



Univerza v Mariboru

Fakulteta za naravoslovje
in matematiko

FENOMENOLOŠKI MODEL PARAKRINIH INTERAKCIJ MED PANKREATIČNIMI CELICAMI ALFA IN BETA

Diplomski seminar na študijskem programu 1. stopnje Fizika

Gorazd Goričan

Mentor: izr. prof. dr. Marko Gosak

Maribor, 2024

GORIČAN, G.: Fenomenološki model parakrinih interakcij med pankreatičnimi celicami alfa in beta

Diplomski seminar, Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Oddelek za fiziko, 2024.

POVZETEK

V diplomskem seminarju preučimo oscilacije pankreatičnih celic alfa in beta. Njihovo dinamiko simuliramo kot sistem sklopljenih oscilatorjev. Pri tem uporabimo fenomenološki model faznega oscilatorja in fenomenološki model ekscitabilnega oscilatorja. Z numeričnimi izračuni sistematično preučimo, kako narava medcelične sklopitve vpliva na oscilacije posameznih celic. Ugotovimo, da različne vrednosti sklopitvenih koeficientov bistveno vplivajo na tip oscilacij celic alfa in beta. Primerljivost rezultatov kaže, da so v že objavljeni študiji upravičeno uporabili model faznega oscilatorja namesto modela ekscitabilnega oscilatorja.

Ključne besede: celice alfa, celice beta, fazni oscilator, ekscitabilni oscilator, numerični model

ABSTRACT

As part of the thesis seminar, we are studying oscillations of pancreatic alpha and beta cells. We simulate their dynamics by a system of coupled oscillators, using phenomenological model of phase oscillator and phenomenological model of an excitable oscillator. Through numerical calculations, we systematically investigate how the nature of intercellular coupling affects oscillations of individual cells. We find that different values of the coupling coefficients significantly affect the type of oscillations exhibited by alpha and beta cells. The comparability of the results shows that the use of the phase oscillator model instead of the excitability oscillator model was justified in the previously published study.

Key words: alpha cells, beta cells, phase oscillator, excitable oscillator, numerical model

Kazalo

1	Uvod	1
2	Meritve aktivnoti Ca^{2+} v celicah alfa in beta	2
3	Fenomenološki model sistema celic alfa in beta	4
3.1	Model faznega oscilatorja	4
3.2	Model ekscitabilnega oscilatorja	9
4	Robustnost modelov	12
4.1	Robustnost modela faznega oscilatorja	12
4.2	Robustnost modela ekscitabilnega oscilatorja	13
5	Zaključek	15

1 Uvod

Kalcijeva signalizacija ima ključno vlogo pri regulaciji izločanja hormonov v Langerhansovih otočkih trebušne slinavke, zlasti v celicah alfa in beta, ki so odgovorne za izločanje glukagona in insulina. Celice alfa proizvajajo glukagon, hormon, ki povečuje raven glukoze v krvi, medtem ko celice beta proizvajajo insulin, hormon, ki znižuje raven glukoze. Skupaj s celicami delta, ki proizvajajo somatostatin, ter celicami, ki proizvajajo pankreatični polipeptid, tvorijo Langerhansove otočke. To so majhne elipsoidne gručice celic znotraj trebušne slinavke, ki so ključne za homeostazo glukoze. Langerhansovi otočki delujejo usklajeno, kar zagotavlja pravilne vzorce izločanja hormonov in uravnavanja ravni glukoze v krvi [1].

Najštevilnejše celice v Langerhansovih otočkih so celice beta. Ob povišani koncentraciji hranil se le-te aktivirajo. Njihov odziv je kompleksen fiziološki pojav, ki se izrazi v večfazi oscilatorni aktivnosti. Celice beta izkazujejo tudi visoko stopnjo heterogenosti, vendar se zaradi medceličnih interakcij odzivajo sinhrono, kar zagotavlja medcelična sklopitve s presledkovnimi stiki [2]. Njihova usklajena aktivnost je nujna za pravilno pulzirajoče izločanje insulina in s tem za zagotavljanje metabolnega ravnovesja v telesu [2]. Motnje v sinhronem delovanju celic pa vodijo do okvare normalnih oscilatornih vzorcev izločanja insulina, kar je ena glavnih značilnosti debelosti in sladkorne bolezni tipa 2 (SB2) [3].

Čeprav je SB2 tradicionalno pripisana pomanjkanju izločanja insulina iz celic beta, postaja vse bolj prepoznana kot bihormonska bolezen, ki upošteva vlogo celic alfa [4]. Le-te lahko prispevajo k prekomerni produkciji glukagona, kar vpliva na občutljivost na glukozo in zavira produkcijo insulina. Znano je, da peptidi proglukagona celic alfa vplivajo na izločanje insulina bližnjih celic beta [5]. Zato je komunikacija med celicami alfa in beta ključna za regulacijo funkcije celic beta, ker hkrati izpostavlja kompleksno medsebojno delovanje med celicami v Langerhansovih otočkih in njihov pomen za razumevanje ter zdravljenje sladkorne bolezni [6].

Poznavanje delovanja omrežij celic v Langerhansovih otočkih je izjemno zahtevno zaradi kompleksnosti znotrajceličnih in medceličnih procesov ter heterogenosti celic, ki delujejo v dinamičnem okolju. Za boljše razumevanje takšnih sistemov se vse bolj uporabljajo napredne metode. Eksperimentalne tehnike, kot so kalcijevo slikanje in optogenetika, omogočajo zajemanje dinamičnih signalov znotraj celic v realnem času. Računalniška analiza teh signalov, vključno z metodami za obdelavo slik in kvantitativno analizo signalov, omogoča natančno preučevanje medceličnih interakcij in odzivov. Poleg tega so matematični modeli, kot so sistemi diferencialnih enačb in stohastični modeli, ključni za simulacijo kompleksnih bioloških procesov, kot so oscilacije kalcijevih signalov in parakrine interakcije. Pri tem so zelo pomembni fenomenološki modeli, saj z zagotavljanjem

poenostavljene, vendar natančne predstavitve realnih pojavov, povezujejo podrobnosti bioloških sistemov in razumevanje osnovnih principov njihovega delovanja. Ta abstrakcija nam omogoča razkriti osnovne mehanizme in omogoča globlje razumevanje dinamike sistema.

Cilj diplomskega seminarja je izdelati fenomenološki model sklopljenih celičnih oscilatorjev, z njim analizirati in predstaviti dinamiko celic alfa in beta ter preučiti, kako na dinamiko vplivajo medcelične interakcije. Ugotoviti želimo tudi, kako na rezultate vpliva izbira vrste modela, ki ga uporabimo za opis posamezne vrste celic. Analizirali pa bomo tudi robustnost modela.

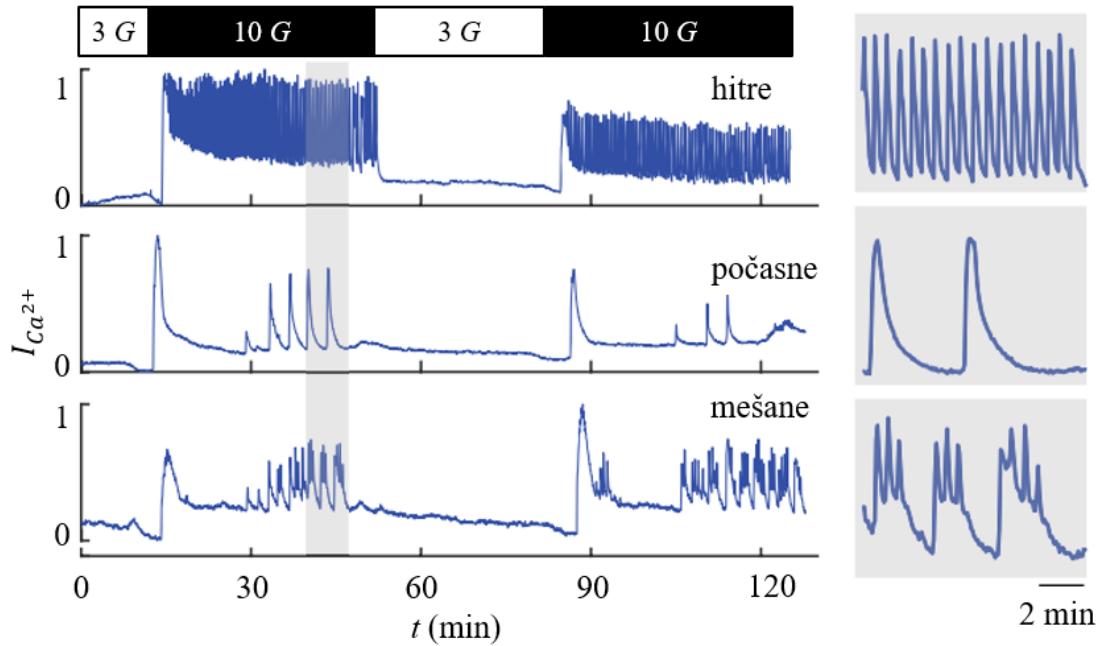
Struktura seminarja je sledeča. V 2. poglavju bomo najprej predstavili fiziološko ozadje in rezultate meritev aktivnosti celic alfa in beta, ki so bile narejene v Centru za kvantitativno biologijo na Univerzi v Pekingu [10]. V 3. poglavju bomo predstavili fenomenološki model celic alfa in beta, s katerim bomo kvalitativno preučili vpliv medceličnih interakcij na celično dinamiko. Preučevali bomo dva različna modela za opis dinamike posamezne vrste celic - fazni in ekscitabilni oscilator. V 4. poglavju bomo analizirali robustnost modela in v 5. poglavju strnili ugotovitve ter nakazali možnosti nadaljnjih raziskav.

2 Meritve aktivnosti Ca^{2+} v celicah alfa in beta

Ključno vlogo pri ohranjanju ravnotežja glukoze v telesu imajo kalcijevi ioni (Ca^{2+}), saj uravnavajo pulzirajoče izločanje glukagona in insulina iz celic alfa in beta. Pri tem ostaja vprašanje, kako se celice alfa in beta usklajujejo za uravnavanje različnih vzorcev oscilacij Ca^{2+} . S tem namenom je bil narejen eksperiment [10], kjer so snemali signale Ca^{2+} iz celic alfa in beta.

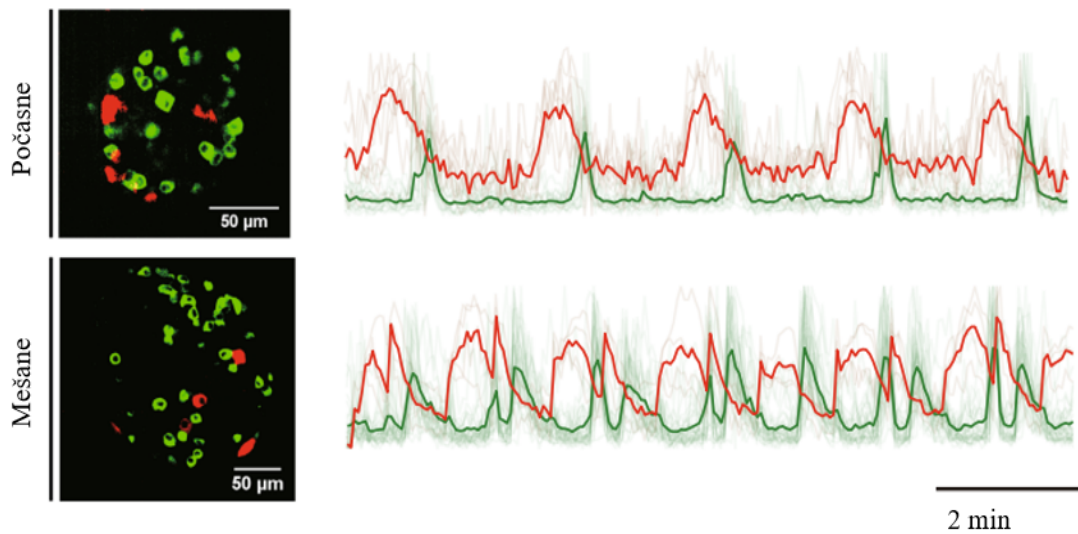
Pri eksperimentu so uporabili transgenske miši, katerih celice alfa so bile označene z zelenim, celice beta pa z rdečim fluorescentnim markerjem. To je omogočilo natančno identifikacijo celic in snemanje njihovih aktivnosti z, v ta namen posebej razvito mikrofluidno napravo, ki so jo pritrdili na konfokalni mikroskop z vrtečim se diskom. Naprava je omogočila dolgoročno slikanje posameznih celic v fizioloških pogojih do približno 2 uri. Izolirane otočke so naložili v napravo in jih izmenično na 30 min stimulirali s podpražno (3 mM) in nadpražno (10 mM) koncentracijo glukoze, kar je vodilo do nastanka oscilacij. Opazili so hitre, počasne in mešane oscilacije Ca^{2+} (slika 1). En cikel, v katerem se je znotrajcelična koncentracija Ca^{2+} dvignila od bazalne vrednosti do maksimuma in spustila nazaj do bazalne vrednosti je pri hitrih oscilacijah trajal približno 20 s, pri počasnih nad 150 s, pri mešanih pa med 20 s in 150 s. Ker so bile celice označene s fluorescentnim markerjem, so lahko za različne cikle prikazali reprezentativno aktivnost oscilacij Ca^{2+} celic alfa in beta (slika 2), ter določili povprečne vrednosti krožne frekvence. Za celice alfa je

ta znašala $\omega_\alpha = ((2\pi)/40) \text{ s}^{-1}$, medtem ko je za celice beta znašala $\omega_\beta = ((2\pi)/360) \text{ s}^{-1}$.



Slika 1. Normalizirana intenziteta ($I_{Ca^{2+}}$) signala kalcijevega iona Ca^{2+} v odvisnosti od časa (t) za hitre, počasne in mešane oscilacije. G je koncentracija glukoze, s katero so izmenično na 30 min stimulirali oscilacije z dvigom ravni glukoze iz substimulatornih 3 mM na stimulatornih 10 mM. Povzeto po [10].

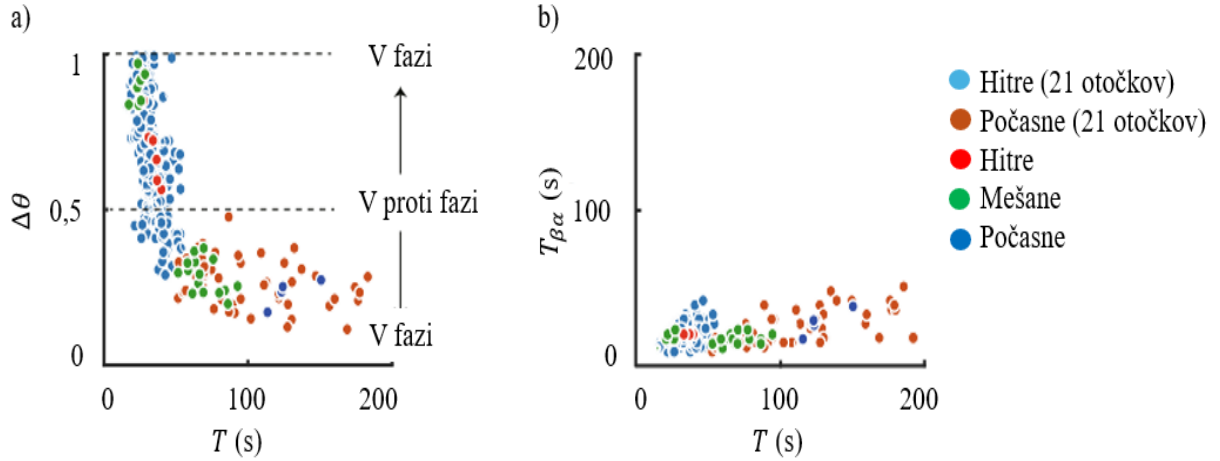
Opazili so, da časovni zamik aktivacije celic beta glede na celice alfa določa način oscilacij. Pri tem so definirali parametre za posamezen način oscilacij, in sicer čas, ko celice beta opravijo en cikel (T), čas, ki preteče od aktivacije celic beta do aktivacije celic alfa ($T_{\beta\alpha}$) ter fazno razliko med fazami celic ($\Delta\theta$), ki predstavlja razmerje med $T_{\beta\alpha}$ in T . Skupno so



Slika 2. Povprečje počasnih in mešanih oscilacij aktivnosti Ca^{2+} celic alfa in beta pri koncentraciji glukoze 10 mM. Celice alfa so obarvane zeleno, celice beta pa rdeče. Povzeto po [10].

opredelili 13 različnih pogojev, ki predstavljajo dinamiko posameznega tipa oscilacij. Ker

so bili T , $\Delta\theta$ in $T_{\beta\alpha}$ soodvisni, so lahko analizirali njihovo odvisnost od načina oscilacije (slika 3). Ugotovili so, da $T_{\beta\alpha}$ ostaja enak skozi čas, medtem ko fazna razlika ($\Delta\theta$) upada z naraščajočim časom. Na podlagi teh ugotovitev so zaključili, da so bile oscilacije celic alfa in beta v fazi, če je bil časovni zamik odziva celic beta glede na celice alfa ($T_{\beta\alpha}$) zelo majhen ($T_{\beta\alpha} \ll T$). Pri časovnem zamiku približno 40 sekund ($T_{\beta\alpha} \sim T$) so bile oscilacije v protifazi, medtem ko so bile pri večjem časovnem zamiku ($T_{\beta\alpha} \gg T$) ponovno v fazi.



Slika 3. a) Odvisnost fazne razlike ($\Delta\theta$) od časa za eno periodo oscilacije (T). b) Čas zakasnitve odziva celice beta glede na celico alfa ($T_{\beta\alpha}$) v odvisnosti od časa za eno periodo oscilacij posameznih celic (T). Povzeto po [10].

3 Fenomenološki model sistema celic alfa in beta

V tem poglavju bomo dinamične interakcije med celicama alfa in beta simulirali z dvema preprostima modeloma. Najprej bomo uporabili preprosti fazni oscilator, nato pa minimalni model ekscitabilnega oscilatorja.

3.1 Model faznega oscilatorja

Za boljše razumevanje izvora različnih oscilacijskih načinov (hitre, počasne in mešane oscilacije) in najpomembnejših dejavnikov, ki jih nadzorujejo, je bil razvit fenomenološki model faznega oscilatorja, ki vključuje interakcije med celicami alfa (α) in beta (β) [10]. Model temelji na teoretičnih zasnovah dela Song in Jo [11]. Eksperimentalni rezultati so pokazali, da celice alfa in beta postanejo globalno fazno sklopljene, ko so stimulirane z visoko koncentracijo glukoze (~ 10 mM). Par izoliranih celic alfa in beta s fazo oscilacij θ_α in θ_β , krožno frekvenco oscilacij ω_α in ω_β , ter koncentracijo glukagona G tako predstavimo kot sistem sklopljenih oscilatorjev (slika 4), katerih dinamiko opišemo kot:

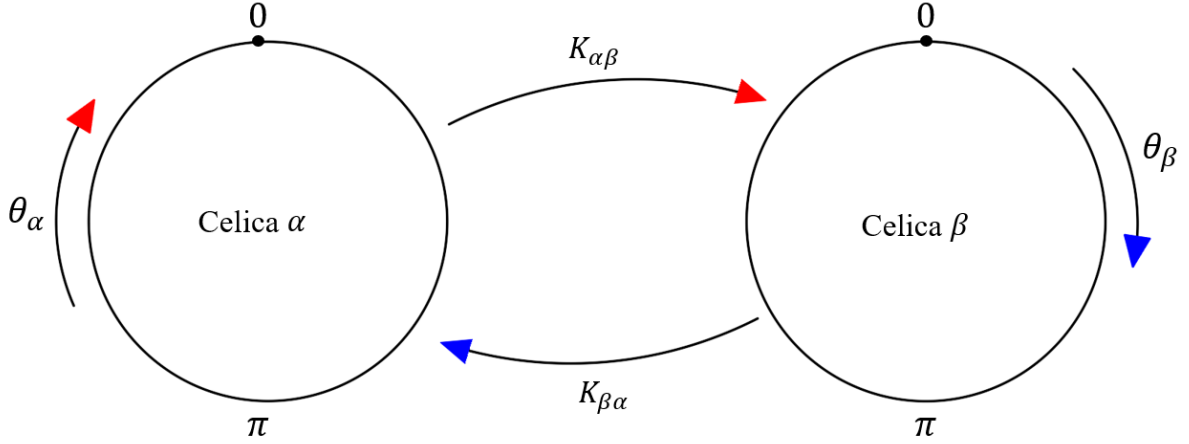
$$\frac{d\theta_\alpha}{dt} = \omega_\alpha + K_{\beta\alpha} f_s(\theta_\beta) f_{r\alpha}(\theta_\alpha) , \quad (1)$$

$$\frac{d\theta_\beta}{dt} = \omega_\beta + K_{\alpha\beta}Gf_{r\beta}(\theta_\beta) \quad (2)$$

in

$$\frac{dG}{dt} = f_s(\theta_\alpha) - \tau G . \quad (3)$$

Izločanje glukagona iz celic alfa opišemo s funkcijo $f_s(\theta_\alpha)$, ki določa količino glukagona, izločenega na enoto časa. Podobno je hitrost izločanja insulina iz celic beta podana s funkcijo $f_s(\theta_\beta)$, ki določa količino izločenega insulina na enoto časa. Funkcija $f_{r\alpha}(\theta_\alpha)$ predstavlja neposredno (parakrino) zaviranje celic alfa, ki ga povzročajo celice beta, medtem ko funkcija $f_{r\beta}(\theta_\beta)$ predstavlja parakrino stimulacijo celic beta, ki jo sprožajo celice alfa. Sklopitveni koeficient $K_{\beta\alpha}$ določa, kako močno celice alfa vplivajo na celice beta. V modelu (enačba (1)) ta koeficient vpliva na fazo celic beta preko sklopitve s celicami alfa. Sklopitveni koeficient $K_{\alpha\beta}$ določa, kako močno celice beta vplivajo na celice alfa. V modelu (enačba (2)) ta koeficient vpliva na fazo celic alfa, saj je povezan s koncentracijo glukagona, ki nato vpliva na dinamiko faze celic alfa. Povprečen čas razgradnje glukagona je predstavljen s τ .



Slika 4. Sklopljen sistem celic alfa (α) in beta (β), ki ju obravnavamo kot fazna oscilatorja. Parametra $K_{\alpha\beta}$ in $K_{\beta\alpha}$ definirata jakost interakcij med celicama. Faza celice alfa je θ_α in faza celice beta je θ_β .

Pri modelu faznega oscilatorja (enačbe (1) - (3)) je bilo iz povprečja eksperimentalnih rezultatov razbrano, da krožna frekvenca oscilacij celic alfa in beta znaša $\omega_\alpha = ((2\pi)/40) \text{ s}^{-1}$ in $\omega_\beta = ((2\pi)/360) \text{ s}^{-1}$. Za opis izločanja glukagona se uporabi $f_s(\theta) = (1 - \cos \theta)/2$. Parakrino zaviranje celic alfa, ki ga povzročajo celice beta, pa opisuje funkcija $f_{r\alpha}(\theta) = \sin \theta$. Parakrina stimulacija celice beta, ki jo sprožajo celice alfa, je bila postavljena na konstantno vrednost 1, povprečen čas razgradnje glukagona (τ) pa na 0,5 s. Sedaj se

enačbe (1) - (3) preoblikujejo v:

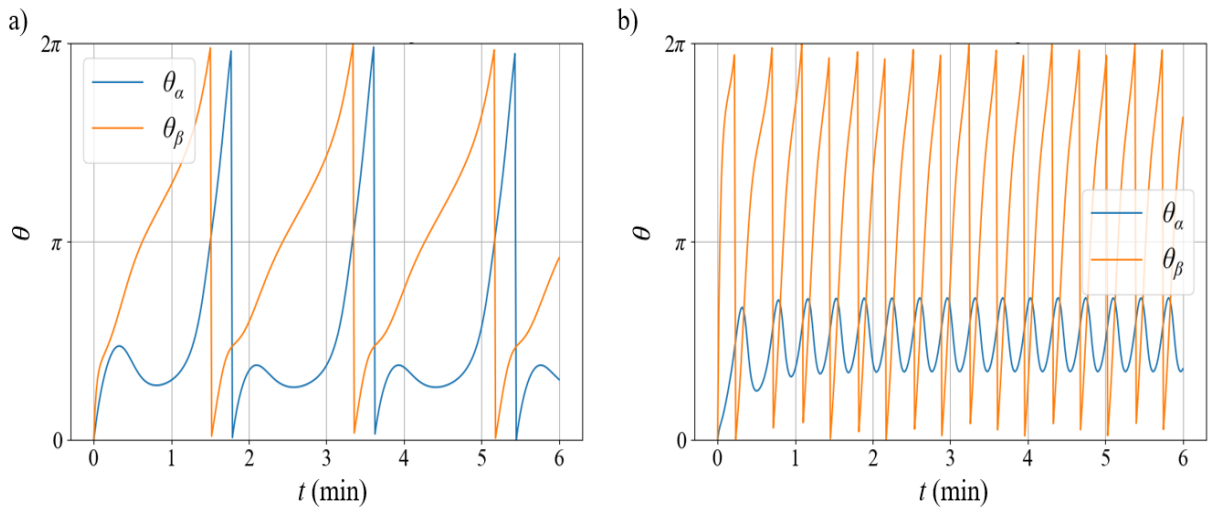
$$\frac{d\theta_\alpha}{dt} = \omega_\alpha + K_{\beta\alpha} \frac{(1 - \cos \theta_\beta)}{2} \sin \theta_\alpha , \quad (4)$$

$$\frac{d\theta_\beta}{dt} = \omega_\beta + K_{\alpha\beta} G \quad (5)$$

in

$$\frac{dG}{dt} = \frac{(1 - \cos \theta_\alpha)}{2} - \frac{1}{2} G . \quad (6)$$

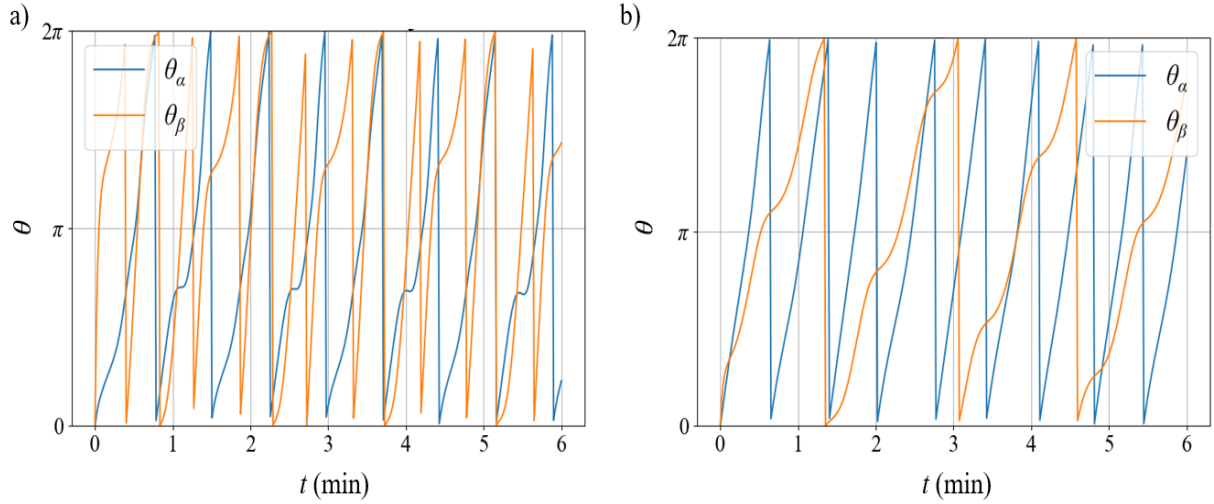
Kvalitativno lahko iz modela faznega oscilatorja razberemo štiri različne tipe oscilacij celic alfa in beta. Pri oscilacijah, kjer θ_β opravi n ciklov in θ_α m ciklov, je značilno, da gre pri približno enakih vrednostih m in n ($m = n$) bodisi za počasne bodisi za hitre oscilacije. Pri počasnih oscilacijah sta celici alfa in beta usklajeni, z manjšim faznim zamikom, pri čemer obe zaključita celoten cikel, kot je prikazano na sliki 5a. V primeru hitrih oscilacij pa se obnašanje bistveno spremeni; oscilacija v celici alfa se sicer zaključi, vendar znotraj-celična koncentracija Ca^{2+} ne doseže maksimalne vrednosti, ko celica beta opravi celoten cikel, kar je prikazano na sliki 5b. Z modelom lahko reproduciramo tudi mešane oscila-



Slika 5. Faza celic (θ) v odvisnosti od časa (t) za a) počasne in b) hitre oscilacije celic alfa in beta. Faza celice alfa je označena s θ_α in faza celice beta s θ_β . Parametri sklopitve: $K_{\alpha\beta} = 0,15$, $K_{\beta\alpha} = -0,65$ (počasne oscilacije) in $K_{\alpha\beta} = 0,67$, $K_{\beta\alpha} = -0,90$ (hitre oscilacije).

cije, kjer je $m < n$. To pomeni, da celica beta oscilira hitreje kot celica alfa (slika 6a). V primeru, da θ_α opravi več oscilacij kot θ_β ($m > n$), celica alfa oscilira hitreje in zaključi več ciklov v istem času, ko celica beta opravi en cikel (slika 6b).

Vidimo, da različne jakosti interakcij med celicami alfa in beta vodijo do kvalitativno različnih rezultatov. V nadaljevanju zato želimo sistematično analizirati, kako sklopitvena koeficienta $K_{\alpha\beta}$ in $K_{\beta\alpha}$ vplivata na dinamiko oscilacij. S tem namenom vpeljemo sklopi-



Slika 6. Faza celic (θ) v odvisnosti od časa (t) za a) mešane in b) šibko povezane oscilacije celic alfa in beta. Faza celice alfa je označena s θ_α in faza celice beta s θ_β . Parametri sklopitve: $K_{\alpha\beta} = 0,50$, $K_{\beta\alpha} = -0,50$ (mešane oscilacije) in $K_{\alpha\beta} = 0,12$, $K_{\beta\alpha} = -0,15$ (šibko povezane oscilacije).

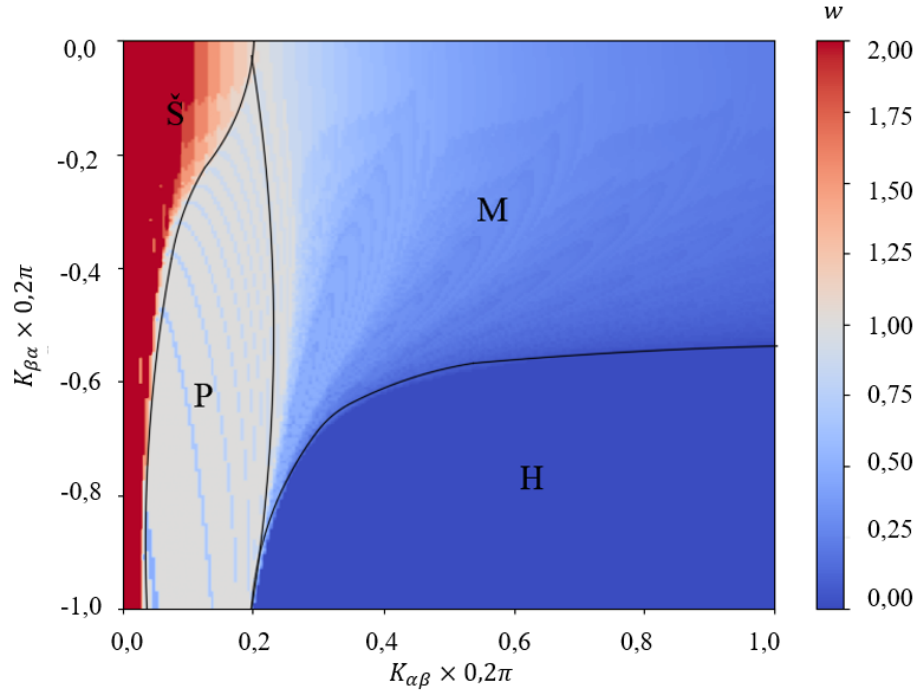
tveno število w . Dinamika sistema je odvisna od razmerja faz θ_α in θ_β , zato sklopitveno število definiramo kot:

$$w = \frac{\theta_\alpha}{\theta_\beta} . \quad (7)$$

Ker preučujemo oscilacije celic, sklopitveno število predstavimo kot razmerje števila oscilacij celic alfa in beta v območju med $[0, 2\pi]$. Če θ_β naredi n oscilacij v območju $[0, 2n\pi]$, jih θ_α naredi m v območju $[0, 2m\pi]$. To pomeni, da lahko pogoj za sklopitveno število w zapišemo kot:

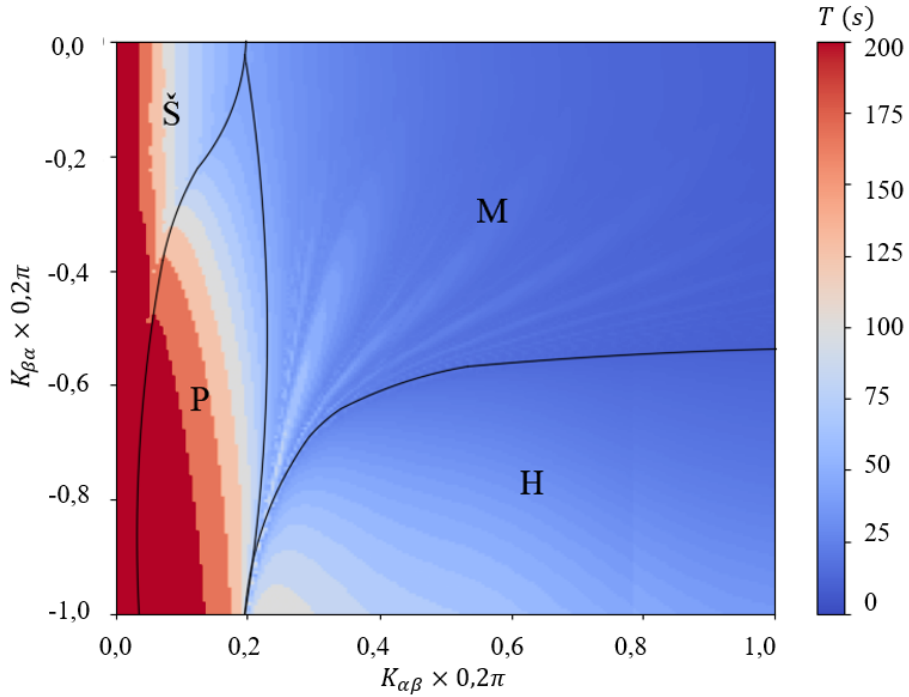
$$w = \frac{m}{n} . \quad (8)$$

Na sliki 7 je prikazana odvisnost sklopitvenega števila w od sklopitvenih koeficientov $K_{\alpha\beta}$ in $K_{\beta\alpha}$, pri čemer je graf obarvan glede na vrednost sklopitvenega števila w , kar omogoča identifikacijo štirih različnih območij dinamike sistema. Območje počasnih oscilacij celic, kjer imamo popolno sinhronizacijo faz, ima vrednost sklopitvenega števila $w = 1/1$, kar pomeni, da sta fazna kota celic v fazi. Območje hitrih oscilacij ima $w = 0/1$, kjer celica alfa ne zaključi celotnega cikla. Pri mešanih oscilacijah pa je vrednost med $0 < w < 1$, kar pomeni delno sinhronizacijo, kjer celica beta opravi več oscilacij kot celica alfa, vendar še vedno ohranjata določeno stopnjo usklajenega delovanja. V območju šibke sklopljenosti, kjer je $w > 1$, celica alfa oscilira hitreje in zaključi več ciklov v istem času, ko celica beta opravi en cikel, kar kaže na šibkejšo povezanost med celicama in neodvisno delovanje celice alfa. Ker pa nas zanima, kako fazni zamik celic beta vpliva na dinamiko oscilacij, analiziramo odvisnost sklopitvenega koeficienta $K_{\alpha\beta}$ od sklopitvenega koeficienta $K_{\beta\alpha}$ ter povprečen čas, v katerem celica beta opravi en cikel oscilacij. Odvisnost periode oscilacij od obeh sklopitvenih koeficientov je prikazana na sliki 8. Opazimo, da je pri mešanih in



Slika 7. Konturni prikaz sklopitvenega števila (w) kot funkcija koeficientov $K_{\beta\alpha}$ in $K_{\alpha\beta}$. Prikazana so območja šibkih (Š), mešanih (M), počasnih (P) in hitrih (H) oscilacij.

hitrih oscilacijah povprečen čas za en cikel oscilacij celic beta v območju $0 \text{ s} < T < 150 \text{ s}$. Pri počasnih oscilacijah in šibko povezanih celicah pa je ta čas večji ($T > 150 \text{ s}$), kar je v skladu z rezultati eksperimenta [10] (glej tudi poglavje 2).



Slika 8. Konturni prikaz periode oscilacij (T) v odvisnosti od sklopitvenih koeficientov $K_{\beta\alpha}$ in $K_{\alpha\beta}$. Prikazana so območja šibkih (Š), mešanih (M), počasnih (P) in hitrih (H) oscilacij.

3.2 Model ekscitabilnega oscilatorja

V originalnem modelu interakcij med celicami alfa in beta, ki so ga ustvarili Ren in sod. [10], so dinamiko posameznih celic obravnavali kot fazni oscilator, krožne frekvence oscilacij celic alfa in beta (ω_α in ω_β) pa kot konstantne. Vendar se moramo zavedati, da je tovrsten opis velika poenostavitev, saj so celice alfa in beta električno ekscitabilne celice, kar pomeni, da je njihova dinamika kvalitativno drugačna, kot jo predvideva klasični model faznega oscilatorja. V tem poglavju bomo zato vpeljali model fazne plošče Pradines [12], ki je minimalen model ekscitabilne dinamike. Ta model se je v preteklosti že izkazal za uporabnega pri simulacijah skupine ekscitabilnih celic [13]. Model je zelo enostaven, kar nam omogoča, da ostanemo na ravni fenomenološkega modeliranja, saj samo konstantne oscilacijske krožne frekvence posameznih izoliranih celic alfa in beta nadomestimo z:

$$f(x) = (1 - a)\Theta\left(\frac{\pi}{2} - x\right) + b\Theta\left(x - \frac{\pi}{2}\right), \quad (9)$$

kjer $f(x)$ predstavlja linearno funkcijo oscilacijske krožne frekvence ω_α oziroma ω_β , ki je odvisna od faze celice. Parametra a in b definirata podpražno (a) in nadpražno (b) dinamiko, katere aktivacijski prag znaša $\pi/2$. Θ je Heavisideova funkcija:

$$\Theta(x) = \begin{cases} 1 & \text{če } x - \frac{\pi}{2} > 0 \\ 0 & \text{če } x - \frac{\pi}{2} < 0 \end{cases}, \quad (10)$$

preko katere je vpeljan aktivacijski prag in zaradi česar je to ekscitabilni oscilator. Enačbo (9) uporabimo v enačbah (4) - (6) in dobimo enačbe modela ekscitabilnega oscilatorja:

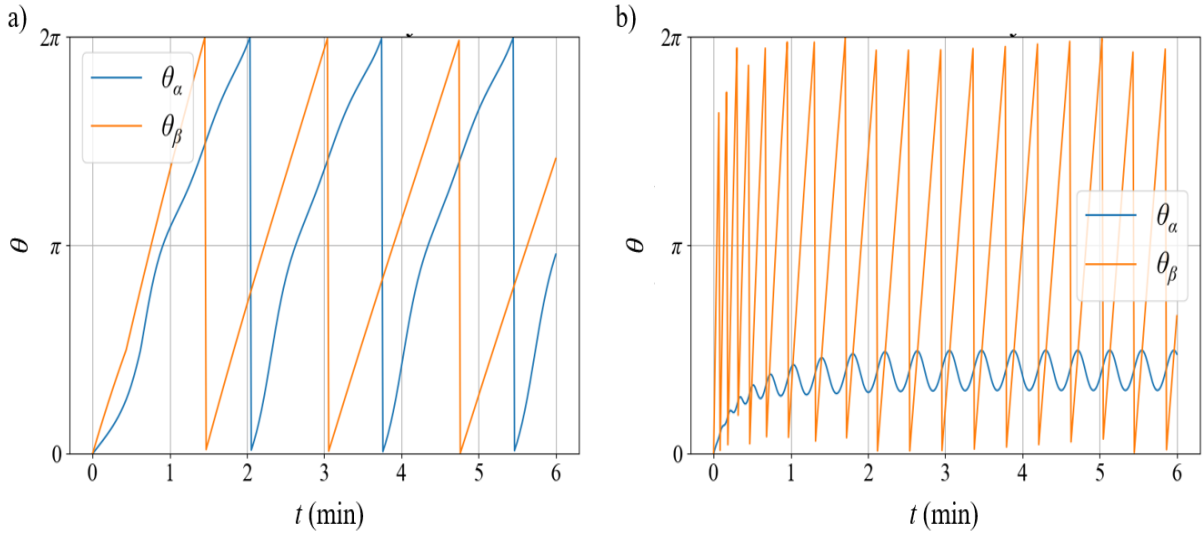
$$\frac{d\theta_\alpha}{dt} = (1 - a)\Theta\left(\frac{\pi}{2} - \theta_\alpha\right) + b\Theta\left(\theta_\alpha - \frac{\pi}{2}\right) + K_{\beta\alpha}\frac{(1 - \cos\theta_\beta)}{2}\sin\theta_\alpha, \quad (11)$$

$$\frac{d\theta_\beta}{dt} = (1 - a)\Theta\left(\frac{\pi}{2} - \theta_\beta\right) + b\Theta\left(\theta_\beta - \frac{\pi}{2}\right) + K_{\alpha\beta}G \quad (12)$$

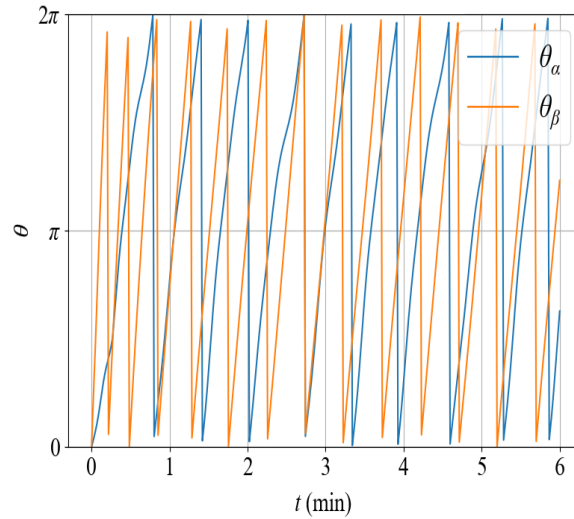
in

$$\frac{dG}{dt} = \frac{(1 - \cos\theta_\alpha)}{2} - \frac{1}{2}G. \quad (13)$$

Iz modela ekscitabilnega oscilatorja (enačbe (11) - (13)), podobno kot iz modela faznega oscilatorja (enačbe (4) - (6)), razberemo različne režime dinamike oscilacij. Pri počasnih oscilacijah (slika 9a) sta fazi celic alfa in beta usklajeni. Pri hitrih oscilacijah (slika 9b) celica beta zaključi cikel, medtem ko celica alfa ne zaključi svojega cikla, kar kaže na pomanjkanje sovisnega delovanja med celicama alfa in beta. Pri določenih vrednostih parametrov pa model izkazuje mešane oscilacije, kjer celica beta oscilira hitreje kot celica alfa, kot je ponazorjeno na sliki 10.

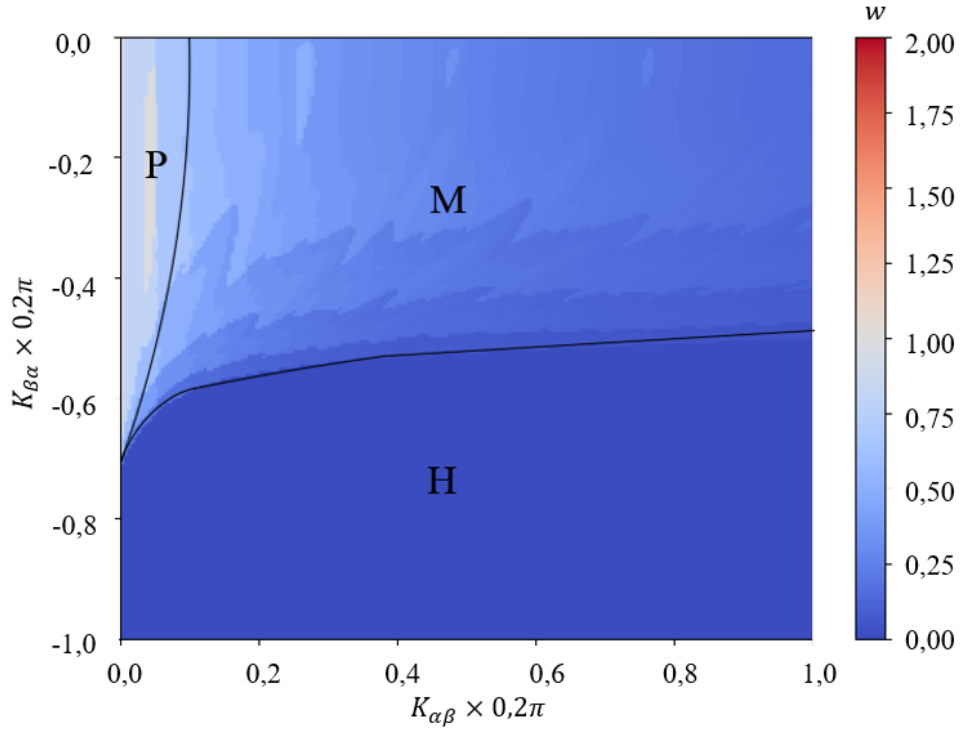


Slika 9. Faza celic (θ) v odvisnosti od časa (t) za a) počasne in b) hitre oscilacije celic alfa in beta. Faza celice alfa je označena s θ_α in faza celice beta s θ_β . Parametri sklopitve: $K_{\alpha\beta} = 0,08$, $K_{\beta\alpha} = -0,50$ (počasne oscilacije) in $K_{\alpha\beta} = 0,67$, $K_{\beta\alpha} = -0,90$ (hitre oscilacije).



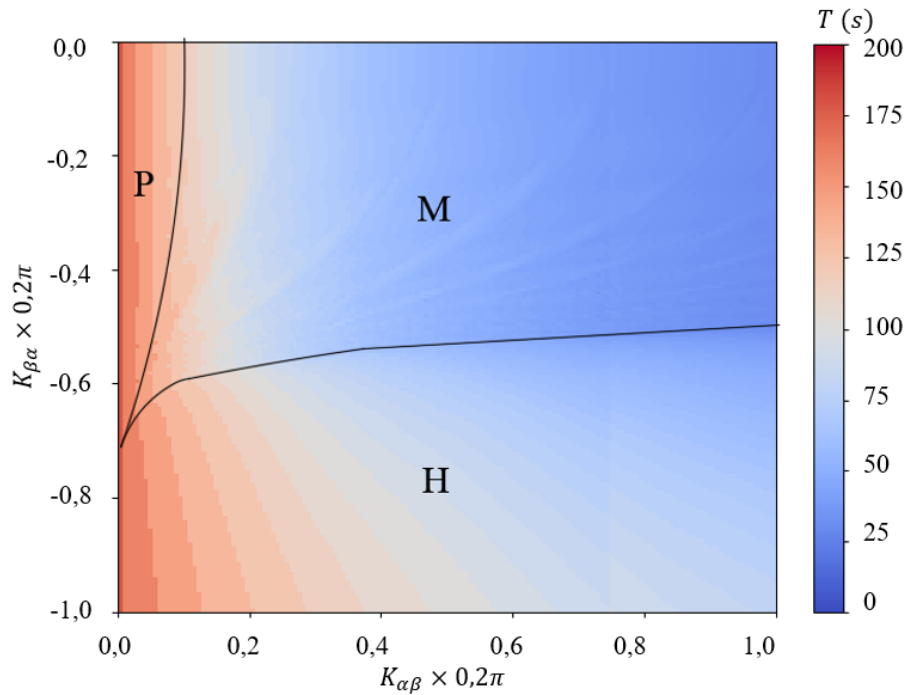
Slika 10. Faza celic (θ) v odvisnosti od časa (t) za mešane oscilacije celic alfa in beta. Faza celice alfa je označena s θ_α in faza celice beta s θ_β . Parametri sklopitve: $K_{\alpha\beta} = 0,08$ in $K_{\beta\alpha} = -0,50$.

Da določimo območja, kjer se izkazuje enaka dinamika oscilacij, sistematično preučimo, kako na dinamiko sovisno vplivata sklopitvena koeficienta $K_{\alpha\beta}$ in $K_{\beta\alpha}$. Na sliki 11 so prikazane vrednosti sklopitvenega števila w kot funkcija obeh parametrov sklopitve, kar omogoča identifikacijo različnih območij dinamike sistema. V območju počasnih oscilacij, kjer je faza celic alfa in beta popolnoma usklajena, ima sklopitveno število vrednost $w = 1/1$. To pomeni, da sta fazna kota celic v fazi. V območju hitrih oscilacij, kjer je sklopitveno število $w = 0/1$, celica beta zaključi en cikel, medtem ko celica alfa ne zaključi svojega cikla. V območju mešanih oscilacij je vrednost sklopitvenega števila med $0 < w < 1$, kar pomeni, da celica beta opravi več oscilacij kot celica alfa, vendar še vedno ohranjata določeno stopnjo povezave in delne sinhronizacije. Da bi razumeli vpliv faznega



Slika 11. Konturni prikaz sklopitvenega števila (w) kot funkcija koeficientov $K_{\beta\alpha}$ in $K_{\alpha\beta}$. Prikazana so območja mešanih (M), počasnih (P) in hitrih (H) oscilacij.

zamika celic beta na dinamiko oscilacij, preučimo, kako rezmerje med sklopitvenima koeficientoma $K_{\alpha\beta}$ in $K_{\beta\alpha}$ vpliva na periodo oscilacij v celici beta. Rezultat je ponazorjen na sliki 12. Pri mešanih in hitrih oscilacijah opazimo, da je povprečen čas za en cikel oscilacij



Slika 12. Konturni prikaz periode oscilacij (T) v odvisnosti od sklopitvenih koeficientov $K_{\beta\alpha}$ in $K_{\alpha\beta}$. Prikazana so območja mešanih (M), počasnih (P) in hitrih (H) oscilacij.

celic beta med $0 \text{ s} < T < 125 \text{ s}$. Nasprotno, pri počasnih oscilacijah je ta čas daljši ($T > 125 \text{ s}$). V modelu ekscitabilnega oscilatorja ne zaznamo šibko povezanih oscilacij. Počasne, hitre in mešane oscilacije pa so nekoliko hitrejše kot jih napoveduje model faznega oscilatorja.

4 Robustnost modelov

Preveriti želimo, kaj se zgodi z dinamiko posameznega modela, če spremenimo katerega izmed kritičnih parametrov. Najprej bomo preverili robustnost modela faznega oscilatorja, v nadaljevanju pa bomo preverili robustnost modela ekscitabilnega oscilatorja.

4.1 Robustnost modela faznega oscilatorja

Kritičen parameter v modelu je parakrino zaviranje celic alfa, kar povzročajo celice beta. V prvotnem modelu ekscitabilnega oscilatorja je ta učinek opisan z izrazom $f_{r\alpha}$. Po vzorcu študije [10] izraz nadomestimo z $f_{r\alpha} = -\sin^3(\theta_\alpha)$, kar spremeni enačbo (4) v:

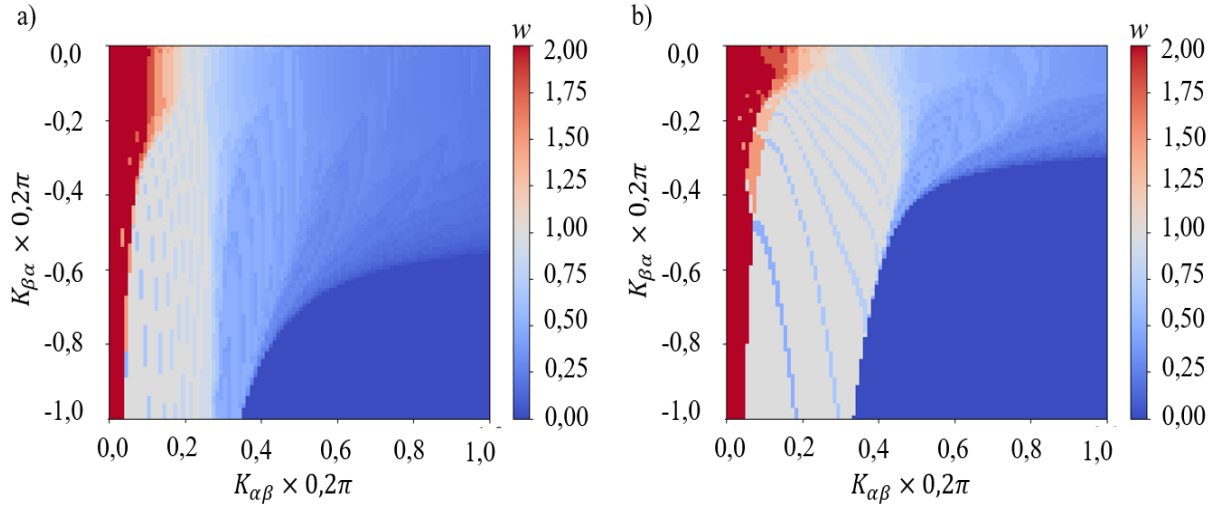
$$\frac{d\theta_\alpha}{dt} = \omega_\alpha - K_{\beta\alpha} \frac{(1 - \cos \theta_\beta)}{2} \sin^3 \theta_\alpha . \quad (14)$$

Za tako spremenjen model je na sliki 13 prikazano, kako sklopitvena koeficienta $K_{\alpha\beta}$ in $K_{\beta\alpha}$ vplivata na dinamiko sistema celic alfa in beta. Graf je obarvan glede na sklopitveno število w . Opazimo, da je model robusten, saj se območja visokih in nizkih vrednosti sklopitvenega števila ujemajo z območji visokih in nizkih vrednosti oscilacij celic beta, ki smo jih dobili ob predpostavki $f_{r\alpha} = \sin \theta_\alpha$ (glej sliki 7 in 8).

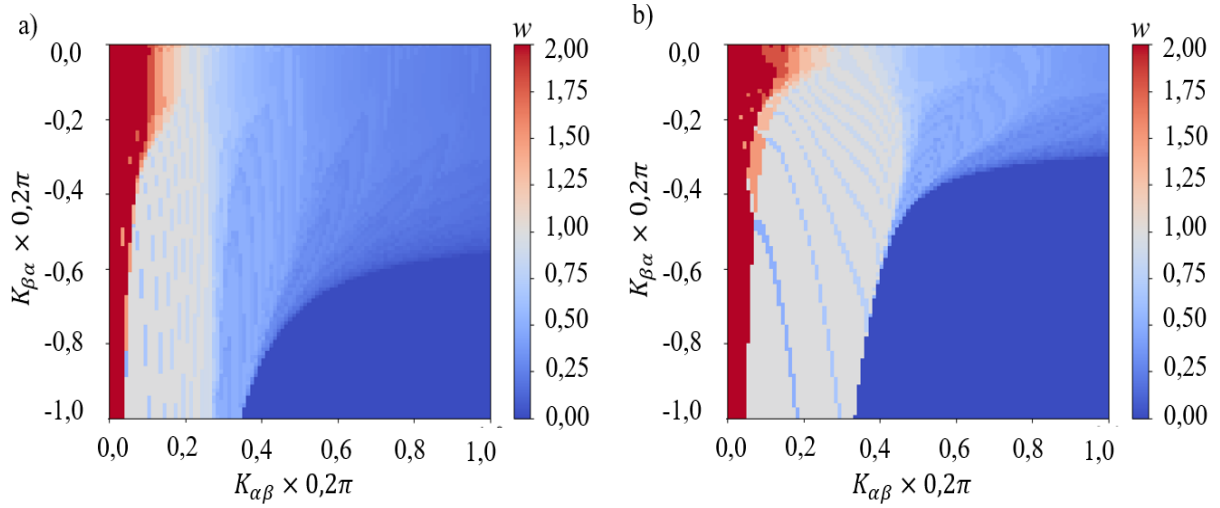
V naslednjem koraku preverimo vpliv spremembe parakrine stimulacije celic beta, ki jo sprožajo celice alfa. Namesto prvotne vrednosti 1 izberemo funkcijo $f_{r\beta} = |\sin \theta|$, kar vnese dodatni vedno pozitiven prispevek, ki se spreminja glede na fazo oscilacij. Ta sprememba povzroči nihanje stimulacije celic beta in posledično vpliva na dinamiko sistema. To spremeni enačbo (5) v:

$$\frac{d\theta_\beta}{dt} = \omega_\beta + K_{\alpha\beta} G |\sin \theta_\beta| . \quad (15)$$

Za spremenjen model, ki ga definirajo enačbe (4), (6) in (15) prikažemo na sliki 13b, kako sklopitvena koeficienta vplivata na obnašanje sistema. Opazimo, da v tem primeru dobimo podoben rezultat, kot v primeru $f_{r\beta} = 1$ (glej sliki 7 in 8), kar potrjuje robustnost sistema. Preverili smo tudi robustnost modela za različne oscilacijske krožne frekvence posameznih izoliranih celic beta. Analizo smo izvedli pri polovični krožni frekvenci ($\omega_\beta = 2\pi/180 \text{ s}^{-1}$) (slika 14a) in pri dvakratni krožni frekvenci oscilacij ($\omega_\beta = 2\pi/600 \text{ s}^{-1}$) (slika 14b). V obeh primerih smo potrdili robustnost sistema, kar pomeni, da model ohranja stabilnost in predvidljivost kljub spremembam v oscilacijski krožni frekvenci celic beta.



Slika 13. Analiza robustnosti modela. Sklopitveno število (w) kot funkcija koeficientov $K_{\beta\alpha}$ in $K_{\alpha\beta}$, za model, ki ga določa a) sistem enačb (5), (6) in (14) in b) enačbe (4), (6) in (15).



Slika 14. Analiza robustnosti modela. Sklopitveno število (w) kot funkcija koeficientov $K_{\beta\alpha}$ in $K_{\alpha\beta}$. Robustnost modela pri krožni frekvenci a) $\omega_\beta = 2\pi/180 \text{ s}^{-1}$ in b) $\omega_\beta = 2\pi/600 \text{ s}^{-1}$.

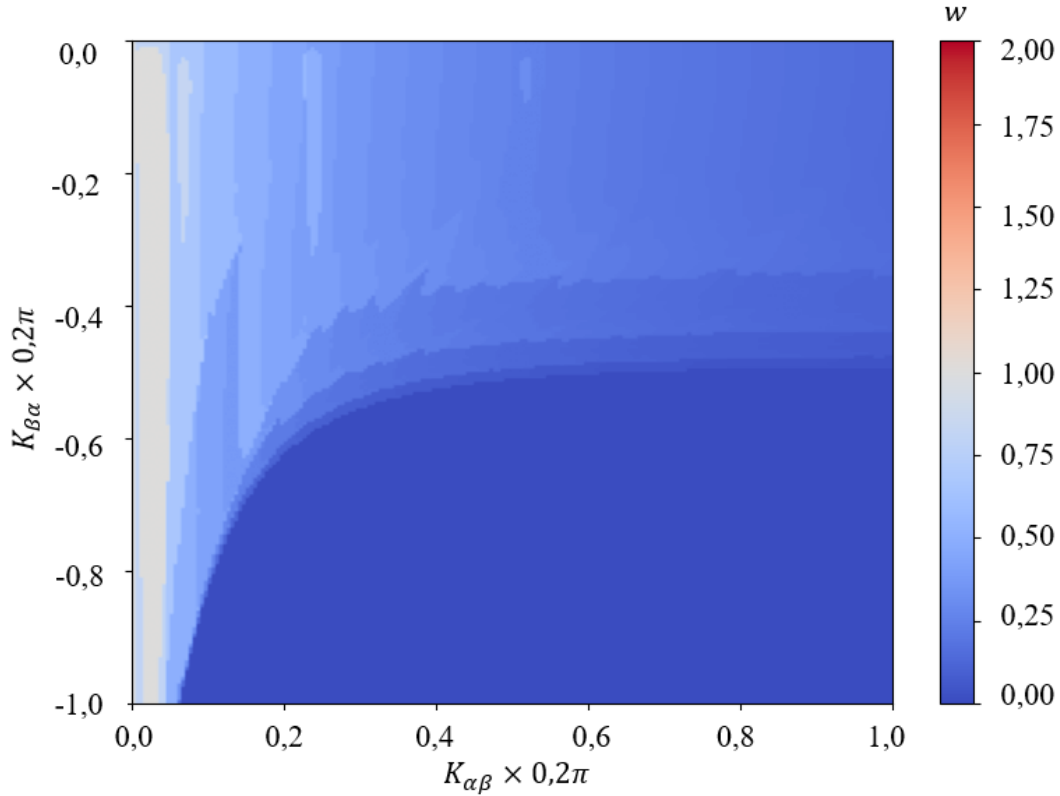
4.2 Robustnost modela ekscitabilnega oscilatorja

Preverimo, ali je ekscitabilen model z vključenim aktivacijskim pragom robusten na spremembe kritičnih parametrov. Analogno kot pri faznem oscilatorju, tudi tukaj najprej prilagodimo zaviranje celic alfa, ki ga povzročajo celice beta z uporabo funkcije $f_{r\alpha} = -\sin^3(\theta_\alpha)$. S tem spremenimo enačbo (11) v:

$$\frac{d\theta_\alpha}{dt} = (1-a)\Theta\left(\frac{\pi}{2} - \theta_\alpha\right) + b\Theta\left(\theta_\alpha - \frac{\pi}{2}\right) - K_{\beta\alpha}\frac{(1 - \cos\theta_\beta)}{2}\sin^3\theta_\alpha. \quad (16)$$

Rezultat spremenjenega modela, ki ga definirajo enačbe (12), (13) in (16) je prikazan na sliki 15. Kot na prejšnjih prikazih tudi tukaj opazujemo vrednost sklopitvenega števila w v odvisnosti od parametrov sklopitve. Opazimo, da so se območja dinamike počasnih oscilacij nekoliko premaknila, ampak dinamika oscilacij je ostala enaka, kot pri osnovnem

modelu ekscitabilnega oscilatorja, kar kaže, da je model robusten.

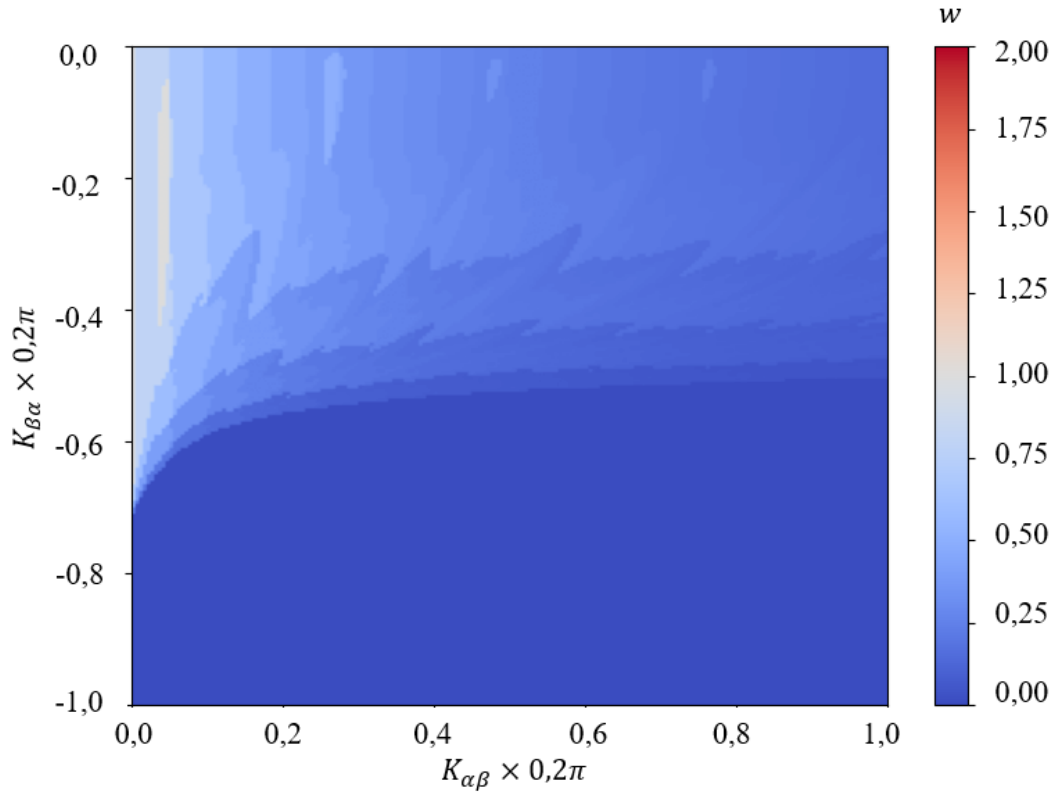


Slika 15. Analiza robustnosti modela. Sklopitveno število (w) kot funkcija koeficientov $K_{\beta\alpha}$ in $K_{\alpha\beta}$, za model določen z enačbami (12), (13) in (16).

V nadaljevanju preverimo, kako sprememba parakrine stimulacije celic beta, ki jo sprožijo celice alfa, vpliva na model. Funkcijo $f_{r\beta}$ spremenimo iz konstantne vrednosti 1 v $f_{r\beta} = |\sin \theta|$, kar prilagodi enačbo (12) v:

$$\frac{d\theta_\beta}{dt} = (1 - a)\Theta\left(\frac{\pi}{2} - \theta_\beta\right) + b\Theta\left(\theta_\beta - \frac{\pi}{2}\right) + K_{\alpha\beta}G|\sin \theta|. \quad (17)$$

Na sliki 16 je prikazana analiza modela, definiranega z enačbami (11), (13) in (17), kjer preučujemo sovpliv koeficientov $K_{\alpha\beta}$ in $K_{\beta\alpha}$ na sklopitveno število w , ki je prikazano barvno. V tem primeru opazimo popolnoma enako dinamiko sistema, kot v primeru $f_{r\beta} = 1$ (slika 11), kar potrjuje robustnost modela. Rezultati kažejo, da oba modela ohranjata stabilnost in predvidljivost kljub spremembam ključnih parametrov, ter sta zmožna reproducirati dinamično obnašanje, kot se ga opazi v eksperimentih.



Slika 16. Analiza robustnosti modela glede na sklopitveno število w kot funkcijo koeficientov $K_{\beta\alpha}$ in $K_{\alpha\beta}$, izrisana z enačbami (11), (13) in (17).

5 Zaključek

V diplomskem seminarju smo obravnavali dinamiko oscilacij celic alfa in beta v Langerhansovih otočkih trebušne slinavke z uporabo fenomenoloških modelov. Pomembnost te raziskave izhaja iz kompleksne narave interakcij med celicami v Langerhansovih otočkih, ki so ključne za pravilno uravnavanje koncentracije glukoze v krvi. Razumevanje teh interakcij je aktualna tema raziskav, saj motnje v delovanju celic alfa in beta vodijo do bolezni, kot je sladkorna bolezen tipa 2 [14].

Z uporabo preprostega in poenostavljenega fenomenološkega modela faznega oscilatorja smo pridobili vpogled v mehanizme, ki vodijo do različnih tipov oscilacij, kot so jih opazili v eksperimentalnih meritvah [10]. Z modelom smo pokazali, da lahko različne vrednosti sklopitvenih koeficientov $K_{\alpha\beta}$ in $K_{\beta\alpha}$ povzročijo počasne (slika 5a), hitre (slika 5b), mešane (slika 6a) in šibko sklopljene (slika 6b) oscilacije celic alfa in beta, kot so opazili tudi v eksperimentih. Glavni cilj naše raziskave pa je bil, da smo sistematično raziskali, kako jakost interakcij med tipoma celicama alfa in beta določa način in periodo oscilacij (slika 8).

V raziskavi [10], ki je služila kot glavno gradivo za ta seminar, je bil uporabljen enostaven model faznega oscilatorja, ki je pogosto uporabljen za opis ritmičnih bioloških procesov. Kljub temu je pomembno upoštevati, da so celice alfa in beta električno vzdružene, zaradi

česar bi kot osnovna celična enota morda bil bolj primeren model ekscitabilnega oscilatorja. V tej raziskavi smo to tudi preverili in ugotovili, da ekscitabilni oscilator dobro opisuje dinamiko električno vzdraženih celic. Vpeljali smo aktivacijski prag in preučili dinamiko oscilacij. Ugotovili smo, da model ekscitabilnega oscilatorja prav tako omogoča nastanek počasnih (slika 9a), hitrih (slika 9b) in mešanih (slika 10) oscilacij. Iz tega lahko sklepamo, da je uporaba enostavnega faznega oscilatorja za opis dinamike celic alfa in beta bila upravičena.

Čeprav se je izkazalo, da preprosti fazni oscilatorji in minimalni model ekscitabilne dinamike, omogočajo preučevanje osnovnih principov, ki so vključeni v delovanje Langerhansovih otočkov, pa se moramo zavedati, da je vsak model velika poenostavitev realnosti. Kompleksni procesi, ki krojijo oscilatorno dinamiko celic, so predstavljeni s preprostim fenomenološkim modelom. Poleg tega Langerhansove otočke sestavlja več sto različnih celic, ki tvorijo kompleksne skupke. Zaradi tega so medcelične interakcije v otočkih zelo kompleksne, odvisne od citoarhitekture in različnih vrst sklopitev. Tovrstna vprašanja presegajo obseg tega seminarja, vendar predstavljajo odlično izhodišče za nadaljnje raziskave.

Literatura

- [1] P. Rorsman in F. M. Ashcroft, *Pancreatic β -Cell Electrical Activity and Insulin Secretion: Of Mice and Men*, Physiol. Rev. **98**, 117 (2018).
- [2] R. K. P. Benninger in V. Kravets, *The Physiological Role of β -Cell Heterogeneity in Pancreatic Islet Function*, Nat. Rev. Endocrinol. **18**, 9 (2022).
- [3] L. S. Satin, P. C. Butler, J. Ha in A. S. Sherman, *Pulsatile Insulin Secretion, Impaired Glucose Tolerance and Type 2 Diabetes*, Mol. Asp. Med. **42**, 61 (2015).
- [4] R. H. Unger in A. D. Cherrington, *Glucagonocentric Restructuring of Diabetes: A Pathophysiologic and Therapeutic Makeover*, J. Clin. Invest. **122**, 4 (2012).
- [5] T. Moede, I. B. Leibiger in P.-O. Berggren, *Alpha Cell Regulation of Beta Cell Function*, Diabetol. **63**, 2064 (2020).
- [6] D. A. Lang, D. R. Matthews, M. Burnett in R. C. Turner, *Brief, Irregular Oscillations of Basal Plasma Insulin and Glucose Concentrations in Diabetic Man*, J. Diabetes **30**, 435 (1981).
- [7] A. Sherman, *Contributions of Modeling to Understanding Stimulus-Secretion Coupling in Pancreatic Beta-Cells*, Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. **271**, E362 (1996).

- [8] A. Loppini in L. Chiodo, *Biophysical Modeling of β -Cells Networks: Realistic Architectures and Heterogeneity Effects*, Biophys. Chem. **254**, 106247 (2019).
- [9] M. Šterk, J. Dolenšek, L. K. Bombek, R. Markovič, D. Zakelšek, M. Perc, V. Pohorec, A. Stožer in M. Gosak, *Assessing the Origin and Velocity of Ca^{2+} Waves in Three-Dimensional Tissue: Insights from a Mathematical Model and Confocal Imaging in Mouse Pancreas Tissue Slices*, Commun. Nonlinear Sci. Numer. Simul. **93**, 105495 (2021).
- [10] H. Ren, et al., *Pancreatic α and β Cells Are Globally Phase-Locked*, Nat. Commun. **13**, 3721 (2022).
- [11] T. Song in J. Jo, *Tripartite Cell Networks for Glucose Homeostasis*, Phys. Biol. **16**, 051001 (2019).
- [12] G. J. Félix-Martínez in J. R. Godínez-Fernández, *A Primer on Modelling Pancreatic Islets: From Models of Coupled β -Cells to Multicellular Islet Models*, Islets **15**, 2231609 (2023).
- [13] M. Gosak, M. Marhl in M. Perc, *Pacemaker-Guided Noise-Induced Spatial Periodicity in Excitable Media*, Phys. D: Nonlinear Phenom. **238**, 506 (2009).
- [14] X. W. Ng, Y. H. Chung in D. W. Piston, *Intercellular Communication in the Islet of Langerhans in Health and Disease*, in *Comprehensive Physiology*, edited by R. Terjung, 1st ed. (Wiley, Hoboken, NJ, 2021), pp. 2191–2225.