G. Hotamisligil, "Inflammation and metabolic disorders," *Nature* **444**, 860–867 (2006).
- ⁶⁵M. Vives-Pi, N. Somoza, J. Fernández-Alvarez, F. Vargas, P. Caro, A. Gomis, M. Labeta, and R. Pujol-Borrell, "Evidence of expression of endotoxin receptors CD14, toll-like receptors TLR4 and TLR2 and associated molecule MD-2 and of sensitivity to endotoxin (LPS) in islet beta cells," *Clin. Exp. Immunol.* **133**, 208–218 (2003).

- ⁶⁶H. Garay-Malpartida, H. Mourao, M. Mantovani, I. Santos, M. Sogayar, and A. Goldberg, "Toll-like receptor 4 (TLR4) expression in human and murine pancreatic beta-cells affects cell viability and insulin homeostasis," *BMC Immunol.* **12**, 18 (2011).
- ⁶⁷A. Guilherme, J. Virbasius, P. Vishwajeet, and M. Czech, "Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **9**, 367–377 (2008).
- ⁶⁸M. Laatz, K. Gruntmeir, C. Pollitt, C. McGowan, M. Silence, and V. Lacombe, "Hyperinsulinemia down-regulates tlr4 expression in the mammalian heart," *Front. Endocrinol.* **5**, 120 (2014).
- ⁶⁹B. Jayashree, Y. Bibin, D. Prabhu, C. Shanthirani, K. Gokulakrishnan, B. Lakshmi, V. Mohan, and M. Balasubramanyam, "Increased circulatory levels of lipopolysaccharide (LPS) and zonulin signify novel biomarkers of proinflammation in patients with type 2 diabetes," *Mol. Cell Biochem.* **388**, 203–210 (2014).
- ⁷⁰D. Fang, Z. Huang, H. Guan, J. Liu, B. Yao, H. Xiao, and Y. Li, "The Akt/FoxO1/p27 pathway mediates the proliferative action of Liraglutide in β cells," *Mol. Med. Rep.* **5**, 233–238 (2012).
- ⁷¹T. Kitamura and Y. Kimamura, "Role of FoxO proteins in pancreatic beta cells," *Endocr. J.* **54**, 507–515 (2007).
- ⁷²S. Shoelson, J. Lee, and A. Goldfine, "Inflammation and insulin resistance," *J. Clin. Invest.* **116**, 1793–1801 (2006).
- ⁷³M. Andrews Guzmán, M. Arredondo Olguín, and M. Olivares Gronhert, "Glycemic control and oxidative stress markers and their relationship with the thioredoxin interacting protein (TXNIP) gene in type 2 diabetic patients," *Nutr. Hosp.* **31**, 1129–1133 (2014).
- ⁷⁴A. Lerner, J. Upton, P. Praveen, R. Ghosh, Y. Nakagawa, A. Igbaria, S. Shen, V. Nguyen, B. Backes, M. Heiman, N. Heintz, P. Greengard, S. Hui, Q. Tang, A. Trusina, S. Oakes, and F. Papa, "IRE1 α induces thioredoxin-interacting protein to activate the NLRP3 inflammasome and promote programmed cell death during endoplasmic reticulum stress," *Cell Metab.* **16**, 250–264 (2012).
- ⁷⁵G. Leibowitz and K. Cerasi, "The role of TXNIP in the pathophysiology of diabetes and its vascular complications: A concise review," *Medicographia* **36**, 391–397 (2014).
- ⁷⁶Y. Chen and F. Brandizzi, "IRE1:ER stress sensor and cell fate executor," *Trends Cell Biol.* **23**, 547–555 (2013).
- ⁷⁷N. Rabhi, E. Salas, P. Froguel, and J.-S. Annicotte, "Role of the unfolded protein response in β cell compensation and failure during diabetes," *J. Diabetes Res.* **2014**, 11 (2014).
- ⁷⁸C. Hetz, "The unfolded protein response: Controlling cell fate decisions under ER stress and beyond," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **13**, 89–102 (2012).
- ⁷⁹C. Villarreal, P. Padilla-Longoria, and E. Alvarez-Buylla, "General theory of genotype to phenotype mapping: Derivation of epigenetic landscapes from n-node complex gene regulatory networks," *Phys. Rev. Lett.* **109**, 1–5 (2012).
- ⁸⁰J. Davila-Velderrain, C. Villarreal, and E. Alvarez-Buylla, "Reshaping the epigenetic landscape during early flower development: Induction of attractor transitions by relative differences in gene decay rates," *BMC Syst. Biol.* **9**, 20 (2015).
- ⁸¹L. Mendoza and A. Mendez, "A dynamical model of the regulatory network controlling lymphopoiesis," *Biosystems* **137**, 26–33 (2015).
- ⁸²A. Mendez and L. Mendoza, "A network model to describe the terminal differentiation of b cells," *PLOS Comput. Biol.* **12**, e1004696 (2016).
- ⁸³V. Hernández-Hernández, R. A. Barrio, M. Benítez, N. Nakayama, J. R. Romero-Arias, and V. C., "A physico-genetic module for the polarisation of auxin efflux carriers PIN-FORMED (PIN)," *Phys. Biol.* **15**, 036002 (2018).
- ⁸⁴M. Martínez-Sánchez, L. Huerta, E. Alvarez-Buylla, and C. Villarreal, "Role of cytokine combinations on CD4+ T cell differentiation, partial polarization and plasticity: Continuous network modeling approach," *Front. Physiol.* **9**, 877 (2018).
- ⁸⁵C. Piperi, C. Adamopoulos, and A. G. Papavassiliou, "XBP1: A pivotal transcriptional regulator of glucose and lipid metabolism," *Trends Endocrinol. Metab.* **27**, 8885–8890 (2016).
- ⁸⁶N. Alhawiti, S. Al Mahri, A. Azhar, and S. Shafi, "TXNIP in metabolic regulation: Physiological role and therapeutic outlook," *Curr. Drug Targets* **18**, 1095–1103 (2017).
- ⁸⁷G. Xu, J. Chen, G. Jing, and A. Shalev, "Thioredoxin-interacting protein regulates insulin transcription through microRNA-204," *Nat. Med.* **19**, 1141–1146 (2013).
- ⁸⁸A. Shalev, "Thioredoxin-interacting protein: Regulation and function in the pancreatic β cell," *Mol. Endocrinol.* **28**(8), 1211–1220 (2014).
- ⁸⁹G. Xu, J. Chen, G. Jing, and A. Shalev, "Preventing β -cell loss and diabetes with calcium channel blockers," *Diabetes* **61**, 848–856 (2012).
- ⁹⁰M. Prentki and C. Nolan, "Islet β cell failure in type 2 diabetes," *J. Clin. Invest.* **116**, 1802–1812 (2006).
- ⁹¹M. Usui, S. Yamaguchi, Y. Tanji, R. Tominaga, Y. Ishigaki, M. Fukumoto, H. Katagiri, K. Mori, Y. Oka, and H. Ishihara, "Atf6 α -null mice are glucose intolerant due to pancreatic β -cell failure on a high-fat diet but partially resistant to diet-induced insulin resistance," *Metabolism* **61**, 1118–1128 (2012).

B. Proposiciones lógicas, código en Fortran, atractores y código en Wolfram mathematica

B.1. Proposiciones lógicas

B.1.1. Proposiciones lógicas de la red de células beta pancreáticas

Las operaciones **ó**, **y**, **no**, son representados por los operadores lógicos \cup , \cap , \neg , respectivamente.

$$\text{insulin}(t + 1) = \text{insulin}(t) \tag{10}$$

$$\text{Akt}(t + 1) = \text{insulin}(t) \cap \neg \text{NF}\kappa\text{B}(t) \tag{11}$$

$$\begin{aligned} \text{NF}\kappa\text{B}(t)(t + 1) &= (\text{IL1}\beta(t)/\text{IL6}(t)/\text{TNF}\alpha) \cup \text{TLR } 2/4(t) \cup \text{TXNIP}(t) \\ &\cup \text{FOXO1}(t) \end{aligned} \tag{12}$$

$$\text{TLR } 2/4(t + 1) = \text{Lipopolysaccharides}(t) \tag{13}$$

$$\text{lipopolysaccharides}(t + 1) = \text{Lipopolysaccharides}(t) \tag{14}$$

$$\text{TXNIP}(t + 1) = \text{Unfolded protein response}(t) \tag{15}$$

$$(\text{IL1}\beta/\text{IL6}/\text{TNF}\alpha)(t + 1) = (\text{IL1}\beta/\text{IL6}/\text{TNF}\alpha)(t) \tag{16}$$

$$\text{XBP1}(t + 1) = \text{Akt}(t) \cup \text{ATF4}(t) \cap \neg \text{ER expansion}(t) \tag{17}$$

$$\text{ATF4}(t + 1) = \text{eIF2}\alpha(t) \tag{18}$$

$$\text{ER expansion}(t + 1) = \text{chaperone proteins}(t) \tag{19}$$

$$\text{chaperone proteins}(t + 1) = \text{XBP1s}(t) \cup \text{ATF6}(t) \tag{20}$$

$$\text{XBP1s}(t + 1) = \text{pIRE1}\alpha(t) \tag{21}$$

$$\text{unfolded protein response}(t + 1) = \text{NF}\kappa\text{B}(t) \cup \text{TXNIP}(t) \cap \neg \text{XBP1}(t) \tag{22}$$

$$\text{FOXO1}(t + 1) = \neg \text{Akt}(t) \cap \neg \text{AMPK}(t) \tag{23}$$

$$\text{AMPK}(t + 1) = \neg \text{ATP}(t) \tag{24}$$

$$\text{ATP}(t + 1) = \text{citric acid cycle}(t) \tag{25}$$

$$\text{canales de calcio}(t + 1) = \neg \text{canales de potasio sensibles a ATP}(t) \tag{26}$$

$$\text{canales de potasio sensibles a ATP}(t + 1) = \neg \text{ATP}(t) \tag{27}$$

$$\text{citric acid cycle}(t + 1) = \text{pyruvate}(t) \tag{28}$$

$$\text{pyruvate}(t + 1) = \text{intracellular glucose}(t) \tag{29}$$

$$\text{intracellular glucose}(t + 1) = \text{GLUT2}(t) \tag{30}$$

$$\text{GLUT2}(t + 1) = \text{extracellular glucose}(t) \tag{31}$$

$$\begin{aligned}
\text{insulin secretion}(t + 1) &= \text{insulin}(t) \cup \text{parasympathetic neuropeptides}(t) \\
&\cup \text{GLP1}(t) \cup \text{GIP}(t) \cup \text{ATP}(t) \cup \text{proinsulin biosynthesis}(t) \\
&\cup \text{canales de calcio}(t) \\
&\cap \neg\text{ghrelin}(t) \cap \neg\text{sympathetic neuropeptides}(t) \\
&\cap \neg\text{TXNIP}(t)
\end{aligned} \tag{32}$$

$$\text{proinsulin biosynthesis}(t + 1) = \text{IRE1}\alpha \tag{33}$$

$$\text{ghrelin}(t + 1) = \text{ghrelin}(t) \tag{34}$$

$$\text{sympathetic neuropeptides}(t + 1) = \text{sympathetic neuropeptides}(t) \tag{35}$$

$$\text{parasympathetic neuropeptides}(t + 1) = \text{parasympathetic neuropeptides}(t) \tag{36}$$

$$\text{GLP-1}(t + 1) = \text{GLP-1}(t) \tag{37}$$

$$\text{GIP}(t + 1) = \text{GIP}(t) \tag{38}$$

$$\text{extracellular glucose}(t + 1) = \text{extracellular glucose}(t) \tag{39}$$

$$\text{IRE1}\alpha(t + 1) = \text{unfolded protein response}(t) \tag{40}$$

$$\text{pIRE1}\alpha(t + 1) = \text{unfolded protein response}(t) \tag{41}$$

$$\text{ATF6}(t + 1) = \text{unfolded protein response}(t) \tag{42}$$

$$\text{PERK}(t + 1) = \text{unfolded protein response}(t) \tag{43}$$

$$\text{eIF2}\alpha(t + 1) = \text{PERK}(t) \tag{44}$$

$$\text{JNK}(t + 1) = \text{pIRE1}\alpha(t) \tag{45}$$

$$\text{apoptosis}(t + 1) = \text{JNK}(t) \cup \text{XBP1s}(t) \cup \text{ATF4}(t) \tag{46}$$

B.1.2. Proposiciones lógicas de la red de células beta y hepatocitos

$$\text{HDL}(t + 1) = \text{adiponectina}(t) \cap \neg \text{triglicéridos}(t) \quad (47)$$

$$\text{VLDL}(t + 1) = \text{triglicéridos}(t) \quad (48)$$

$$\text{triglicéridos}(t + 1) = \text{ácidos grasos}(t) \quad (49)$$

$$\text{ácidos grasos}(t + 1) = \text{Acetil-CoA}(t) \quad (50)$$

$$\text{Acetil-CoA}(t + 1) = \text{glucosa intracelular}(t) \quad (51)$$

$$\begin{aligned} \text{SREBP-1c}(t + 1) &= \text{PKC}(t) \cup \text{SOCS3}(t) \\ &\cup \text{respuesta a proteínas mal plegadas}(t) \end{aligned} \quad (52)$$

$$\text{PKC}(t + 1) = \text{insulina}(t) \quad (53)$$

$$\text{insulin}(t + 1) = \text{insulina}(t) \quad (54)$$

$$\text{Akt}(t + 1) = \text{insulin}(t) \cap \neg \text{SOCS3}(t) \quad (55)$$

$$\begin{aligned} \text{NF}\kappa\text{B}(t)(t + 1) &= (\text{IL1}\beta(t)/\text{IL6}(t)/\text{TNF}\alpha(t)) \cup \text{TLR } 2/4(t) \cup \text{TXNIP}(t) \\ &\cup \text{FOXO1}(t) \end{aligned} \quad (56)$$

$$\text{TLR } 2/4(t + 1) = \text{lipopolisacáridos}(t) \quad (57)$$

$$\text{lipopolisacáridos}(t + 1) = \text{lipopolisacáridos}(t) \quad (58)$$

$$\text{TXNIP}(t + 1) = \text{respuesta a proteínas mal plegadas}(t) \quad (59)$$

$$(\text{IL1}\beta/\text{IL6}/\text{TNF}\alpha)(t + 1) = (\text{IL1}\beta/\text{IL6}/\text{TNF}\alpha)(t) \quad (60)$$

$$\begin{aligned} \text{XBP1}(t + 1) &= \text{Akt}(t) \cup \text{ATF4}(t) \\ &\cap \neg \text{expansión del retículo endoplásmico}(t) \end{aligned} \quad (61)$$

$$\text{ATF4}(t + 1) = \text{eIF2}\alpha(t) \quad (62)$$

$$\text{expansión del retículo endoplásmico}(t + 1) = \text{proteínas chaperonas}(t) \quad (63)$$

$$\text{proteínas chaperonas}(t + 1) = \text{ATF6}(t) \cup \text{XBP1s}(t) \quad (64)$$

$$\text{XBP1s}(t + 1) = \text{pIRE1}\alpha(t) \quad (65)$$

$$\text{respuesta a proteínas mal plegadas}(t + 1) = \text{NF}\kappa\text{B}(t) \cup \text{TXNIP}(t) \cap \neg \text{XBP1}(t) \quad (66)$$

$$\text{FOXO1}(t + 1) = \neg \text{Akt}(t) \cap \neg \text{AMPK}(t) \quad (67)$$

$$\text{AMPK}(t + 1) = \text{adiponectina}(t) \cup \text{ejercicio}(t) \neg \text{ATP}(t) \quad (68)$$

$$\text{ATP}(t + 1) = \text{ciclo del ácido cítrico}(t) \quad (69)$$

$$\text{ciclo del ácido cítrico}(t + 1) = \text{piruvato}(t) \quad (70)$$

$$\text{piruvato}(t + 1) = \text{glucosa intracelular}(t) \quad (71)$$

$$\text{glucosa intracelular}(t + 1) = \text{GLUT2}(t) \quad (72)$$

$$\text{GLUT2}(t + 1) = \text{glucosa extracelular}(t) \quad (73)$$

$$\begin{aligned}
\text{secreción de insulina}(t+1) &= \text{insulina}(t) \cup \text{neuropéptidos parasimpáticos}(t) \\
&\cup \text{GLP1}(t) \cup \text{GIP}(t) \cup \text{ATP}(t) \cup \text{síntesis de proinsulina}(t) \\
&\cap \neg\text{ghrelina}(t) \cap \neg\text{sympathetic neuropeptides}(t) \\
&\cap \neg\text{TXNIP}(t) \tag{74}
\end{aligned}$$

$$\text{glucogénesis}(t+1) = \text{glucosa intracelular}(t) \cup \text{Akt}(t) \cap \neg\text{glucagon}(t) \tag{75}$$

$$\text{gluconeogénesis}(t+1) = \text{FOXO1}(t) \cup \text{TXNIP}(t) \cup \text{CREB}(t) \tag{76}$$

$$\text{glucagon}(t+1) = \text{glucagon}(t) \tag{77}$$

$$\text{CREB}(t+1) = \text{glucagon}(t) \tag{78}$$

$$\text{ejercicio}(t+1) = \text{ejercicio}(t) \tag{79}$$

$$\text{adiponectina}(t+1) = \text{adiponectina}(t) \tag{80}$$

$$\text{SOCS3}(t+1) = \text{STAT3}(t) \tag{81}$$

$$\text{STAT3}(t+1) = (\text{IL1}\beta/\text{IL6}/\text{TNF}\alpha)(t) \cap \neg\text{AMPK}(t) \tag{82}$$

$$\text{síntesis de proinsulina}(t+1) = \text{IRE1}\alpha \tag{83}$$

$$\text{ghrelina}(t+1) = \text{ghrelina}(t) \tag{84}$$

$$\text{neuropéptidos simpáticos}(t+1) = \text{neuropéptidos simpáticos}(t) \tag{85}$$

$$\text{neuropéptidos parasimpáticos}(t+1) = \text{neuropéptidos parasimpáticos}(t) \tag{86}$$

$$\text{GLP-1}(t+1) = \text{GLP-1}(t) \tag{87}$$

$$\text{GIP}(t+1) = \text{GIP}(t) \tag{88}$$

$$\text{glucosa extracelular}(t+1) = \text{glucosa extracelular}(t) \tag{89}$$

$$\text{IRE1}\alpha(t+1) = \text{respuesta a proteínas mal plegadas}(t) \tag{90}$$

$$\text{pIRE1}\alpha(t+1) = \text{respuesta a proteínas mal plegadas}(t) \tag{91}$$

$$\text{ATF6}(t+1) = \text{respuesta a proteínas mal plegadas}(t) \tag{92}$$

$$\text{PERK}(t+1) = \text{respuesta a proteínas mal plegadas}(t) \tag{93}$$

$$\text{eIF2}\alpha(t+1) = \text{PERK}(t) \tag{94}$$

$$\text{JNK}(t+1) = \text{pIRE1}\alpha(t) \tag{95}$$

$$\text{apoptosis}(t+1) = \text{JNK}(t) \cup \text{XBP1s}(t) \cup \text{ATF4}(t) \tag{96}$$

B.2. Código en Fortran

El código crea dos arreglos, el primero corresponde a una matriz con todas las posibles configuraciones de condiciones iniciales y el segundo está formado por una matriz con todas las posibles configuraciones de condiciones finales, una por cada configuración inicial.

Para una red con $n = 37$ nodos considerados en nuestro estudio de la red de células beta, se genera un número excesivamente grande (137,438,953,472) de configuraciones diferentes. Para manejar esta dificultad, dividimos las interacciones entre nodos en dos conjuntos, correspondientes a interacciones independientes y dependientes. En el primer conjunto consideramos aquellos nodos que son entradas externas, así como aquellos que debido a su centralidad, determinan los estados de otros nodos a través de sus reglas de interacción Booleanas. En el conjunto de entradas externas colocamos nueve componentes: insulina extracelular, ghrelina, neuropéptidos simpáticos, neuropéptidos parasimpáticos, glucosa extracelular, IL1 β /IL6/TNF α (citocinas pro-inflamatorias), lipopolisacáridos, GLP-1 y GIP. A este conjunto agregamos Akt y la respuesta a proteínas debido a sus posiciones estratégicas en la red. Estos últimos dos conectan circuitos involucrados en el estrés del retículo endoplásmico y la respuesta inflamatoria, así que sus niveles de expresión tienen gran influencia en los destinos de la célula beta pancreática por distintas rutas de señalización. A pesar de que estos nodos involucran interacciones dependientes, fueron considerados como entradas por la condición de que el resto de las variables actualizan sus valores consistentemente con las reglas Booleanas. En particular, debido a que Akt es controlada por la insulina, si este último elemento está inactivo, entonces Akt también lo estará; por otro lado, si la insulina está activada entonces Akt puede inicialmente tener un valor 0 o 1. Entonces el análisis puede reducirse al considerar sólo un conjunto de $2^{11} = 2048$ condiciones iniciales.

El código especifica las condiciones iniciales específicas que llevan al mismo atractor k . El tamaño de las cuencas de atracción está determinado por N_K , que estima la probabilidad de que un patrón de activación o inhibición se exprese. Debido a que 2^{11} configuraciones de condiciones

iniciales son generadas independientemente, cada configuración inicial implicaría una probabilidad $p = 1/2^{11}$ de que se alcanzara un atractor dado k , así que la probabilidad de que un patrón k -ésimo sea expresado sería $P_k = N_k p$. Sin embargo, ciertas combinaciones de variables pueden no tener algún sentido biológico, por lo que tales combinaciones deben ser descartadas en el conteo probabilístico.

Programa células beta

! declaración de variables:

INTEGER n, k, l, ll, i, p, r, s, g, f

INTEGER, DIMENSION (:,:), ALLOCATABLE :: X ! arreglo de matriz bidimensional

INTEGER, DIMENSION (:,:), ALLOCATABLE :: Y ! vector unidimensional

INTEGER, DIMENSION (:,:), ALLOCATABLE :: Z ! vector unidimensional

INTEGER, DIMENSION (:,:), ALLOCATABLE :: W, WW ! vector unidimensional

INTEGER, DIMENSION (:), ALLOCATABLE :: m, lu, lo

CHARACTER, DIMENSION (:), ALLOCATABLE :: nodes ! valor constante

n = 11 ! número de nodos independientes (externos y centrales)

p = 37 ! número de nodos total

r = p-n ! número de nodos dependientes

ALLOCATE (m(n)) ! vector m con n entradas

ALLOCATE (nodes(p)) ! vector nodos con p entradas

! imprime el número total de configuraciones de condiciones iniciales posibles:

DO i=1,n+1

m(i) = 2^(i - 1)

print*, m(i)

ENDDO

! declaración de entradas para cada arreglo:

```
ALLOCATE (X(m(n+1),n),Y(m(n+1),p),Z(m(n+1)+1,m(n+1)+1),W(m(n+1)+1,
m(n+1)+1),lu(m(n+1)),
lo(m(n+1)),WW(m(n+1)+1,m(n+1)+1))
X = 0
Z = 0
WW = 0
lu = 0
lo = 0
```

! En esta sección, el programa crea un archivo "condiciones iniciales.dat" que imprime una matriz con todas las posibles configuraciones de condiciones iniciales. Esta matriz es un arreglo con 11 columnas y 2^{11} filas.

```
open(UNIT=1,FILE = 'initial conditions.dat')
DO j=1,n
DO i=1,m(n+1)
l = 0
IF (MOD(i-1,m(j)).EQ.0) THEN
l = (i-1)/m(j)
ENDIF
IF (MOD(l,2).NE.0) THEN
DO k=1,m(j)
X(i+k-1,n+1-j) = 1
ENDDO
ENDIF
ENDDO
ENDDO
```



```

DO i=1,m(n+1)
WRITE(1,*) (X(i,j), j=1,n)
ENDDO

```

! En esta sección, el programa crea un archivo "finales.dat" con el conjunto de configuraciones estacionarias finales asociadas a cada configuración de condiciones iniciales. Este arreglo contiene 26 columnas ($r = p - n = 26$) y 2^{11} filas. Cada vector es un resultado de las siguientes reglas Booleanas:

```

open(UNIT=2,FILE = 'finales.dat')

```

```

DO i=1,m(n+1)

```

```

Y(i,insulin secretion)=((X(i,insulin) + X(i,extracellular glucose)-X(i,insulin) * X(i,extracellular
glucose) + X(i,GLP-1) + X(i,GIP) - X(i,GLP-1) * X(i,GIP)) - (X(i,insulin) + X(i,extracellular
glucose) -X(i,insulin) * X(i,extracellular glucose)) * (X(i,GLP-1) + X(i,GIP) - X(i,GLP-1) *
X(i,GIP)) + X(i,parasympathetic neuropeptides) + X(i,unfolded protein response) - X(i,parasympathetic
neuropeptides) * X(i,unfolded protein response) - ((X(i,insulin) + X(i,extracellular glucose) -
X(i,insulin) * X(i,extracellular glucose) + X(i,GLP-1) + X(i,GIP) - X(i,GLP-1) * X(i,GIP)) -
(X(i,insulin) + X(i,extracellular glucose) - X(i,insulin) * X(i,extracellular glucose)) * (X(i,GLP-
1) + X(i,GIP) - X(i,GLP-1) * X(i,GIP))) * (X(i,parasympathetic neuropeptides) + X(i,unfolded
protein response) - X(i,parasympathetic neuropeptides) * X(i,unfolded protein response))) * (1-
X(i,ghrelin)) * (1-X(i,sympathetic neuropeptides)) * (1-X(i,unfolded protein response))

```

```

Y(i,GLUT2) = X(i,extracellular glucose)

```

```

Y(i,intracellular glucose) = X(i,extracellular glucose)

```

```

Y(i,NFκB) = (X(i,IL1β/IL6/TNFα) + (1-X(i,Akt)) * X(i,extracellular glucose) - X(i,IL1β/IL6/TNFα)
* (1-X(i,Akt)) * X(i,extracellular glucose) + X(i,unfolded protein response) + X(i,lipopolysaccharides)
- X(i,unfolded protein response) * X(i,lipopolysaccharides)) -(X(i,IL1β/IL6/TNFα) + (1-X(i,Akt))
* X(i,extracellular glucose) - X(i,IL1β/IL6/TNFα) * (1-X(i,Akt)) * X(i,extracellular glucose))
* (X(i,unfolded protein response) + X(i,lipopolysaccharides) - X(i,unfolded protein response)

```

* X(i,lipopolysaccharides))

Y(i,FOXO1) = (1-X(i,Akt)) * X(i,extracellular glucose)

Y(i,AMPK) = 1 - X(i,extracellular glucose)

Y(i,pyruvate) = X(i,extracellular glucose)

Y(i,citric acid cycle) = X(i,extracellular glucose)

Y(i,ATP) = X(i,extracellular glucose)

Y(i,ATP channels) = 1-X(i,extracellular glucose)

Y(i,calcium channels) = X(i,extracellular glucose)

Y(i,TXNIP) = X(i,unfolded protein response)

Y(i,TLR 2/4) = X(i,lipopolysaccharides)

Y(i,proinsulin biosynthesis) = X(i,unfolded protein response)

Y(i,IRE1 α) = X(i,unfolded protein response)

Y(i,ATF6) = X(i,unfolded protein response)

Y(i,PERK) = X(i,unfolded protein response)

Y(i,XBP1) = (X(i,Akt) + X(i,unfolded protein response) - X(i,Akt) * X(i,unfolded protein response)) * (1 - X(i,unfolded protein response))

Y(i,pIRE1 α) = X(i,unfolded protein response)

Y(i,XBP1s) = X(i,unfolded protein response)

Y(i,eIF2 α) = X(i,unfolded protein response)

Y(i,ATF4) = X(i,unfolded protein response)

Y(i,chaperone proteins) = X(i,unfolded protein response)

Y(i,JNK) = X(i,unfolded protein response)

Y(i,ER expansion) = X(i,unfolded protein response)

Y(i,apoptosis) = X(i,unfolded protein response)

ENDDO

DO i=1,m(n+1)

WRITE(2,*) (Y(i,j), j=n+1,p)

ENDDO

! En esta sección, se crea un archivo llamado “comparación.dat”, que muestra las configuraciones de condiciones iniciales que generan el mismo atractor. Esto se logra comparando todas las condiciones finales en UNIT 2.

```
open(UNIT=3,FILE= 'comparación.dat')
```

```
g = 1
```

```
mu = 1
```

```
DO i=1,m(n+1)
```

```
W(1,i) = i
```

```
ENDDO
```

```
lu(1) = m(n+1)
```

```
100 k = mu
```

```
l = 0
```

```
ll = 0
```

```
IF (k.eq.0) THEN
```

```
print*, '.error'
```

```
ELSE
```

```
g = g + 1
```

```
DO i=k,k+lu(mu)-1
```

```
s=0
```

```
DO j=n,p
```

```
s= s + ABS(Y(k,j)-Y(W(g-1,i-k+1),j))
```

```
ENDDO
```

```
IF (s.eq.0) THEN
```

```
l = l + 1
```

```
Z(g-1,l) = W(g-1,i-k+1)
```

ELSE

ll = ll + 1

W(g,ll) = W(g-1,i-k+1)

ENDIF

ENDDO

ENDIF

mu = W(g,1)

lu(mu) = ll

IF (mu.ne.0) THEN

lo(mu) = 1

GOTO 100

ENDIF

DO k= 1, g-2

WRITE(3,*) (Z(k,j), j=1,lo(W(k+1,1)))

WRITE(3,*) "—————"

ENDDO

close(1)

close(2)

close(3)

end program células beta

B.3. Atractores

Consideramos un criterio de clasificación basado en lo siguiente. Hay cuatro nodos fundamentales que determinan los estados de salud, síndrome metabólico y diabetes tipo 2: secreción de insulina, XBP1, TXNIP y apoptosis. Para salud, es necesario que los nodos correspondientes a secreción de insulina y XBP1 estén activos, mientras que los correspondientes a TXNIP y apoptosis estén inactivos; además, los módulos correspondientes a almacenamiento de glucosa y producción de ATP se mantengan activos, mientras que los módulos correspondientes a inflamación y estrés del retículo endoplásmico se mantengan en su mayoría inactivos. Para síndrome metabólico, el nodo correspondiente a secreción de insulina debe estar activo, mientras que el correspondiente a apoptosis inactivo; por otra parte, XBP1 y TXNIP pueden estar activos o inactivos y al igual que en el caso anterior, los módulos correspondientes a almacenamiento de glucosa y producción de ATP deben estar activos, pero ahora, el módulo correspondiente a inflamación en la mayoría de los casos está activo. Para diabetes tipo 2, es necesario que los nodos correspondientes a secreción de insulina y XBP1 estén inactivos, mientras que TXNIP y apoptosis están activos; además, los módulos correspondientes a inflamación y estrés del retículo endoplásmico están en su mayoría activos.

Nodo/Tamaño del atractor 256 256 128 128 128 128 48 48 15 15

Secreción de insulina										
insulina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ghrelina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
neuropéptidos simpáticos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
neuropéptidos parasimpáticos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GLP-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GIP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
secreción de insulina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Glucosa intracelular										
glucosa extracelular	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
GLUT2	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
glucosa intracelular	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
Producción de ATP en glucólisis										
piruvato	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
ciclo del ácido cítrico	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
ATP	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0
canales de potasio sensibles a ATP	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0
canales de calcio	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
AMPK	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
Inflamación										
IL1 β /IL6/TNF α	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
lipopolisacáridos	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
TLR 2/4	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
FOXO1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
NF κ B	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
TXNIP	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
Estrés del retículo endoplásmico										
respuesta a proteínas mal plegadas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Akt	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
XBP1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
ATF6	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
proteínas chaperonas	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
expansión del retículo endoplásmico	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
IRE1 α	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
síntesis de proinsulina	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0
PERK	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
eIF2 α	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
ATF4	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
XBP1s	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
pIRE1 α	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
JNK	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
apoptosis	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0

Estados estables asociados DT2 DT2 DT2 DT2 DT2 DT2 ninguno ninguno ninguno ninguno

Nodo/Tamaño del atractor	30	32	32	32	16	16	96	96	96
Secreción de insulina									
insulina	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ghrelin1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
neuropéptidos simpáticos	-	-	-	-	-	-	-	-	-
neuropéptidos parasimpáticos	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GLP-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GIP	-	-	-	-	-	-	-	-	-
secreción de insulina	1	1	1	1	1	1	0	0	0
Glucosa intracelular									
glucosa extracelular	0	1	1	1	1	1	1	1	1
GLUT2	0	1	1	1	1	1	1	1	1
glucosa intracelular	0	1	1	1	1	1	1	1	1
Producción de ATP en glucólisis									
piruvato	0	1	1	1	1	1	1	1	1
ciclo del ácido cítrico	0	1	1	1	1	1	1	1	1
ATP	0	1	1	1	1	1	1	1	1
canales de potasio sensibles a ATP	0	0	0	0	0	0	0	1	0
canales de calcio	1	1	1	1	1	1	0	1	0
AMPK	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Inflamación									
IL1 β /IL6/TNF α	-	-	-	-	-	-	-	-	-
lipopolisacáridos	1	1	1	0	0	0	1	1	0
TLR 2/4	1	1	1	0	0	0	1	1	0
FOXO1	0	0	1	1	0	0	0	1	1
NF κ B	1	1	1	1	0	1	1	1	1
TXNIP	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Estrés del retículo endoplásmico									
respuesta a proteínas mal plegadas	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Akt	0	0	0	0	1	0	0	0	0
XBP1	1	1	0	0	1	1	1	0	0
ATF6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
proteínas chaperonas	0	0	0	0	0	0	0	0	0
expansión del retículo endoplásmico	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IRE1 α	0	0	0	0	0	0	0	0	0
síntesis de proinsulina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PERK	0	0	0	0	0	0	0	0	0
eIF2 α	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ATF4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
XBP1s	0	0	0	0	0	0	0	0	0
pIRE1 α	0	0	0	0	0	0	0	0	0
JNK	0	0	0	0	0	0	0	0	0
apoptosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Estados estables asociados	SM	SM	SM	SM	salud	salud	ninguno	ninguno	ninguno

Nodo/Tamaño del atractor	15	15	30	49	49	49	98	98	49
Secreción de insulina									
insulina	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ghrelina	-	-	-	-	-	-	-	-	-
neuropéptidos simpáticos	-	-	-	-	-	-	-	-	-
neuropéptidos parasimpáticos	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GLP-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GIP	-	-	-	-	-	-	-	-	-
secreción de insulina	1	1	1	0	0	0	0	0	0
Glucosa intracelular									
glucosa extracelular	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GLUT2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
glucosa intracelular	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Producción de ATP en glucólisis									
piruvato	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ciclo del ácido cítrico	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ATP	0	0	0	0	0	0	0	0	0
canales de potasio sensibles a ATP	0	0	0	0	1	0	1	1	0
canales de calcio	1	1	1	1	1	1	0	0	0
AMPK	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Inflamación									
IL1 β /IL6/TNF α	-	-	-	-	-	-	-	-	-
lipopolisacáridos	0	0	1	0	0	0	1	1	0
TLR 2/4	0	0	1	0	0	0	1	1	0
FOXO1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NF κ B	1	1	1	0	1	1	1	1	0
TXNIP	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Estrés del retículo endoplásmico									
respuesta a proteínas mal plegadas	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Akt	0	0	0	1	0	0	0	0	0
XBP1	0	0	0	1	0	1	0	1	0
ATF6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
proteínas chaperonas	0	0	0	0	0	0	0	0	0
expansión del retículo endoplásmico	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IRE1 α	0	0	0	0	0	0	0	0	0
síntesis de proinsulina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PERK	0	0	0	0	0	0	0	0	0
eIF2 α	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ATF4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
XBP1s	0	0	0	0	0	0	0	0	0
pIRE1 α	0	0	0	0	0	0	0	0	0
JNK	0	0	0	0	0	0	0	0	0
apoptosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Estados estables asociados	SM	SM	SM	ninguno	ninguno	ninguno	ninguno	ninguno	ninguno

Tabla 1. Estados finales resultantes de la aproximación Booleana correspondientes a salud, SM, DT2 o no asociados a ningún estado celular en células beta. La tabla se divide en módulos funcionales de secreción de insulina, glucosa intracelular, producción de ATP en glucólisis, inflamación y estrés del retículo endoplásmico. Los nodos que tomaron valores alternados de 0 o 1 son denotados con '-'. Los encabezados de cada columna representan las veces que cada atractor se alcanzó. Por ejemplo, en la columna 41, el mismo estado final fue repetido 256 veces.

B.4. Código en Wolfram mathematica

(*Note: el texto entre (* *) representa comentarios en el ambiente de Wolfram Mathematica.*)

(*Como se menciona en el texto principal, hicimos un análisis dinámico para caracterizar las transiciones entre estados estacionarios relacionados a salud, síndrome metabólico y diabetes tipo 2. Usamos el software Wolfram Mathematica para resolver las ecuaciones diferenciales ordinarias que describen el patrón de expresión de cada estado y las transiciones entre ellos.

(*

$$\frac{dq_k}{dt} = \mu(w_k) - \alpha_k q_k, \quad (97)$$

$$\mu(w_k) = \frac{1}{1 + \exp \left[-b (w_k(q_1, \dots, q_n) - w^{thr}) \right]}. \quad (98)$$

$\mu(w_k)$ es una función característica con un comportamiento logístico, representando el nivel de actividad inducido por la acción de proposiciones lógicas de fuzzy w_k que actúan sobre el nodo k -ésimo. w^{thr} es un valor umbral, $w^{thr} = 1/2$. b es una tasa de variación de la proposición $\mu(w_k)$ desde un estado inhibido hasta uno totalmente expresado. q_k es el nivel de expresión del componente k .*)

(*Las interacciones de los nodos son caracterizados por las siguientes proposiciones.*)

B.4.1. Proposiciones lógicas de Fuzzy

(*Los operadores lógicos \cup , \cap , \neg son expresados como:*)

(*

$$q \cap p \rightarrow q \cdot p \quad (99)$$

$$q \cup p \rightarrow q + p - q \cdot p \quad (100)$$

$$\neg p \rightarrow 1 - p \quad (101)$$

*)

$$w_{\text{insulin}}(t+1) = \text{insulin}(t) \quad (102)$$

$$w_{\text{Akt}}(t+1) = \text{insulin}(t)(1-\text{NF}\kappa\text{B}(t)) \quad (103)$$

$$\begin{aligned} w_{\text{NF}\kappa\text{B}}(t+1) &= (\text{IL1}\beta(t)/\text{IL6}(t)/\text{TNF}\alpha) + \text{FOXO1}(t) \\ &- (\text{IL1}\beta(t)/\text{IL6}(t)/\text{TNF}\alpha)\text{FOXO1}(t) + \text{TXNIP}(t) + \text{TLR2}/4(t) \\ &- \text{TXNIP}(t)\text{TLR2}/4(t) - ((\text{IL1}\beta(t)/\text{IL6}(t)/\text{TNF}\alpha) + \text{FOXO1}(t)) \\ &- -(\text{IL1}\beta(t)/\text{IL6}(t)/\text{TNF}\alpha)\text{FOXO1}(t)(\text{TXNIP}(t) + \text{TLR2}/4 \\ &- \text{TXNIP}(t)\text{TLR2}/4) \end{aligned} \quad (104)$$

$$w_{\text{TLR 2}/4}(t+1) = \text{Lipopolysaccharides}(t) \quad (105)$$

$$w_{\text{lipopolysaccharides}}(t+1) = \text{Lipopolysaccharides}(t) \quad (106)$$

$$w_{\text{TXNIP}}(t+1) = \text{Unfolded protein response}(t) \quad (107)$$

$$w_{(\text{IL1}\beta/\text{IL6}/\text{TNF}\alpha)}(t+1) = (\text{IL1}\beta/\text{IL6}/\text{TNF}\alpha)(t) \quad (108)$$

$$w_{\text{XBP1}}(t+1) = (\text{Akt}(t) + \text{ATF4}(t) - \text{Akt}(t)\text{ATF4}(t))(1 - \text{ER expansion}(t)) \quad (109)$$

$$w_{\text{ATF4}}(t+1) = \text{eIF2}\alpha(t) \quad (110)$$

$$w_{\text{ER expansion}}(t+1) = \text{chaperone proteins}(t) \quad (111)$$

$$w_{\text{chaperone proteins}}(t+1) = \text{XBP1s}(t) + \text{ATF6}(t) - \text{XBP1s}(t)\text{ATF6}(t) \quad (112)$$

$$w_{\text{XBP1s}}(t+1) = \text{pIRE1}\alpha(t) \quad (113)$$

$$w_{\text{unfolded protein response}}(t+1) = (\text{NF}\kappa\text{B}(t) + \text{TXNIP}(t) - \text{NF}\kappa\text{B}(t)\text{TXNIP}(t))(1 - \text{XBP1}(t)) \quad (114)$$

$$w_{\text{FOXO1}}(t+1) = (1 - \text{Akt}(t))(1 - \text{AMPK}(t)) \quad (115)$$

$$w_{\text{AMPK}}(t+1) = (1 - \text{ATP}(t)) \quad (116)$$

$$w_{\text{ATP}}(t+1) = \text{citric acid cycle}(t) \quad (117)$$

$$w_{\text{potasio}}(t+1) = 1 - \text{ATP}(t) \quad (118)$$

$$w_{\text{calcio}}(t+1) = 1 - \text{potasio}(t) \quad (119)$$

$$w_{\text{citric acid cycle}}(t+1) = \text{pyruvate}(t) \quad (120)$$

$$w_{\text{pyruvate}}(t+1) = \text{intracellular glucose}(t) \quad (121)$$

$$w_{\text{intracellular glucose}}(t+1) = \text{GLUT2}(t) \quad (122)$$

$$w_{\text{GLUT2}}(t+1) = \text{extracellular glucose}(t) \quad (123)$$

$$\begin{aligned}
w_{\text{insulin secretion}}(t+1) &= (\text{insulin}(t)+\text{ATP}(t)-\text{insulin}(t)\text{ATP}(t)+\text{GIP}(t)+\text{GLP1}(t) \\
&- \text{GIP}(t)\text{GLP1}(t))-(\text{insulin}(t)+\text{ATP}(t)-\text{insulin}(t)\text{ATP}(t))(\text{GIP}(t) \\
&+ \text{GLP1}(t)-\text{GIP}(t)+\text{GLP1}(t))+\text{parasympathetic neuropeptides}(t) \\
&+ \text{proinsulin biosynthesis}(t) \\
&- \text{parasympathetic neuropeptides}(t)\text{proinsulin biosynthesis}(t) \\
&- ((\text{insulin}(t)+\text{ATP}(t)-\text{insulin}(t)\text{ATP}(t)+\text{GIP}(t) \\
&+ \text{GLP1}(t)-\text{GIP}(t)\text{GLP1}(t)) \\
&- (\text{insulin}(t)+\text{ATP}(t)-\text{insulin}(t)\text{ATP}(t))(\text{GIP}(t) \\
&+ \text{GLP1}(t)-\text{GIP}(t)\text{GLP1}(t)))(\text{parasympathetic neuropeptides}(t) \\
&+ \text{proinsulin biosynthesis}(t) \\
&- \text{parasympathetic neuropeptides}(t)\text{proinsulin biosynthesis}(t)) \\
&* (1-\text{ghrelin}(t))(1-\text{sympathetic neuropeptides}(t)) \\
&* (1-\text{TXNIP}(t))
\end{aligned} \tag{124}$$

$$w_{\text{proinsulin biosynthesis}}(t+1) = \text{IRE1}\alpha \tag{125}$$

$$w_{\text{ghrelin}}(t+1) = \text{ghrelin}(t) \tag{126}$$

$$w_{\text{sympathetic neuropeptides}}(t+1) = \text{sympathetic neuropeptides}(t) \tag{127}$$

$$w_{\text{parasympathetic neuropeptides}}(t+1) = \text{parasympathetic neuropeptides}(t) \tag{128}$$

$$w_{\text{GLP-1}}(t+1) = \text{GLP-1}(t) \tag{129}$$

$$w_{\text{GIP}}(t+1) = \text{GIP}(t) \tag{130}$$

$$w_{\text{extracellular glucose}}(t+1) = \text{extracellular glucose}(t) \tag{131}$$

$$w_{\text{IRE1}\alpha}(t+1) = \text{unfolded protein response}(t) \tag{132}$$

$$w_{\text{pIRE1}\alpha}(t+1) = \text{unfolded protein response}(t) \tag{133}$$

$$w_{\text{ATF6}}(t+1) = \text{unfolded protein response}(t) \tag{134}$$

$$w_{\text{PERK}}(t+1) = \text{unfolded protein response}(t) \tag{135}$$

$$w_{\text{eIF2}\alpha}(t+1) = \text{PERK}(t) \tag{136}$$

$$w_{\text{JNK}}(t+1) = \text{pIRE1}\alpha(t) \tag{137}$$

$$\begin{aligned}
w_{\text{apoptosis}}(t+1) &= \text{JNK}(t)+\text{XBP1s}(t)-\text{JNK}(t)\text{XBP1s}(t)+\text{ATF4}(t) \\
&- (\text{JNK}(t)+\text{XBP1s}(t)-\text{JNK}(t)\text{XBP1s}(t))\text{ATF4}(t)
\end{aligned} \tag{138}$$

B.4.2. Definiciones de las tasas de decaimiento y parámetros de saturación de las proposiciones lógicas de fuzzy

$$b = 5;$$

$$\alpha_{insulin} = 1;$$

(* α_k =Tasa de decaimiento del componente k de la red). Inicialmente se asumió que $\alpha_k = 1$ para cada nodo. Entonces, modificamos cada tasa de decaimiento de su valor inicial $\alpha_k = 1$ a un valor máximo $\alpha_k = 5$).

$$\alpha_{Akt} = 1;$$

$$\alpha_{NFkB} = 1;$$

$$\alpha_{TLR2/4} = 1.;$$

$$\alpha_{lipopolysaccharides} = 1;$$

$$\alpha_{TXNIP} = 1;$$

$$\alpha_{IL1\beta/IL6/TNF\alpha} = 1;$$

$$\alpha_{XBP1} = 3;$$

$$\alpha_{ATF4} = 1;$$

$$\alpha_{ERexpansion} = 1;$$

$$\alpha_{chaperoneproteins} = 1;$$

$$\alpha_{XBP1s} = 1;$$

$$\alpha_{unfoldedproteinresponse} = 1;$$

$$\alpha_{FOXO1} = 1;$$

$$\alpha_{AMPK} = 1;$$

$$\alpha_{ATP} = 1;$$

$$\alpha_{potasio} = 1;$$

$$\alpha_{calcio} = 1;$$

$$\alpha_{citricacidcycle} = 1;$$

$\alpha_{pyruvate} = 1;$
 $\alpha_{intracellularglucose} = 1;$
 $\alpha_{GLUT2} = 1;$
 $\alpha_{insulinsecretion} = 1;$
 $\alpha_{proinsulinbiosynthesis} = 1;$
 $\alpha_{ghrelin} = 1;$
 $\alpha_{sympatheticneuropeptides} = 1;$
 $\alpha_{parasympatheticneuropeptides} = 1;$
 $\alpha_{GLP1} = 1;$
 $\alpha_{GIP} = 1;$
 $\alpha_{extracellularglucose} = 1;$
 $\alpha_{IRE1} = 1;$
 $\alpha_{pIRE1} = 1;$
 $\alpha_{ATF6} = 1;$
 $\alpha_{PERK} = 1;$
 $\alpha_{eIF2} = 1;$
 $\alpha_{JNK} = 1;$
 $\alpha_{apoptosis} = 1;$

B.4.3. Condiciones iniciales de la red

(*Cada atractor fue considerado como un conjunto de condiciones iniciales para cada nodo. Each attractor was in this step considered as a set of initial conditions of every node. Las siguientes condiciones iniciales son un ejemplo del caso donde se analizó un estado asociado a salud. *)

$insulin0 = 1;$
 $Akt0 = 1;$
 $NFkB0 = 0;$
 $TLR\ 2/40 = 0;$

lipopolysaccharides0 = 0;
TXNIP0 = 0;
IL1 β /IL6/TNF α 0 = 0;
XBP10 = 0;
ATF40 = 1;
ER expansion0 = 0;
chaperone proteins0 = 0;
XBP1s0 = 0;
unfolded protein response0 = 0;
FOXO10 = 0;
AMPK0 = 1;
ATP0 = 1;
potasio0 = 0;
calcio0 = 1;
citric acid cycle0 = 1;
pyruvate0 = 1;
intracellular glucose0 = 1;
GLUT20 = 1;
insulin secretion0 = 1;
proinsulin biosynthesis0 = 1;
ghrelin0 = 0;
sympathetic neuropeptides0 = 0;
parasympathetic neuropeptides0 = 1;
GLP10 = 1;
GIP0 = 1;
extracellular glucose0 = 1;
IRE10 = 1;
pIRE10 = 0;

$$\text{ATF60} = 0;$$

$$\text{PERK0} = 0;$$

$$\text{eIF20} = 0;$$

$$\text{JNK0} = 0;$$

$$\text{apoptosis0} = 0;$$

B.4.4. Solución de ecuaciones diferenciales ordinarias

(*Se usaron las condiciones iniciales previamente definidas. Mostramos las soluciones como gráficas en el texto principal*).

$$\begin{aligned} \text{netw} &= \text{NDSolve}[\text{insulin}'[t] == 1/(1 + \text{Exp}[-b (\text{winsulin}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{insulin}} \text{insulin}[t], \\ \text{Akt}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{Akt}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{Akt}} \text{Akt}[t], \\ \text{NFkB}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{NFkB}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{NFkB}} \text{NFkB}[t], \\ \text{TLR 2/4}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{TLR 2/4}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{TLR2/4}} \text{TLR 2/4}[t], \\ \text{lipopolysaccharides}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{lipopolysaccharides}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{lipopolysaccharides}} \text{lipopolysaccharides}[t], \\ \text{TXNIP}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{TXNIP}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{TXNIP}} \text{TXNIP}[t], \\ \text{IL1}\beta/\text{IL6}/\text{TNF}\alpha'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{IL1}\beta/\text{IL6}/\text{TNF}\alpha[t] - .5)]) - \alpha_{\text{IL1}\beta/\text{IL6}/\text{TNF}\alpha} \text{IL1}\beta/\text{IL6}/\text{TNF}\alpha[t], \\ \text{XBP1}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{XBP1}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{XBP1}} \text{XBP1}[t], \\ \text{ATF4}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{ATF4}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{ATF4}} \text{ATF4}[t], \\ \text{ER expansion}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{ER expansion}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{ER expansion}} \text{ER expansion}[t], \\ \text{chaperoneproteins}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{chaperone proteins}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{chaperoneproteins}} \text{chaperone proteins}[t], \\ \text{XBP1s}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{XBP1s}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{XBP1s}} \text{XBP1s}[t], \\ \text{unfolded protein response}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{unfolded protein response}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{unfoldedproteinresponse}} \text{unfolded protein response}[t], \\ \text{FOXO1}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{FOXO1}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{FOXO1}} \text{FOXO1}[t], \\ \text{AMPK}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{AMPK}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{AMPK}} \text{AMPK}[t], \\ \text{ATP}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{ATP}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{ATP}} \text{ATP}[t], \\ \text{potasio}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{potasio}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{potasio}} \text{potasio}[t], \\ \text{calcio}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{calcio}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{calcio}} \text{calcio}[t], \\ \text{citric acid cycle}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{citric acid cycle}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{citricacidcycle}} \text{citric acid cycle}[t], \\ \text{pyruvate}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{pyruvate}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{pyruvate}} \text{pyruvate}[t], \\ \text{intracellular glucose}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{intracellular glucose}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{intracellularglucose}} \text{intracellular glucose}[t], \\ \text{GLUT2}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{GLUT2}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{GLUT2}} \text{GLUT2}[t], \\ \text{insulin secretion}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{insulin secretion}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{insulinsecretion}} \text{insulin secretion}[t], \\ \text{proinsulin biosynthesis}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{proinsulin biosynthesis}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{proinsulinbiosynthesis}} \text{proinsulin biosynthesis}[t], \\ \text{ghrelin}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{ghrelin}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{ghrelin}} \text{ghrelin}[t], \\ \text{sympathetic neuropeptides}'[t] &== 1/(1 + \text{Exp}[-b (w\text{sympathetic neuropeptides}[t] - .5)]) - \alpha_{\text{sympatheticneuropeptides}} \text{sympathetic neuropeptides}[t], \end{aligned}$$

parasympathetic neuropeptides'[t] == 1/(1 + Exp[-b (wparasympathetic neuropeptides[t] - .5)]) - $\alpha_{parasympatheticneuropeptides}$
 parasympathetic neuropeptides[t],
 GLP1'[t] == 1/(1 + Exp[-b (wGLP1[t] - .5)]) - α_{GLP1} GLP1[t],
 GIP'[t] == 1/(1 + Exp[-b (wGIP[t] - .5)]) - α_{GIP} GIP[t],
 extracellular glucose'[t] == 1/(1 + Exp[-b (wextracellular glucose[t] - .5)]) - $\alpha_{extracellularglucose}$ extracellular glucose[t],
 IRE1'[t] == 1/(1 + Exp[-b (wIRE1[t] - .5)]) - α_{IRE1} IRE1[t],
 pIRE1'[t] == 1/(1 + Exp[-b (wpIRE1[t] - .5)]) - dpIRE1 α_{pIRE1} pIRE1[t],
 ATF6'[t] == 1/(1 + Exp[-b (wATF6[t] - .5)]) - α_{ATF6} ATF6[t],
 PERK'[t] == 1/(1 + Exp[-b (wPERK[t] - .5)]) - α_{PERK} PERK[t],
 eIF2'[t] == 1/(1 + Exp[-b (weIF2[t] - .5)]) - α_{eIF2} eIF2[t],
 JNK'[t] == 1/(1 + Exp[-b (wJNK[t] - .5)]) - α_{JNK} JNK[t],
 apoptosis'[t] == 1/(1 + Exp[-b (wapoptosis[t] - .5)]) - $\alpha_{apoptosis}$ apoptosis[t]

insulin[0] == insulin0, Akt[0] == Akt0, NFkB[0] == NFkB0, TLR2/4[0] == TLR2/40, lipopolysaccharides[0] == lipopoly-
 saccharides0, TXNIP[0] == TXNIP0, IL1 β /IL6/TNF α [0] == IL1 β /IL6/TNF α 0, XBP1[0] == XBP10, ATF4[0] == ATF40, ER
 expansion[0] == ER expansion0, chaperone proteins[0] == chaperone proteins0, XBP1s[0] == XBP1s0, unfolded protein respon-
 se[0] == unfolded protein response0, FOXO1[0] == FOXO10, AMPK[0] == AMPK0, ATP[0] == ATP0, calcio[0] == calcio0,
 potasio[0] == potasio0, citric acid cycle[0] == citric acid cycle0, pyruvate[0] == pyruvate0, intracellular glucose[0] == intracellular
 glucose0, GLUT2[0] == GLUT20, insulin secretion[0] == insulin secretion0, proinsulin biosynthesis[0] == proinsulin biosynthesis0,
 ghrelin[0] == ghrelin0, sympathetic neuropeptides[0] == sympathetic neuropeptides0, parasympathetic neuropeptides[0] == pa-
 rasympathetic neuropeptides0, GLP1[0] == GLP10, GIP[0] == GIP0, extracellular glucose[0] == extracellular glucose0, IRE1[0]
 == IRE10, pIRE1[0] == pIRE10, ATF6[0] == ATF60, PERK[0] == PERK0, eIF2[0] == eIF20, JNK[0] == JNK0, apoptosis[0]
 == apoptosis0,

insulin[t], Akt[t], NFkB[t], TLR2/4[t], lipopolysaccharides[t], TXNIP[t], IL1 β /IL6/TNF α [t],
 XBP1[t], ATF4[t], ER expansion[t], chaperone proteins[t], XBP1s[t], unfolded protein respon-
 se[t], FOXO1[t], AMPK[t], ATP[t], calcio[t], potasio[t], citric acid cycle[t], pyruvate[t], intrace-
 llular glucose[t], GLUT2[t], insulin secretion[t], proinsulin biosynthesis[t], ghrelin[t], sympathe-
 tic neuropeptides[t], parasympathetic neuropeptides[t], GLP1[t], GIP[t], extracellular glucose[t],
 IRE1[t], pIRE1[t], ATF6[t], PERK[t], eIF2[t], JNK[t], apoptosis[t], t, 0, 20.]

health=Plot[Evaluate[Akt[t], FOXO1[t], NFkB[t], unfolded protein response[t], insulin se-
 cretion[t], TLR2/4[t], TXNIP[t], XBP1[t], apoptosis[t] /.netw], t, 0, 20, PlotRange All, Frame-
 Label , , time, .Expression level

, PlotStyle Thick, Black, Thick, Darker[Green], Thick, Blue, Thick, Pink, Thick, Yellow, Thick, Brown, Thick, Red, Thick, Gray, Thick, Purple, Frame True, PlotLabel "Health to transient MS, and final T2D"]