

ARTIGO DE PESQUISA

Um modelo multinível de circuito fechado de homeostase da glicose

Cansu Uluseker^{1‡}, Giulia Simoni^{1‡}, Luca Marchetti¹, Marco Dauriz², Alice Matone¹, Corrado Priami^{1,3*}

¹ A Microsoft Research – Centro de Biologia Computacional e de Sistemas da Universidade de Trento (COSBI), Rovereto (TN), Itália, ² Divisão de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Departamento de Medicina, Universidade de Verona, Verona, Itália, ³ Departamento de Ciência da Computação, Universidade de Pisa, Pisa, Itália

‡ Esses autores compartilham a primeira autoria.

*priami@cosbi.eu _



Abstrato

Antecedentes

Os processos fisiopatológicos subjacentes à regulação da homeostase da glicose são consideravelmente complexos tanto em nível celular quanto sistêmico. Uma especificação abrangente e estruturada para as várias camadas de abstração do metabolismo da glicose é muitas vezes elusiva, um problema atualmente solucionável com a descrição hierárquica fornecida pelos modelos multiníveis. Neste estudo, propomos um modelo de circuito fechado multinível de homeostase da glicose de corpo inteiro, juntamente com as especificações moleculares da cascata de sinalização da insulina em adipócitos, sob as condições experimentais de regulação normal da glicose e diabetes.

Metodologia/descobertas principais

As equações diferenciais ordinárias do modelo, descrevendo a dinâmica da glicose e dos principais hormônios reguladores e suas interações recíprocas entre intestino, fígado, músculo e tecido adiposo, foram projetadas para serem incorporadas em uma estrutura modular e hierárquica. A estrutura do modelo em malha fechada permitiu simulações autossustentáveis para representar um sujeito ideal in silico que ajusta seu próprio metabolismo aos estados de jejum e alimentação, dependendo do contexto hormonal e invariante às flutuações circadianas. O nível celular do modelo forneceu uma descrição dinâmica perfeita dos mecanismos moleculares a jusante do receptor de insulina nos adipócitos, levando em conta as variações no contexto metabólico circundante.

Descobertas/Significação

A combinação de uma abordagem de modelagem multinível e de circuito fechado forneceu uma descrição dinâmica justa dos principais determinantes da homeostase da glicose em escalas celulares e sistêmicas. Essa arquitetura de modelo é intrinsecamente aberta para incorporar camadas suplementares de especificações que descrevem outros componentes individuais que influenciam o metabolismo da glicose.

ACESSO LIVRE

Citação: Uluseker C, Simoni G, Marchetti L, Dauriz M, Matone A, Priami C (2018) A closed-loop multi level model of glucose homeostasis. PLoS ONE 13 (2): e0190627. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190627>

Editor: Wataru Nishimura, Escola de Medicina da Universidade Internacional de Saúde e Bem-Estar, JAPÃO

Recebido: 11 de abril de 2017

Aceito: 18 de dezembro de 2017

Publicado: 8 de fevereiro de 2018

Direitos autorais: © 2018 Uluseker et al. Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da [Creative Commons Attribution License](#), que permite uso irrestrito, distribuição e reprodução em qualquer meio, desde que o autor e a fonte originais sejam creditados.

Declaração de Disponibilidade de Dados: Todos os dados relevantes estão no documento e em seus arquivos de Informações de Apoio.

Financiamento: Este trabalho foi financiado pelo Grant number 2015-AG12-01091 da Provincia Autonoma di Trento. O financiador não teve nenhum papel no desenho do estudo, coleta e análise de dados, decisão de publicação ou preparação do manuscrito.

Interesses concorrentes: Os autores declararam que não existem interesses concorrentes.

Introdução

A manutenção da homeostase da glicose dentro de uma faixa fisiológica estreita é uma componente do metabolismo humano e é finamente regulado por mecanismos complexos que controlam a secreção e a ação da insulina. Uma interrupção na governança do sistema glicose-insulina pode levar a graus variáveis de regulação da glicose alterada, o que pode resultar em diabetes melito. De acordo com as estimativas mais recentes, o diabetes mellitus afeta mais de 415 milhões de indivíduos em todo o mundo [1], é caracterizada por graves complicações cardiovasculares levando à morte precoce [2], e suas tendências prospectivas de incidência a destacam como um fardo global de proporção pandêmica. A maioria dos casos de diabetes são classificados como diabetes mellitus tipo 2 (DM2), que mostra a perda progressiva da secreção de insulina no contexto da resistência à insulina [3]. Após décadas de investigações, está ficando claro que o diabetes é uma doença complexa e altamente heterogênea [4], o que ainda dificulta uma compreensão abrangente da etiologia processos no nível de órgãos ou tecidos individuais e envolvendo desarranjos subcelulares em última análise, afetando todo o metabolismo do corpo.

Nesse contexto, vários modelos matemáticos da dinâmica da glicose e da insulina têm sido desenvolvidos para permitir a descrição e interpretação de tais processos, que muitas vezes são não acessíveis à medição direta *in vivo* [5]. Esses modelos geralmente aplicam equações diferenciais ordinárias (EDOs) ou equações diferenciais de atraso (DDEs) para descrever a fisiologia do sistema glicose-insulina em diferentes condições experimentais e com vários graus de detalhe [6-14]. Originalmente construído sobre o princípio da parcimônia para suavizar a complexidade dos protocolos experimentais e esforços computacionais, o primeiro marco de modelagem é representado pelo chamado "modelo mínimo" [8], que foi originalmente aplicado para estimar a sensibilidade à insulina inspecionando os cursos de tempo de insulina e glicose após uma tolerância à glicose intravenosa teste (IVGTT).

Modelos mínimos de homeostase da glicose foram estendidos e aplicados a mais condições experimentais fisiológicas e integrando uma gama mais ampla de variáveis, incluindo vários hormônios e elementos reguladores como grelina [9], glucagon [10] e incretinas [9,11,15]. No entanto, atualmente, não existe um modelo abrangente e estruturado, que resume a dinâmica da absorção de glicose de acordo com a regulação realizada por insulina e outros hormônios no nível subcelular. Isso se deve, possivelmente, às restrições inerente à abordagem de modelagem reducionista aplicada até agora. As descrições hierárquicas fornecidas por modelos multinível pode ser uma opção válida para superar esses limites. Essa abordagem, também chamada de modelagem hierárquica, é um avanço recente e uma tendência promissora na modelagem matemática de mecanismos biológicos, porque permite que um determinado fenômeno biológico seja descrito ao contabilizar simultaneamente vários níveis (hierárquicos) de abstração [16].

Aplicações recentes de modelos multiníveis foram propostas para descrever a fisiopatologia das células beta no pâncreas endócrino [17], e os efeitos de todo o corpo da cascata de sinalização de insulina alterada nos adipócitos [18], enquanto outras aplicações descreveram os efeitos da inflamação no início do DM2 e suas complicações [19]. A abordagem holística da modelagem hierárquica identifica processos subcelulares, subtipos de células e tecidos específicos, órgãos e todo o corpo como camadas estritamente interligadas, onde ocorrem variações fisiológicas em qualquer nível afetaria a dinâmica em outros lugares nos elementos constitutivos empilhados.

Uma descrição abrangente e hierárquica pode ser razoavelmente aplicada ao T2DM, porque a marca fenotípica da hiperglicemia é consequência de alterações envolvendo complexas redes hormonais e de sinalização, tecidos individuais e subtipos celulares. Recentemente, Mastig et al. [20] propuseram um modelo do sistema regulador da glicose combinado com o modelo de sinalização da insulina de Sedaghat et al. [21], enquanto Nyman et al. [18] combinou o modelo de nível de órgão de

Dalla Man et al. [22] com três diferentes versões detalhadas da sinalização da insulina nos adipócitos. A versão mais detalhada inclui o modelo de Kiselyov et al. para a descrição de ligação da insulina ao seu receptor [23].

Neste estudo, demos um passo à frente, pois aplicamos uma abordagem de modelagem multinível para construir um modelo de corpo inteiro de circuito fechado de homeostase da glicose. A estrutura em malha fechada foi projetado para permitir simulações autossustentáveis, fomentando a investigação do sistema biológico em seus componentes, ao mesmo tempo em que fornece uma forma de testar fenômenos regulatórios que atuam em diferentes escalas de tempo e possivelmente têm um efeito retardado na dinâmica geral do sistema. O modelo foi testado in silico em ambas as condições de regulação normal da glicose (NGR) e T2DM.

Como a resistência à insulina constitui um dos principais determinantes fisiopatológicos do DM2, e dada a crescente relevância do tecido adiposo como órgão endócrino influenciando o balanço energético sistêmico e a homeostase da glicose [24,25], escolhemos o tecido adiposo (resumo como adipócito) como o compartimento que liga a camada celular e o nível de corpo inteiro do modelo. O modelo de corpo inteiro proposto foi, portanto, integrado com a mais recente insulina modelo de sinalização proposto por Nyman et al. [26], que fornece uma especificação detalhada da cascata de sinalização intracelular nos adipócitos.

Embora de natureza exploratória, a arquitetura hierárquica apresentada da homeostase da glicose é passível de novas extensões, como as descrições moleculares de outros órgãos e tecidos que aqui são considerados apenas no nível do corpo inteiro.

Fisiologia modelada

Para permitir uma melhor compreensão do modelo relatamos a seguir uma breve descrição da fisiologia representada.

Após a ingestão oral de glicose no tempo 0, a glicose transita para o estômago e depois para o intestino, onde é absorvido para o plasma (Fig. 1). Esses eventos induzem a secreção endógena de insulina, que é amplificado por um aumento concomitante nos níveis circulantes dos hormônios incretinas [15]. As incretinas potencializam a liberação e a síntese de novo de insulina a partir do pâncreas. células beta, contribuindo assim para o descarte adequado de glicose nos tecidos periféricos e para manter os níveis de glicose plasmática dentro da faixa fisiológica [9]. Portanto, a liberação de insulina é aqui modulada como consequência de efeitos diretos exercidos pela glicose e efeitos indiretos mediados pelas incretinas.

A glicose pode ser produzida endogenamente, a partir da quebra do glicogênio no fígado durante o jejum. Esse mecanismo é estimulado pelo glucagon, hormônio secretado pela células do pâncreas endócrino em níveis baixos de glicose no plasma, e é suprimida pela hiperglicemia e hiperinsulinemia [27-29]. A produção endógena de glicose é suprimida por altos níveis de glicose e insulina [22,29,30]. A captação tecidual de glicose ocorre quando a insulina se liga aos seus receptores celulares, principalmente nos adipócitos e células musculares, onde a glicose é armazenada como glicogênio [31]. A captação de glicose nos adipócitos impulsiona a liberação de leptina, que inibe a fome e, portanto, a alimentação (ou seja, a ingestão oral de glicose). A fome é aqui definida como a quantidade de alimento necessária ao organismo [32]. Este último também é inibido por altos níveis de glicose e insulina no plasma. Grelina, que neutraliza a leptina, é secretada no estômago vazio, estimulando a ingestão oral de glicose [33], e é inibida pela insulina [9,34].

Para construir um modelo de circuito fechado, a ingestão oral de glicose é representada como a quantidade de glicose necessária do organismo, e é calculado considerando os níveis atuais de leptina, glicose plasmática, insulina e grelina.

A insulina plasmática e a glicose são as variáveis que ligam o nível do corpo inteiro ao celular (Fig2). A conexão entre os níveis é projetada para funcionar através do fluido intersticial, que não foi modelado como um compartimento separado, mas sim assumindo que o

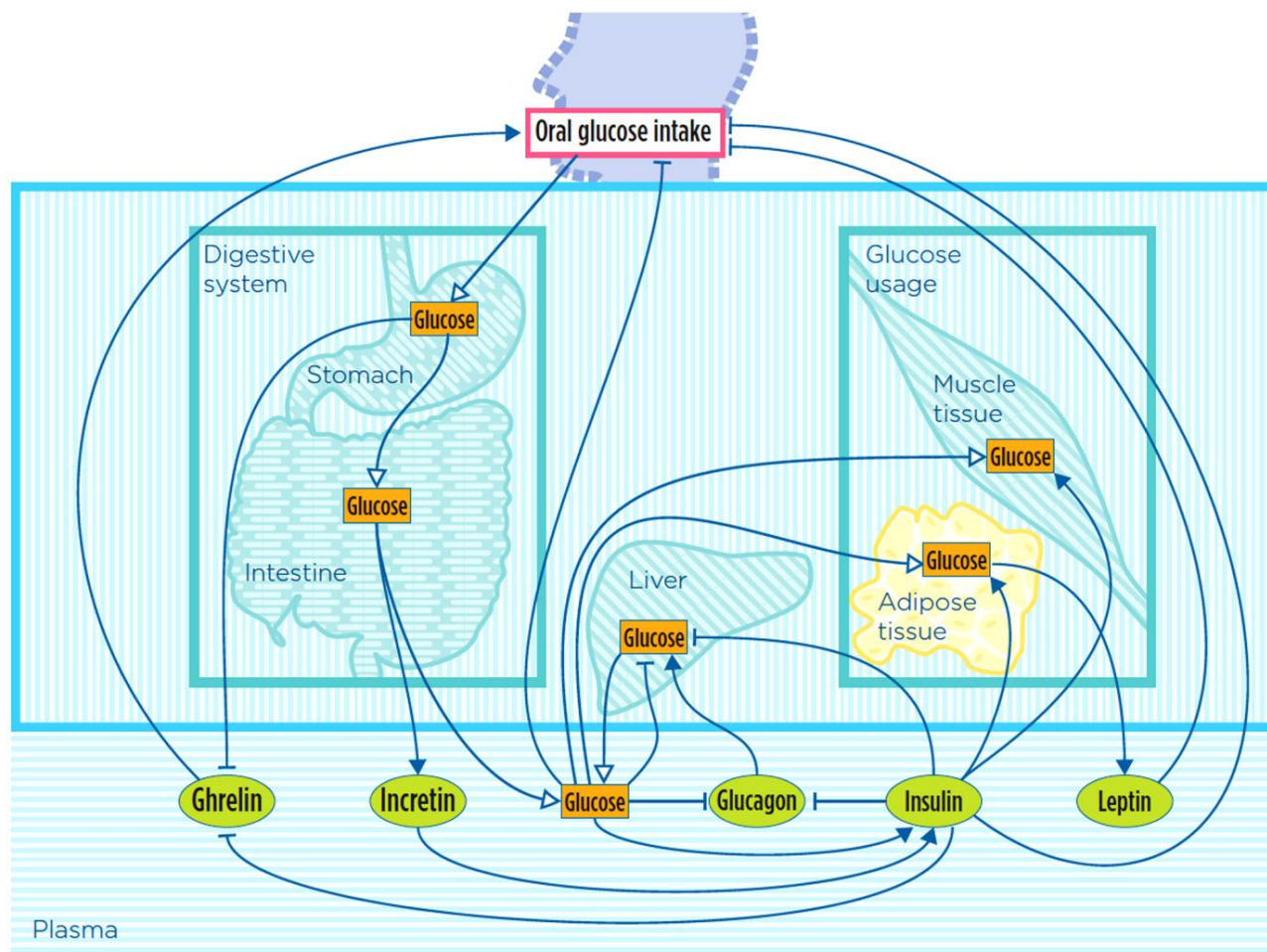


Fig 1. Representação gráfica do metabolismo da glicose em todo o corpo como considerado em nosso modelo, de acordo com a notação introduzida em [62].

Apenas os órgãos/tecidos para os quais uma variável foi explicitamente incluída no modelo são representados na figura (outros órgãos/tecidos-chave do metabolismo da glicose, como pâncreas e cérebro, não são exibidos na figura, mesmo que seu efeito tenha sido tomado indiretamente em conta nas equações do modelo, veja [Resultados e Arquivo S1](#) para detalhes). O tecido adiposo é colorido em amarelo para destacar que é a parte para a qual também é fornecido um modelo no nível celular (ver [Fig 2](#)). Ovais verdes (hormônios) e retângulos laranja representam variáveis do modelo; as setas representam a transferência de massa (cabeça branca), estimulação (cabeça preta) e inibição (cabeça T).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190627.g001>

as concentrações intersticiais de insulina e glicose (isto é, a quantidade ao redor da célula) corresponderiam proporcionalmente àquelas de insulina e glicose no plasma. A entrada do modelo celular é a insulina intersticial, que se liga ao seu receptor na membrana celular e estimula a autofosforilação do receptor e sua endocitose. O receptor fosforilado internalizado inicia uma cascata de eventos de fosforilação e ativação, de acordo com o modelo introduzido por Nyman et al. [26], aqui simplificado em algumas partes de acordo com [35]. O modelo leva em consideração atores-chave, como substrato 1 do receptor de insulina (IRS1), proteína de feedback X_P, PKB, complexos mTORC1 e mTORC2, quinase ribossômica S6 P70, proteína ribossômica S6 e substrato Akt (AS160), que regulam a translocação de GLUT4 do citosol para a membrana plasmática. A saída do modelo celular está conectada com o modelo de corpo inteiro: a quantidade de captação de glicose pelo adipócito (glicose intra-adipócito) é regulada pela quantidade de GLUT1 e GLUT4 na membrana plasmática [18,26].

Mais detalhes sobre a fisiologia de fundo do metabolismo da glicose em todo o corpo e a cascata de sinalização de insulina dentro dos adipócitos pode ser recuperada no [arquivo S1](#).

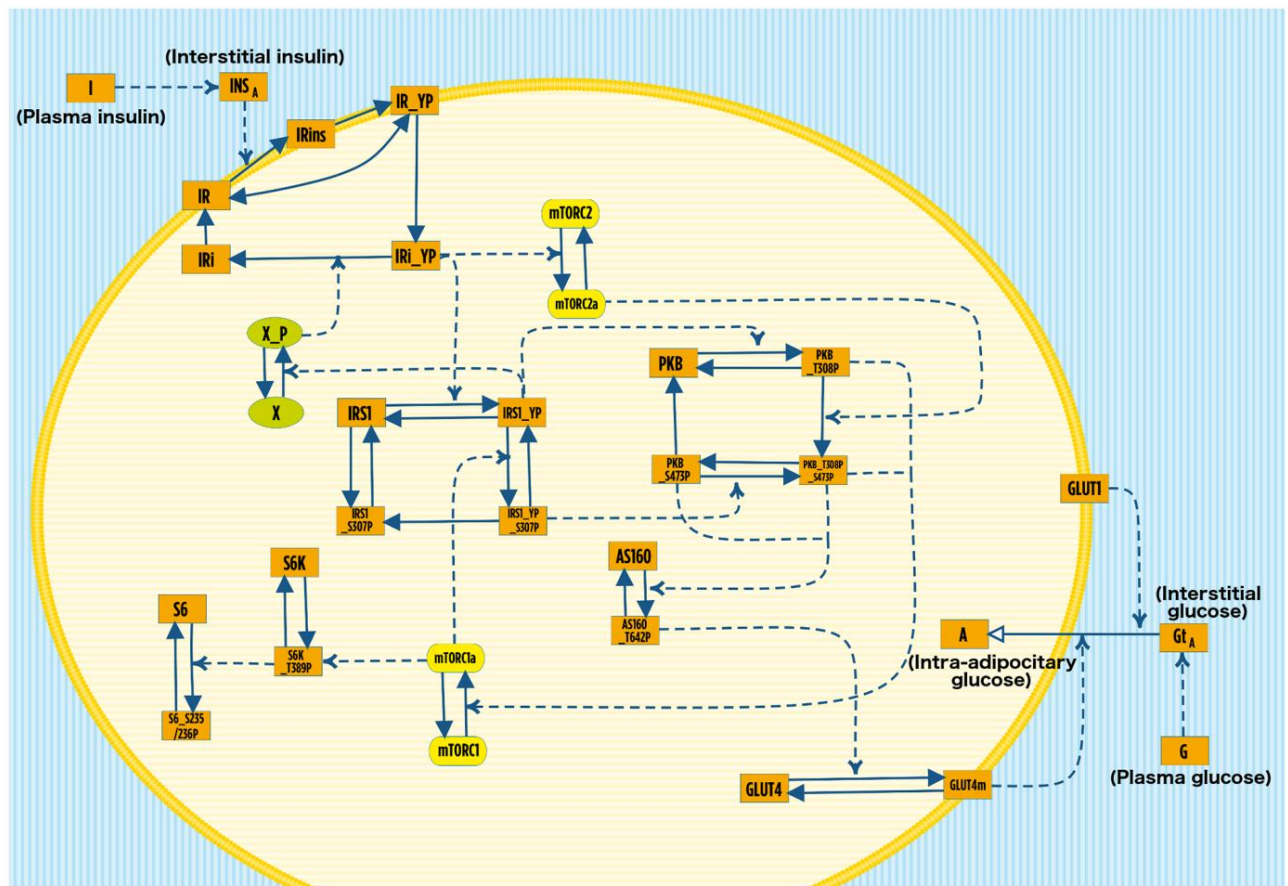


Fig 2. Representação gráfica do modelo que descreve a sinalização da insulina nos adipócitos ao nível celular, de acordo com a notação introduzida em [62]. As setas sólidas representam a modificação do estado, enquanto as setas tracejadas indicam a estimulação da reação. Os complexos de proteínas são coloridos em amarelo, os ovais verdes representam a proteína de feedback ativa e inativa, enquanto os retângulos laranja representam todos os outros componentes do modelo celular. A membrana plasmática da célula adiposa é representada em amarelo e separa o citosol (linhas horizontais amarelas claras) do líquido intersticial (linhas verticais azuis e brancas). As variáveis I e G indicam a concentração de insulina e glicose no plasma (compartimento não representado), que regulam a quantidade de insulina intersticial (INSA) e glicose (GTA), respectivamente. Por uma questão de simplicidade, destacamos as cinco variáveis que ligam o nível celular à descrição do corpo inteiro (ou seja, insulina plasmática, insulina intersticial, glicose plasmática, glicose intersticial e glicose intra-adipocitária) adicionando os nomes correspondentes entre parênteses.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190627.g002>

Resultados

No presente trabalho, apresentamos um modelo matemático multinível em malha fechada que descreve a homeostase da glicose em condições de NGR e T2DM. O modelo proposto é composto por um conjunto de EDOs que definem a dinâmica das variáveis de estado em minutos.

Equações do modelo de corpo inteiro

corpo inteiro é descrito pelas Eqs (1) a (14), como segue. A Eq (1) descreve a dinâmica da glicose no estômago (S):

dSötþ
 _____ ¼ b9Höþþ b8Sötþ dt ö1þ

O primeiro termo representa a glicose ingerida, que depende da ingestão de glicose (H , Eq (12)) e da taxa b_9 . O segundo termo modela o esvaziamento estomacal e depende da quantidade de glicose estomacal e da taxa de transferência b_8 , de acordo com [9,15].

A Eq (2) modela o trânsito de glicose no intestino, conforme descrito por Togaw et al. [9]:

$$\frac{dL}{dt} = \frac{1}{2} b_8 S - b_{10} L \quad (2)$$

O primeiro termo representa a entrada de glicose do estômago, que coincide com a quantidade de glicose que sai do estômago na Eq (1). O segundo termo é responsável pela absorção de glicose em no compartimento plasmático, que depende da quantidade de glicose no intestino (L) e

sentimos falta de b_{10} .

A dinâmica da concentração de glicose plasmática (G) é descrita na Eq (3):

$$\frac{dG}{dt} = \frac{1}{2} f \frac{b_{10} L}{V} - f \frac{b_5 C}{V} - b_1 G + b_3 I - G \quad (3)$$

O primeiro termo representa o aparecimento da glicose plasmática a partir do intestino, onde b_{10} é a taxa de transferência do intestino para o plasma, vis é o volume de distribuição de glicose e f é uma fração de absorção responsável pela parte da glicose perdida na transferência [9]. O segundo termo descreve o fígado — produção de glicose, onde a glicose proveniente do fígado (C, Eq (7)) é multiplicada pela taxa de transferência b_5 e por f/v , similarmente ao primeiro termo. Os termos 3 e 4 representam a eliminação de glicose no sangue através de mecanismos independentes e dependentes de insulina, respectivamente. Chá

O terceiro termo modela a captação de glicose do cérebro e de outros tecidos, como células sanguíneas, células renais. medula, tecidos esplâncnicos, que é independente da insulina e proporcional a G [36]. O último — modela a captação de glicose dos tecidos adiposo e muscular, que depende de G e concentração plasmática de insulina (I, Eq (4)) [9,15].

A Eq (4) representa a dinâmica da concentração plasmática de insulina (I):

$$\frac{dI}{dt} = \frac{1}{2} b_4 G - b_2 I + W \quad (4)$$

O primeiro e segundo termos são simplificações de insulinas dinâmicas descritas por Toghaw et al. [9]. O primeiro termo descreve a secreção de insulina dependente de glicose, onde b_4 é a taxa de secreção de insulina dependente de glicose. O segundo termo representa a secreção de insulina dependente de incretina, que é proporcional à concentração plasmática de glicose e incretina (W, veja Eq (5)), sendo c a taxa de secreção de insulina dependente de incretina. O último termo representa a eliminação da insulina, que depende da insulina e de sua constante de taxa de desaparecimento (b_2).

A Eq (5) descreve a variação da concentração plasmática de incretinas (W) [9,34]:

$$\frac{dW}{dt} = \frac{1}{2} b_6 L - b_7 W + s \quad (5)$$

O primeiro termo é responsável pelo aparecimento de incretinas devido ao trânsito de glicose através do intestino (L): depende de L e da taxa de secreção de incretinas b_6 . O segundo termo representa incretina eliminação, dependendo de W e sua constante de taxa de desaparecimento b_7 . O último termo é o taxa(s) de aparecimento de incretinas constante(s).

Na Eq (6) é descrita a dinâmica do glucagon plasmático (E), segundo Sulston et al. [29]:

$$\frac{dE}{dt} = \frac{c_1}{c_2} \frac{1}{I} - \delta E + \frac{c_3 E}{I} - c_0 \quad (6)$$

O primeiro termo modela o nível basal de secreção de glucagon, c_0 , que ocorre em jejum normal níveis de glicose. O segundo termo representa a dependência da secreção de glucagon do plasma

concentrações de glicose e insulina, onde $u(Ge\gamma G(t))$ indica a função degrau de Heaviside:

$$u(Ge\gamma G(t)) = \begin{cases} 1; & Ge\gamma G(t) \geq 0 \\ 0; & Ge\gamma G(t) < 0 \end{cases}$$

Quando G está acima do limiar Ge , esta parte da secreção de glucagon é suprimida, resultando em um valor de equilíbrio de glucagon alcançado quando $de\gamma G(t) = 0$, ou seja, quando $E = \frac{c_3}{c_2}$. Caso contrário, o termo representa a secreção de glucagon nas células β do pâncreas, com a secreção aumentando em baixos níveis de glicose, mas sendo suprimidos por altos níveis de insulina, de acordo com os parâmetros c_1 e c_2 . O parâmetro e modela a eficácia da insulina para representar a sensibilidade celular à insulina ação, que é comprometida na resistência à insulina e no DM2: essa taxa será máxima na condição NGR enquanto é menor no DM2 de acordo com [29]. Referimo-nos à Tabela C no [arquivo S1](#) para os valores de e e Ge , empregados no modelo na condição NGR e T2DM. O último termo descreve a eliminação de glucagon no plasma, que depende de E e sua degradação c_3 [29].

A variável C , descrita na [Eq \(7\)](#), representa a massa de glicose no fígado pronta para ser secretada, que foi produzido a partir da quebra de glicogênio:

$$\frac{dC}{dt} = b_{23} - b_{25}I + e b_{22}G - b_{21}E + b_5C \quad (7)$$

A equação é obtida combinando os trabalhos de Dalla Man et al. [22] e Sulston et al. [29], onde as unidades variáveis/parâmetros foram convertidas de acordo com o modelo. Chá primeiro termo descreve a taxa basal de produção de glicose no fígado, b_{23} . O segundo e terceiro mandato representam o efeito inibidor de I e G na produção de glicose hepática, de acordo com a taxa constantes b_{25} e b_{22} e eficácia da insulina (e). O quarto termo é responsável pelo efeito plasmático do glucagon (E) na estimulação da degradação do glicogênio, onde b_{21} é a taxa de produção de glicose no fígado, que é dependente do glucagon [29]. O último termo representa a transferência de glicose do fígado para o plasma de acordo com a taxa de transferência b_5 [9].

A [Eq \(8\)](#) descreve a dinâmica da massa de glicose no tecido muscular (M):

$$\frac{dM}{dt} = 0.1 \frac{V}{f} b_3 G - b_{27} M \quad (8)$$

O primeiro termo representa a entrada de glicose, que depende das concentrações plasmáticas de glicose e insulina, da eficácia da insulina (e) [29] e da taxa de utilização b_3 . Os fatores de escala 0.1 e V/f foram introduzidos para converter a concentração de glicose plasmática em uma massa e para definir a captação de glicose muscular para 10% da captação de glicose do corpo inteiro [36]. O último termo da equação representa eliminação de glicose muscular, que depende de M e da taxa de eliminação b_{27} [37].

A [Eq \(9\)](#) representa a massa de glicose do tecido adiposo (A):

$$\frac{dA}{dt} = k_{GLUT4m} \frac{G}{K_{mG4} + G} - k_{GLUT1} \frac{G}{K_{mG1} + G} - k_{glucA} A \quad (9)$$

A [Eq \(9\)](#) é uma das ligações entre o modelo de corpo inteiro e o celular e inclui variáveis de ambos. Os dois primeiros termos provêm do modelo de Nyman et al. [18]. Estes termos representam a entrada de glicose nos adipócitos mediada pelo transportador de glicose 1 (GLUT1) e por transportador de glicose 4 na membrana do adipócito (GLUT4m). GLUT1 e GLUT4m são variáveis do modelo celular. GLUT1 não depende do tempo na [Eq \(9\)](#) porque sua quantidade é assumido como constante de acordo com [18,26]. Ambos os termos dependem da concentração de glicose intersticial (G , veja [Eq \(14\)](#)), onde K_{mG4} e K_{mG1} são dois parâmetros que modelam a saturação da internalização de glicose. O último termo da equação representa a eliminação de glicose

do tecido adiposo, que depende da quantidade de glicose internalizada e da taxa de eliminação kgluc.

A Eq (10) descreve a dinâmica da leptina plasmática (Y):

$$\frac{dY}{dt} = \frac{1}{4} b_{13} A - b_{14} Y \quad (10)$$

O primeiro termo representa a secreção de leptina, que depende da quantidade de glicose no tecido adiposo (A) [38,39], da taxa de secreção de leptina b_{13} e do parâmetro Gordura (a média total massa gorda em humanos [40]). O segundo termo modela a degradação da leptina, que depende de Y e na taxa de eliminação b_{14} de acordo com [40,41].

A dinâmica da concentração de grelina no plasma (Q) é descrita na Eq (11):

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{1}{4} b_{12} \exp \left(\frac{S}{S_0} \right) - m Q + b_{11} Q \quad (11)$$

O primeiro termo representa a secreção de grelina, que é modelada como sendo inibida exponencialmente por S e I. O termo também depende dos parâmetros I (a taxa de decaimento dependente de S), b_{12} (taxa de secreção de grelina) e m (taxa de decaimento dependente de I) [9,34]. O último termo da equação é responsável pela eliminação linear da grelina, que depende da taxa b_{11} [9,34].

A Eq (12) descreve a ingestão de glicose (H):

$$\frac{dH}{dt} = \frac{b_{17} Q}{b_{18} Y + 1} \exp \left(-\frac{r I}{1} \right) - b_{19} G + b_{9} H \quad (12)$$

H representa a quantidade de glicose necessária do corpo. Para construir um circuito fechado modelo, a ingestão de glicose foi modelada igual a essa quantidade, que pode ser pensada como a sinal de fome. Este último foi inicialmente introduzido no modelo de rato de Jacquier et al. [32] e a equação correspondente foi aqui adaptada para modelar a fisiologia humana. O primeiro termo representa o efeito da insulina plasmática (I), leptina (Y) e grelina (Q) sobre a fome. Eu e Y inibem a ingestão de alimentos enquanto Q a aumenta. O efeito da leptina e grelina é mediado pelos parâmetros b_{18} e b_{17} , respectivamente, de acordo com [32,42]. A insulina inibe exponencialmente o H o parâmetro r, modelando o efeito negativo sobre o apetite que surge quando I é alto [43,44]. Chá segundo termo descreve a redução da ingestão de glicose que depende da glicose plasmática e do próprio H [45]. O último termo é responsável pela absorção de glicose para o estômago, que depende da quantidade de glicose ingerida e na taxa de transferência de glicose b_9 .

As Eqs (13) e (14) ligam o modelo de corpo inteiro com o celular, descrevendo insulina (INSA) e glicose intersticial (GtA) ao redor dos adipócitos:

$$\frac{dINSA}{dt} = \frac{1}{4} p_{2U} INSA - p_{2U} I_0 I \quad (13)$$

$$\frac{dGtA}{dt} = \frac{1}{4} q_1 GtA - p_{2G} G - G_b \quad (14)$$

A Eq (13) é derivada de Dalla Man et al. [22] e a Eq (14) foi escrita seguindo o mesmo abordagem de modelagem. O primeiro termo em ambas as equações modela a degradação, de acordo com os parâmetros p_{2U} e q_1 para insulina e glicose, respectivamente. O segundo termo descreve a quantidade de insulina plasmática (I) e glicose plasmática (G) que se move para o compartimento intersticial. Dentro ambos os casos, consideramos apenas a quantidade que excede o nível basal, onde I_b e G_b são os níveis basais de insulina plasmática e glicose, respectivamente, e p_{2U} e q_2 são as taxas de transferência.

Equações do modelo de nível celular (adipócito)

O nível celular do modelo, representado pelas especificações moleculares da cascata de sinalização da insulina nos adipócitos, é descrito pelas Eqs (15) a (41), que foram derivadas de Nyman et al. [26] e Brannmark et al. [35]. Esta parte do modelo representa a sinalização da insulina cascata nos adipócitos, começando com a ligação da insulina intersticial INSA com o receptor de insulina livre na membrana do adipócitos (RI) e terminando com a translocação de GLUT4 do citosol para a membrana plasmática. As Eqs de (15) a (39) são derivadas de Nyman et al. [26], enquanto as Eqs (40) e (41) são de Brannmark et al. [35]. O modelo celular se reconecta com o modelo de corpo inteiro através da Eq (9), onde o aumento da massa de glicose no tecido adiposo é modelado de acordo com a quantidade de GLUT4 e GLUT1 [18,26].

As últimas cinco equações do modelo de Nyman introduzidas em [26] não foram incluídas aqui, pois eles descrevem fenômenos regulatórios relacionados a S6 e S6K que não são relevantes para o escopo do presente trabalho. Portanto, as Eqs (40) e (41), que modelam a dinâmica de S6 e S6k, foram retirados de Brannmark et al. 2013 [35].

Todas as equações celulares são modeladas através da cinética de ação de massa a partir de [26] e [35]. A descrição e o valor de todos os parâmetros são fornecidos na Tabela C no [Arquivo S1](#). Aqui nós relatou a lista de equações do modelo com uma breve descrição das variáveis. Referimo-nos ao próxima seção Simulações de modelos para a descrição da dinâmica celular e para [26] e [35] para qualquer insight adicional.

A Eq (15) descreve a dinâmica do receptor de insulina livre (IR) na membrana do adipócito:

$$\frac{dIR_{\text{ôtp}}}{dt} = \frac{1}{4} k1aIR_{\text{ôtp}}INSA_{\text{ôtp}} - k1_{\text{basal}} IR_{\text{ôtp}} - k1gIR_{\text{YPôtp}} - k1rIR_{\text{ôtp}} \quad (15)$$

A Eq (16) descreve a dinâmica do receptor de insulina fosforilado (IR_YP). fósforo lação pode ser independente de insulina (parâmetro $k1_{\text{basal}}$) e dependente (parâmetro $k1c$):

$$\frac{dIR_{\text{YPôtp}}}{dt} = \frac{1}{4} k1_{\text{basal}} IR_{\text{ôtp}} - k1cIR_{\text{insôtp}} - k1dIR_{\text{YPôtp}} - k1gIR_{\text{YPôtp}} \quad (16)$$

A Eq (17) representa a dinâmica do receptor de insulina que está ligado à insulina, mas não já fosforilados (IRins):

$$\frac{dIR_{\text{insôtp}}}{dt} = \frac{1}{4} k1aIR_{\text{ôtp}}INSA_{\text{ôtp}} - k1cIR_{\text{insôtp}} \quad (17)$$

A Eq (18) representa o receptor de insulina fosforilado que foi endocitado a partir do adipócito (IRi_YP):

$$\frac{dIRi_{\text{YPôtp}}}{dt} = \frac{1}{4} k1dIR_{\text{YPôtp}} - k1fIRi_{\text{YPôtp}} - k1rIRi_{\text{ôtp}} \quad (18)$$

A Eq (19) representa a dinâmica do receptor de insulina internalizado livre (IRi):

$$\frac{dIRi_{\text{ôtp}}}{dt} = \frac{1}{4} k1fIRi_{\text{YPôtp}} - k1rIRi_{\text{ôtp}} \quad (19)$$

As Eqs de (20) a (23) descrevem o substrato 1 do receptor de insulina (IRS1) em seus quatro níveis de fósforo formulários de cão. IRS1 não é fosforilado, IRS1_YP é fosforilado no local da tirosina, IRS1_YP_S307P é fosforilado nos sítios tirosina e serina, IRS1_S307P é

fosforilado apenas no local da serina:

$$\frac{dIRS1\delta t\text{p}}{dt} = \frac{1}{4} k2bIRS1 YP\delta t\text{p} k2gIRS1 S307P\delta t\text{p} - k2aIRS1\delta t\text{p} IR YP\delta t\text{p} k2basallIRS1\delta t\text{p} \quad \delta 20\text{p}$$

$$\frac{dIRS1 YP\delta t\text{p}}{dt} = \frac{1}{4} k2aIRS1\delta t\text{p} IRi YP\delta t\text{p} p k2dIRS1 YP S307P\delta t\text{p} - k2bIRS1 YP\delta t\text{p} k2cIRS1 YP\delta t\text{p} mTORC1a\delta t\text{p} kfb \quad \delta 21\text{p}$$

$$\frac{dIRS1 YP S307P\delta t\text{p}}{dt} = \frac{1}{4} k2cIRS1 YP\delta t\text{p} mTORC1a\delta t\text{p} kfb p - k2dIRS1 YP S307P\delta t\text{p} k2fIRS1 YP S307P\delta t\text{p} \quad \delta 22\text{p}$$

$$\frac{dIRS1 S307P\delta t\text{p}}{dt} = \frac{1}{4} k2basal IRS1\delta t\text{p} p k2fIRS1 YP S307P\delta t\text{p} k2gIRS1 S307P\delta t\text{p} dt - \quad \delta 23\text{p}$$

As Eqs (24) e (25) representam a dinâmica da proteína de feedback X que, em sua forma ativa X_P, aumenta a desfosforilação do receptor de insulina internalizado:

$$\frac{dX\delta t\text{p}}{dt} = \frac{1}{4} k3bX P\delta t\text{p} k3aX\delta t\text{p} IRS1 YP\delta t\text{p} dt - \quad \delta 24\text{p}$$

$$\frac{dX P\delta t\text{p}}{dt} = \frac{1}{4} k3aX\delta t\text{p} IRS1 YP\delta t\text{p} k3bX P\delta t\text{p} dt - \quad \delta 25\text{p}$$

As Eqs de (26) a (29) descrevem as quatro formas diferentes da proteína quinase b: não fosforilada (PKB), fosforilada apenas no sítio da treonina (PKB_{T308P}), apenas na serina local (PKB_{S473P}) e em ambos os locais (PKB_{T308P_S473P}):

$$\frac{dPKB\delta t\text{p}}{dt} = \frac{1}{4} k4bPKB T308P\delta t\text{p} p k4hPKB S473P\delta t\text{p} k4aPKB\delta t\text{p} IRS1 YP\delta t\text{p} dt - \quad \delta 26\text{p}$$

$$\frac{dPKB T308P\delta t\text{p}}{dt} = \frac{1}{4} k4aPKB\delta t\text{p} IRS1 YP\delta t\text{p} k4bPKB T308P\delta t\text{p} p - k4cPKB T308P\delta t\text{p} mTORC2a\delta t\text{p} \quad \delta 27\text{p}$$

$$\frac{dPKB S473P\delta t\text{p}}{dt} = \frac{1}{4} k4fPKB T308P S473P\delta t\text{p} k4ePKB S473P\delta t\text{p} IRS1 YP S307P\delta t\text{p} p - k4hPKB S473P\delta t\text{p} \quad \delta 28\text{p}$$

$$\frac{dPKB T308P S473P\delta t\text{p}}{dt} = \frac{1}{4} k4cPKB T308P\delta t\text{p} mTORC2a\delta t\text{p} p k4ePKB S473P\delta t\text{p} IRS1 YP S307P\delta t\text{p} p k4fPKB T308P S473P\delta t\text{p} - \quad \delta 29\text{p}$$

As Eqs (30) e (31) descrevem o complexo proteico mTORC1 (alvo mamífero de rapamicina mTOR em complexo com raptor) em suas formas inativa (mTORC1) e ativa (mTORC1a):

$$\frac{dmTORC1a\delta t}{dt} = \frac{1}{4} k5bmTORC1a\delta t \cdot mTORC1\delta t\delta k5a1PKB \cdot T308P \cdot S473P\delta t\delta t - \delta 30\delta t \cdot pk5a2PKB \cdot T308P\delta t\delta t$$

$$\frac{dmTORC1a\delta t}{dt} = \frac{1}{4} mTORC1\delta t\delta k5a1PKB \cdot T308P \cdot S473P\delta t\delta t \cdot pk5a2PKB \cdot T308P\delta t\delta t - \delta 31\delta t \cdot k5bmTORC1a\delta t$$

As Eqs (32) e (33) representam o complexo proteico mTORC2 (alvo mamífero da rapamicina mTOR em complexo com rictor) em suas formas inativa (mTORC2) e ativa (mTORC2a):

$$\frac{dmTORC2\delta t}{dt} = \frac{1}{4} k5cmTORC2\delta t\delta tIRi \cdot YP\delta t\delta t \cdot pk5dmTORC2a\delta t\delta t - \delta 32\delta t$$

$$\frac{dmTORC2a\delta t}{dt} = \frac{1}{4} k5cmTORC2\delta t\delta tIRi \cdot YP\delta t\delta t \cdot k5dmTORC2a\delta t\delta t - \delta 33\delta t$$

As Eqs (34) e (35) descrevem AS160, o substrato de PKB, e sua forma fosforilada AS160_T642P:

$$\frac{dAS160\delta t}{dt} = \frac{1}{4} k6bAS160 \cdot T642P\delta t\delta t \cdot AS160\delta t\delta k6a1PKB \cdot T308P \cdot S473P\delta t\delta t - \delta 34\delta t \cdot pk6a2PKB \cdot S473P\delta t\delta t$$

$$\frac{dAS160 \cdot T642P\delta t}{dt} = \frac{1}{4} AS160\delta t\delta k6a1PKB \cdot T308P \cdot S473P\delta t\delta t \cdot pk6a2PKB \cdot S473P\delta t\delta t - \delta 35\delta t \cdot k6bAS160 \cdot T642P\delta t\delta t$$

As Eqs (36) e (37) representam o transportador de glicose 4 dentro do citosol do adipócito (GLUT4) e na membrana celular (GLUT4m):

$$\frac{dmGLUT4m\delta t}{dt} = \frac{1}{4} k7aGLUT4\delta t\delta tAS160 \cdot T642P\delta t\delta t \cdot k7bGLUT4m\delta t\delta t - \delta 36\delta t$$

$$\frac{dmGLUT4\delta t}{dt} = \frac{1}{4} k7aGLUT4\delta t\delta tAS160 \cdot T642P\delta t\delta t \cdot k7bGLUT4m\delta t\delta t - \delta 37\delta t$$

As Eqs (38) e (39) descrevem a dinâmica da S6 quinase (S6K) e sua forma fosforilada S6K_T389P:

$$\frac{dS6K\delta t}{dt} = \frac{1}{4} k9bS6K \cdot T389P\delta t\delta t\delta t \cdot k9aS6K\delta t\delta t \cdot mTORC1a\delta t\delta t - \delta 38\delta t$$

$$\frac{dS6K \cdot T389P\delta t}{dt} = \frac{1}{4} k9aS6K\delta t\delta t \cdot mTORC1a\delta t\delta t \cdot k9bS6K \cdot T389P\delta t\delta t - \delta 39\delta t$$

As Eqs (40) e (41) representam a proteína ribossomal S6 e sua forma fosforilada

S6_S235_S236P.

 $\frac{dS6}{dt}$ $\frac{1}{4} k9b2S6 S235 S236P \dot{O}t \dot{b} k9f2S6 \dot{O}t \dot{b} S6K T389P \dot{O}t \dot{b} dt$

040P

 $\frac{dS6 S235 S236P \dot{O}t \dot{b}}{dt}$ $\frac{1}{4} k9f2S6 \dot{O}t \dot{b} S6K T389P \dot{O}t \dot{b} k9b2S6 S235 S236P \dot{O}t \dot{b} dt$

041P

Simulações de modelos. O modelo foi simulado durante 1000 minutos (três refeições) a partir de uma condição inicial que representa o estado de jejum ($t = 0$). O modelo originário valores e estimativas de parâmetros foram calculados conforme introduzidos em Materiais e Métodos e são relatados nas Tabelas A e C no [Arquivo S1](#), respectivamente. A [Fig. 3](#) mostra a dinâmica de cada variável do modelo em todo o nível do corpo. As linhas verde e preta representam o NGR e condições T2DM, respectivamente. Os intervalos fisiológicos superior e inferior para cada variável são mostrado em linhas retas azul (linha superior, HL) e vermelha (linha inferior, LL), de acordo com as estimativas disponíveis na literatura (ver também Tabela B no [Arquivo S1](#)). O modelo exibiu um comportamento oscilatório nas condições NGR e T2DM através de conjuntos de parâmetros alternativos

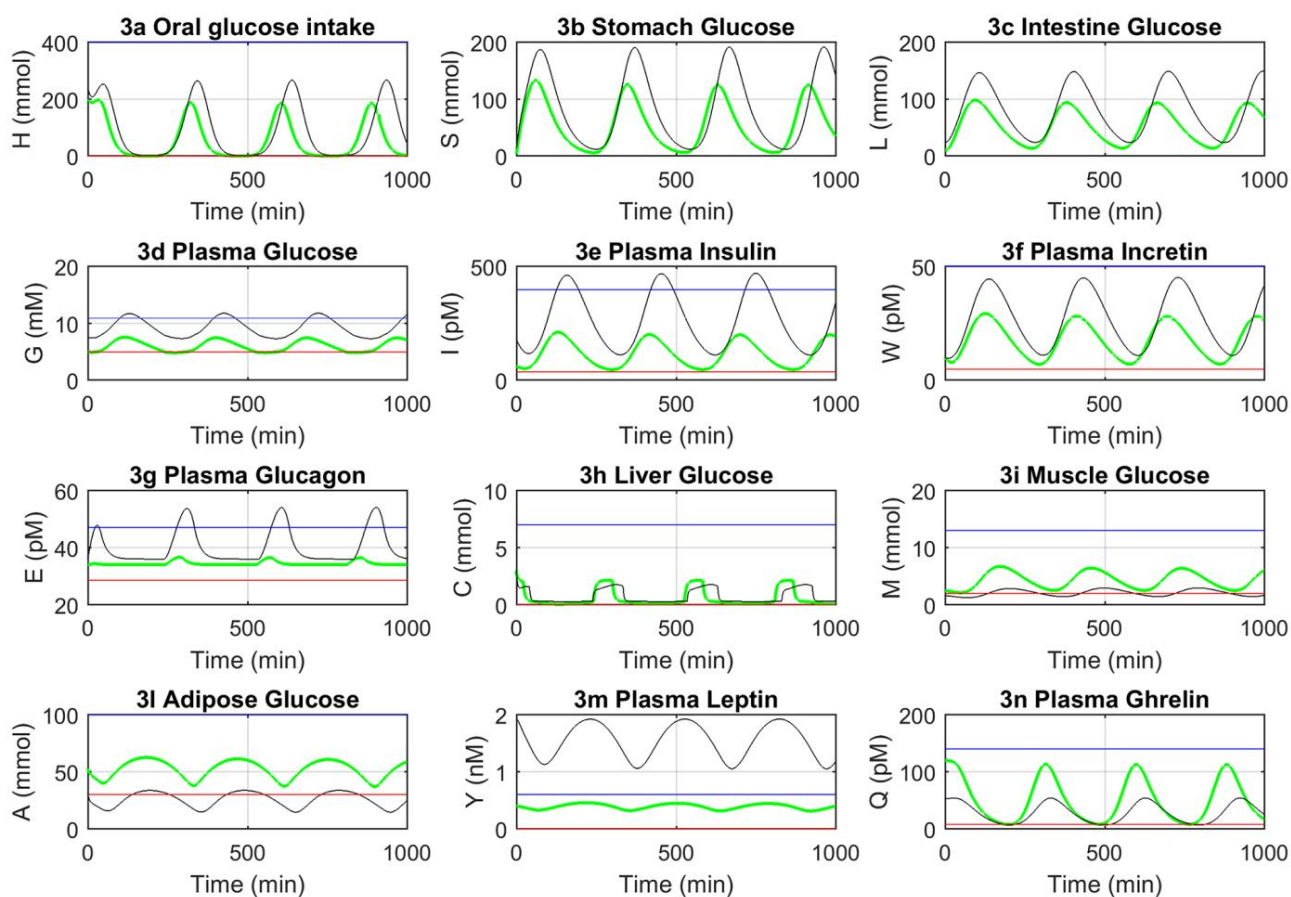


Fig 3. Dinâmica do modelo em todo o corpo. Cada gráfico representa uma dinâmica variável. A regulação normal da glicose (NGR) e T2DM condições são mostradas em verde e preto, respectivamente. As linhas vermelhas e azuis delimitam os intervalos fisiológicos inferior e superior das variáveis (veja também Tabela B no [Arquivo S1](#)).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190627.g003>

que explicava a interação recíproca entre as variáveis constituintes nas duas condições.

Na condição NGR, o sistema começou em jejum, simulando uma ingestão oral de glicose (Fig. 3c). A absorção de glicose do intestino para a corrente sanguínea foi caracterizada por uma defasagem de tempo adicional (Fig. 3d) e desencadeou o aumento dos níveis circulantes de insulina (Fig. 3e). Modelamos o trânsito de glicose pelo intestino como um estímulo para a secreção de incretinas (Fig. 3f), que resultou em uma amplificação da secreção endógena de insulina. A secreção de glucagon (Fig. 3g) foi modelada como sendo inibida por altas concentrações de glicose e insulina, e aumentada em caso de níveis marcadamente baixos de glicose no plasma, estimulando assim a saída de glicose endógena do fígado (Fig. 3h). A captação de glicose pelos tecidos muscular e adiposo foi favorecida em caso de altas concentrações de insulina, resultando em um aumento líquido da massa de glicose nesses tecidos (Fig. 3i e 3l).

O modelo de corpo inteiro foi associado ao nível celular de adipócitos através do fluido intersticial que envolve as células individuais. Aqui assumimos que o fluido intersticial está em comunicação direta com o plasma. Portanto, as duas camadas de abstração (ou seja, o corpo inteiro e os níveis de adipócitos) foram ligadas através da insulina e glicose intersticiais (INSA e GtA, Fig. 2) em uma estrutura conceitual que espelha de perto a fisiologia da sinalização da insulina.

O fluido intersticial, ao invés do plasma, está circundando as células alvo da insulina, ele flui em nosso modelo do plasma para o espaço intersticial com uma mudança de tempo (Fig. 2) eventos de sinalização. Os componentes inativos e não fosforilados da cascata, como o receptor de insulina não ligado (IR) ou a proteína quinase B não fosforilada (PKB), diminuiram proporcionalmente em concentrações incrementais de insulina intersticial (Fig. 4c e 4g). O contrário ocorreu com os componentes ativos e fosforilados, como o receptor de insulina ligado (IRins) ou o substrato 1 do receptor de insulina fosforilado (IRS1_YP), que aumentaram em níveis mais elevados de insulina intersticial (Fig. 4a e 4f). A cascata de sinalização da insulina e, eventualmente, levando à translocação do transportador de glicose tipo 4 (GLUT4) para a membrana celular. A saída da camada celular foi ligada à saída de todo o corpo através da quantidade de GLUT4 na membrana do adipócito, que afetou diretamente a captação de glicose pelo tecido adiposo (Fig. 4m). Esta última variável foi de fato compartilhada entre as duas camadas, juntamente com a insulina intersticial e a glicose.

Na condição DM2, o valor inicial de várias variáveis do modelo, como glicose e insulina plasmática, e alguns dos parâmetros, foram modificados, conforme descrito em Materiais e Métodos e relatados nas Tabelas A e C no Arquivo S1, a fim de simular uma condição de DM2 de um paciente individual virgens de drogas. Pode-se observar que, em relação ao NGR, a dinâmica da glicose (Fig. 3a a 3d) apresentou maior variação na condição de DM2, assim como a de insulina, incretina e glucagon (Fig. 3e a 3g). A massa total e a taxa de produção de glicose hepática foram reduzidas (Fig. 3h), assim como a captação de glicose pelo músculo e tecido adiposo (Fig. 3i e 3l). De acordo com a fisiopatologia do DM2, a eficácia da insulina foi reduzida na condição do DM2. Apesar dos maiores níveis absolutos de insulina, o mecanismo de captação de glicose foi prejudicado nos músculos, adipócitos e fígado. A cascata de sinalização da insulina prejudicada afeta a captação de glicose, resultando em diminuição da captação de glicose pelo tecido adiposo e secreção de leptina. Um aumento da concentração de leptina foi observado na condição experimental DM2 (Fig. 3m), uma vez que a massa gorda individual foi ajustada para um nível aumentado, de acordo com Grasman et al. [40] (consulte a Tabela C em Arquivo S1, parâmetro Fat).

As estimativas de alguns parâmetros do modelo, incluindo o número de IRs e GLUT4, e o feedback positivo do mTORC1, foram modificados, de acordo com Nyman et al. [26], para

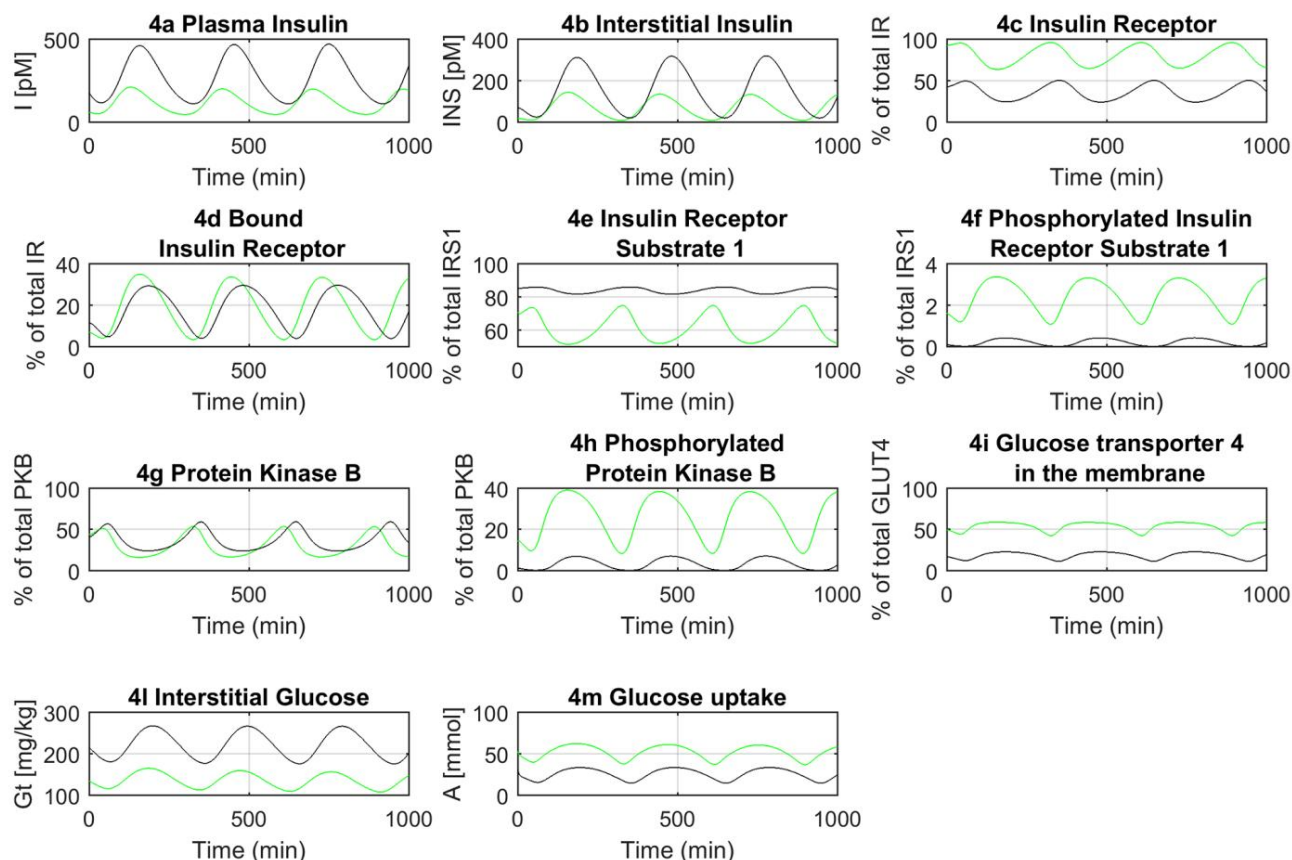


Fig 4. Dinâmica do modelo da sinalização da insulina nos adipócitos no nível celular (apenas um subconjunto de variáveis-chave é representado). As condições normais de regulação da glicose (NGR) e T2DM são mostradas em verde e preto, respectivamente.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190627.g004>

simular a condição T2DM no nível celular (consulte [Materiais e métodos](#) e S1). A diminuição do número total de IRs levou à redução da ligação e fosforilação de IR (Fig. 4c, 4d e 4f). Da mesma forma, a concentração total reduzida de GLUT4 afetou a quantidade de GLUT4 eventualmente ancorando na membrana do adipócito (Fig. 4i). O feedback positivo reduzido do mTORC1 teve um efeito regulador mais geral em todos os componentes da cascata de sinalização da insulina a partir de um nível mais baixo de IRS1_YP, onde o complexo proteico mTORC1 atua diretamente (Fig 4f). Todas as mudanças aplicadas nos parâmetros do modelo descrito anteriormente trabalharam harmonicamente em conjunto para reduzir a quantidade de GLUT4, eventualmente levando à redução da captação de glicose pelos adipócitos (Fig. 4m).

Para testar a consistência do modelo com a fisiologia, ajustamos os mesmos valores experimentais empregados por Nyman et al. [26] no nível celular nas condições NGR e T2DM, conforme mostrado nas Figs 5 e 6, respectivamente (ver também [Materiais e métodos](#)). De acordo com a fisiologia que governa as interações recíprocas entre leptina, insulina e grelina, também conseguimos reproduzir aproximadamente as flutuações dos níveis circulantes de grelina, que são tipicamente caracterizadas em humanos por uma redução acentuada após a ingestão de refeições e por um retorno à linha de base antes da ingestão. a próxima refeição [46,47]. É importante notar que, embora não tenhamos sido capazes de capturar, por design, as flutuações circadianas da grelina (que geralmente aumenta após um jejum noturno) e outros hormônios, nosso modelo reproduziu com sucesso a dinâmica fisiológica da grelina ao comparar inversamente as da insulina (Fig 3e e 3n). Em contrapartida, de acordo com o

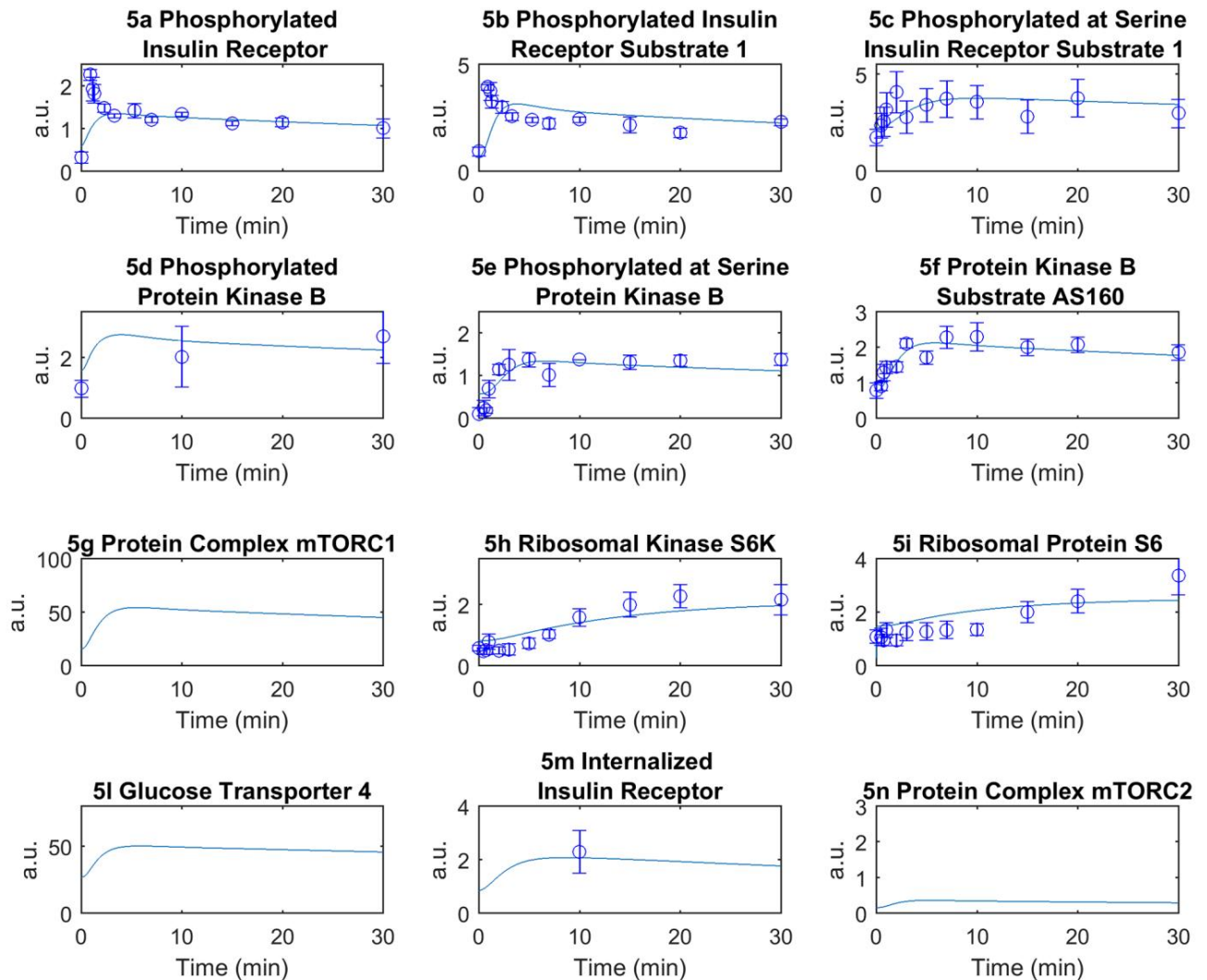


Fig 5. Simulação do modelo e ajuste de dados, condição normal de regulação da glicose (NGR). Cada gráfico representa os cursos de tempo correspondentes para os intermediários de sinalização de insulina indicados. Os dados experimentais são retirados de Nyman et al. [26] e são representados com círculos e barras de erro (au indica unidades arbitrárias). O curso de tempo representa a simulação do modelo.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190627.g005>

papel da leptina como regulador prototípico da homeostase energética e sua dependência da massa de tecido adiposo, a dinâmica da leptina retornada pelo modelo em ambas as condições de DM2 e NGR mostrou flutuações muito amortecidas, em comparação com as da grelina e insulina (Fig 3m).

Discussão

O objetivo deste trabalho foi apresentar um modelo multinível em malha fechada da homeostase da glicose humana, descrevendo, em uma arquitetura de sistema multi-escala hierárquica, a contribuição de seus principais determinantes para as condições de NGR e T2DM, tanto em nível global, níveis corporais e celulares (adipócitos). A estratégia de modelagem fundiu dois níveis fisiológicos diferentes, o órgão e o celular, para fundamentar a inclusão dos outros atores principais na homeostase da glicose (como células musculares, pancreáticas e hepáticas) como compartimentos adicionais do nível celular.

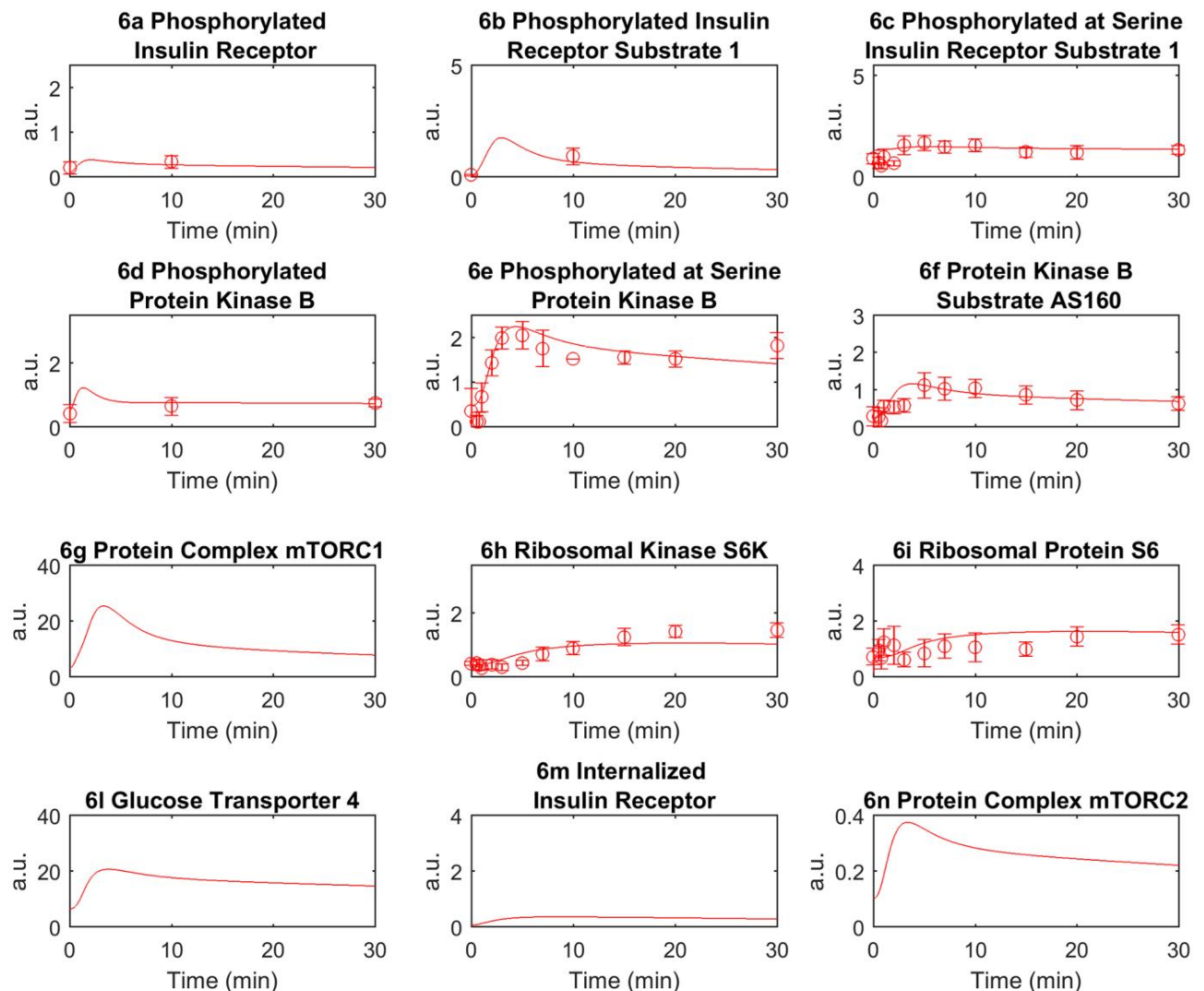


Fig 6. Simulação do modelo e ajuste de dados, condição T2DM. Cada gráfico representa os cursos de tempo correspondentes para os intermediários de sinalização de insulina indicados. Os dados experimentais são retirados de Nyman et al. [26] e são representados com círculos e barras de erro (au indica unidades arbitrárias). O curso de tempo representa a simulação do modelo.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190627.g006>

O modelo foi testado com sucesso in silico para condições NGR e T2DM, que foram descritas por meio de condições iniciais alternativas e estimativas de parâmetros (consulte [Materiais e métodos](#) e Tabelas A e C no [Arquivo S1](#)). A saída do modelo (necessidades de glicose de todo o corpo) coincidiu com a entrada (ingestão oral de glicose) em um circuito fechado, o que permitiu simular perpetuamente a dinâmica de todo o corpo, de acordo com um sistema de autoalimentação. Sempre que possível, as equações do modelo foram derivadas diretamente da literatura e depois adaptadas para trabalhar em conjunto através da identificação de estados iniciais adequados e estimativas de parâmetros (consulte [Materiais e métodos](#) e S1 para detalhes). A forma das equações do modelo foi deixada inalterada na maioria dos casos para consistência com aquelas introduzidas nos trabalhos originais. Essa abordagem oferece as seguintes vantagens: (i) permite contar com equações de modelo bastante estabelecidas, que foram amplamente analisadas na literatura para descrever a fisiologia de interesse; (ii) não requer estimar de novo vários parâmetros (como seria necessário em caso de reformulação de equações), que podem ser derivados diretamente da literatura; (iii) isso

permite uma comparação dos resultados aqui apresentados com os já discutidos na literatura. No entanto, essa estratégia de modelagem tem a desvantagem de que algumas equações podem parecer diferentes, mesmo que modelam processos semelhantes. Por exemplo, a saturação foi modelada considerando termos de Michaelis-Menten como na Eq (9) ou confiando em termos exponenciais mais abstratos como na Eq (11). Ressaltamos que essa discrepância não afeta a confiabilidade das simulações do modelo porque o conjunto de EDOs foi parametrizado para ter todas as variáveis do modelo dentro de suas faixas fisiológicas durante as simulações. Portanto, as equações do modelo são calculadas nas mesmas condições consideradas nos artigos onde foram originalmente introduzidas.

O sistema de malha fechada, que tem a vantagem única de simular condições experimentais por longas janelas de tempo sem intervenção externa, foi conseguido através da inclusão do sinal de fome, aqui entendido como a quantidade de glicose necessária do corpo. A descrição da fome foi possível através da leptina e da grelina, que funcionam como moléculas complementares para regular a ingestão de alimentos e o balanço energético em conjunto com a insulina [46,48]. A grelina é um hormônio de ação rápida secretado quando o estômago está vazio [49] e estimula a ingestão de alimentos. A concentração de leptina depende da massa gorda [50] e atua a longo prazo, sem grandes alterações em horas ou dias (Fig. 3m), como um sinal de “saciedade” para o cérebro [51,52]. É importante notar que, embora os indivíduos com DM2 sejam frequentemente caracterizados por concentrações aumentadas de leptina devido ao aumento da massa gorda, ocorre um mecanismo de resistência à leptina, tornando-os relativamente insensíveis à leptina [53].

O duplo papel do fígado como local de armazenamento e produção de glicose é uma característica nova do nosso modelo, uma vez que a inclusão dos efeitos reguladores da insulina e do glucagon nunca foi considerada em modelos anteriores [22,54]. O glucagon é um hormônio secretado pelas células alfa pancreáticas em condições de baixo índice glicêmico, que sinaliza ao fígado para liberar glicose dos estoques de glicogênio, mantendo assim o estado euglicêmico em jejum [55]. Os estados hiperglicêmicos subdiabéticos e o DM2 são frequentemente caracterizados por altos níveis de glicose plasmática em jejum, devido a uma produção excessiva de glicose do fígado, como consequência da insensibilidade do fígado à insulina ou glucagon anormalmente alto [56].

Embora vários modelos tenham sido desenvolvidos anteriormente incluindo a dinâmica do glucagon [10,29,54], incretinas [9,11,34], leptina [57] e grelina [9], consideramos todos esses fatores juntos para a primeira vez. A inclusão desses componentes, bem como a distinção da captação de glicose adiposa e muscular, relatada anteriormente em conjunto [29], forneceu uma melhor descrição das conexões recíprocas existentes entre todo o corpo e os níveis celulares e nos permitiu fisicamente “fechar o loop” entre diferentes camadas de abstração.

Vale ressaltar que observamos que, em comparação com o estado NGR, a condição T2DM no modelo apresentou dinâmica mais lenta. Embora as mudanças recíprocas na grelina (diminuição) e na insulina (aumento) impulsionem a necessidade de aumento da ingestão de glicose, a taxa de esvaziamento do estômago resultante é mais lenta, assim como a captação de glicose do tecido adiposo e dos músculos, levando a um atraso dinâmico em todo o sistema. Essas dinâmicas podem ser interpretadas à luz do princípio constitutivo que regula o modelo, que leva em consideração as supostas necessidades energéticas individuais. Portanto, nosso modelo reflete corretamente a resposta fisiológica do organismo para manter a homeostase da glicose dentro de uma faixa fisiológica em caso de desequilíbrio entre as necessidades energéticas e a ingestão de energia (ou seja, superalimentação) frequentemente observada em pacientes com DM2.

Nosso estudo tem, no entanto, uma série de limitações que devem ser abordadas. Reconhecemos o uso peculiar do termo “closed-loop” aqui empregado, que normalmente está ligado, no dicionário da comunidade do diabetes, ao chamado “pâncreas artificial”, ou seja, um sistema capaz de prever automaticamente in silico os ajustes da distribuição externa de insulina necessários para manter a glicose plasmática circulante dentro de uma estreita faixa de flutuações fisiológicas. Dentro

No contexto do presente estudo, não limitamos o termo “closed-loop” a uma espécie de “célula beta artificial”. Em vez disso, procuramos descrever a governança da homeostase da glicose aplicando uma abordagem mais ampla e holística. No entanto, deve-se ressaltar que nosso esforço de modelagem carece de uma descrição abrangente das redes hormonais e cascatas moleculares que ocorrem em cada órgão e tecido envolvido na regulação da homeostase da glicose. A justificativa para arredondar nossa escolha de focar na cascata molecular intracelular que ocorre dentro do adipócito não foi ditada apenas pela relevância do tecido adiposo como um “endócrino órgão” influenciando o balanço energético sistêmico e a homeostase da glicose [24,25], mas também pela disponibilidade de especificações matemáticas detalhadas da cascata de sinalização de insulina recentemente fornecido pelo grupo de Nyman et al. [26].

Além disso, pode-se argumentar que uma descrição de corpo inteiro semelhante à aqui descrita proposto pode ser definido sem a adição de um nível celular. No entanto, a integração de os dois níveis de abstração dentro de um único modelo permitem a observação detalhada dos efeitos recíprocos das mudanças que ocorrem entre os constituintes dos níveis celular e do corpo inteiro. Assim, a estratégia de modelagem hierárquica permite simplesmente ampliar áreas específicas de interesse (no nosso caso, os adipócitos) para investigar os efeitos regulatórios que podem ocorrer entre os dois níveis de abstração. Por exemplo, a ação de uma molécula em um receptor poderia ser facilmente incluído nas especificações do nível celular, e seus efeitos no nível do corpo todo puderam ser observados, permitindo assim a identificação das alterações nas variáveis orgânicas causadas por variações das variáveis celulares. Portanto, a adição de um nível em uma estrutura de modelagem hierárquica não implica que o restante do modelo não se mantenha por si só, mas está lá para permitir a consideração de outros efeitos (por exemplo, moleculares) dentro de um estrutura.

No entanto, apesar de suas limitações intrínsecas, nosso esforço de modelagem hierárquica demonstrou robustez suficiente para fornecer uma descrição justa dos principais determinantes da glicose homeostase em escalas celulares e sistêmicas. Como tal, dada a sua arquitetura modular única, o modelo multi-nível aqui testado constitui uma espinha dorsal promissora para anexar mais camadas de detalhes.

O modelo descreve a regulação normal da glicose e os estados diabéticos através de conjuntos de parâmetros (consulte a Tabela C no [arquivo S1](#)), onde as restrições para esses parâmetros foram principalmente derivados da literatura disponível, conforme detalhado em Materiais e Métodos. Este abordagem é cega para distinguir entre as mudanças primárias que impulsionam a progressão da doença e mudanças secundárias que são consequências ou adaptações às primárias. Outros grupos de pesquisa independentes, como Topp et al. [58] e De Gaetano et al. [59], abordaram, em variância com a nossa abordagem, o argumento da regulação da homeostase da glicose do ponto de vista de modelagem de patogênese. Topp et al. [58] por exemplo, investigaram especificamente a ligação entre a massa da célula beta e a função da célula beta por um conjunto de EDOs não lineares, onde a glicose e a dinâmica da insulina é projetada para ser rápida em relação à dinâmica da massa das células beta. Ao contrário, quando comparamos com nosso modelo as estimativas obtidas na condição T2DM para aqueles do estado NGR, era impraticável distinguir se a redução na capacidade secretora (parâmetro b_4 , consulte a Tabela C no [Arquivo S1](#)) refletiu a redução da massa de células beta ou função, ou ambos. É importante notar que, mesmo na ausência de um cálculo matemático pré-especificado e detalhado, descrição da maquinaria da função da célula beta, o valor deste parâmetro não foi imposto com antecedência, mas sim representa uma consequência da análise de estado estacionário aplicada ao equação modelando a concentração de insulina no plasma (Eq (4)), de acordo com o que foi introduzido por Toghiani et al. [9]. Conforme antecipado anteriormente, e de forma semelhante ao caso de outros determinantes-chave da homeostase da glicose, este resultado encorajador pode ser considerado como um indicador aproximado da bondade do modelo, o que deixa o componente de célula beta aberto para outras hierárquicas refinamentos.

Em conclusão, o acoplamento do modelo de nível celular com um modelo de corpo inteiro em malha fechada permitiu avaliar o comportamento dos adipócitos não apenas durante uma refeição, mas em perpétuo modo. A simulação do sistema ao longo de um período de tempo tão longo destacou a reciprocidade reações que ocorrem entre os dois níveis de abstração, ou seja, o órgão e os níveis celular. O modelo forneceu uma descrição dinâmica perfeita dos mecanismos moleculares a jusante do receptor de insulina nos adipócitos, demonstrando assim a utilidade de um método multinível abordagem para a modelagem da homeostase da glicose em escalas celulares e sistêmicas. Quanto a as aplicações potenciais, a arquitetura de modelo aqui proposta é intrinsecamente aberta para integrar camadas suplementares de especificações para componentes individuais. Assim, mais detalhado e versões avançadas do presente modelo poderiam potencialmente ser aplicadas para investigar in silico o efeito de drogas específicas apontando para um ou mais dos constituintes do modelo ou para identificar alvos moleculares atualmente não atendidos passíveis de intervenção farmacológica.

Materiais e métodos

Modelo matemático e framework computacional

O modelo multinível foi definido como um conjunto de equações diferenciais ordinárias (EDOs) [60] implementado no Matlab 2015b. O modelo foi simulado numericamente por meio da ode15s solucionador de ODE de última geração. Uma análise de sensibilidade de última geração dos parâmetros estimados também foi calculado para avaliar a identificabilidade do parâmetro (consulte S1 para obter detalhes).

Valores iniciais e estimativas de parâmetros

Os valores iniciais de todas as variáveis do modelo estão listados na Tabela A no [Arquivo S1](#), tanto para NGR quanto para Condições T2DM. As simulações começam assumindo um estado de jejum matinal, os valores iniciais de as variáveis do modelo foram derivadas da literatura ou obtidas por otimização não linear limitado à variabilidade dos intervalos fisiológicos. Os valores iniciais foram selecionados para encontrar o melhor equilíbrio entre a fisiologia humana e a confiabilidade da dinâmica do modelo para evite descontinuidades ou estados com valores de variáveis irreais, como valores ou valores negativos fora dos intervalos fisiológicos listados na Tabela B no [Arquivo S1](#). No que diz respeito ao celular modelo, a faixa de variabilidade das variáveis do modelo usadas durante a otimização foi inferida in silico: o modelo de Nyman foi simulado de acordo com [26] e foram considerados os valores mínimo e máximo alcançados por cada variável.

As estimativas dos parâmetros foram determinadas seguindo diferentes metodologias. Quando uma referência da literatura estava disponível, as estimativas dos parâmetros eram obtidas diretamente da literatura ou derivadas seguindo o mesmo procedimento indicado no artigo de referência. Parâmetros b_4 , b_5 , b_{12} , b_{13} , b_{17} , b_{27} , c e c_3 foram estimados por meio de análise de estado estacionário, ou seja, por impondo uma condição de estado estacionário no tempo 0 nas equações correspondentes, conforme indicado na literatura. Nos demais casos, os parâmetros foram estimados por otimização não linear constrangida para obter valores dentro das faixas fisiológicas discutidas na literatura. Chá parâmetros restantes b_9 , r , k_{gluc} , q_1 e q_2 foram derivados por otimização irrestrita para obter uma dinâmica de modelo consistente com a fisiologia, ou seja, uma dinâmica sem descontinuidades ou valores variáveis irreais (ou seja, valores negativos ou valores fora das faixas fisiológicas). Para o modelo celular, todos os parâmetros são retirados de [26] e [35], exceto k_{1a} , que foi reestimado dentro da mesma faixa de otimização de [26] para ter o valor mínimo da dinâmica de IRins da Eq (17) consistente com o relatado por Lodish et al. [61] e para preservar os ajustes do modelo introduzidos por Nyman et al. [26] e fornecido nas Figs 5 e 6. Referimo-nos à Tabela C no [Arquivo S1](#) para obter mais informações sobre os procedimentos de estimativa empregados e para uma lista completa de todas as estimativas de parâmetros calculadas para o NGR e T2DM termos.

Dados experimentais

Para ser consistente com os resultados anteriores, o nível celular do modelo que descreve a sinalização da insulina nos adipócitos foi ajustado considerando os mesmos dados experimentais usados no artigo de Nyman et al. [26] (Figs. 5 e 6).

Informações de apoio Arquivo S1.

Descrição complementar do modelo matemático.

(DOCX)

Arquivo S2. Gráficos que fornecem a análise de sensibilidade dos parâmetros estimados para cada variável do modelo de corpo inteiro na condição NGR (ver também [Arquivo S1](#)).

(PDF)

Arquivo S3. Gráficos que fornecem a análise de sensibilidade dos parâmetros estimados para cada variável do modelo de corpo inteiro na condição DM2 (ver também [Arquivo S1](#)).

(PDF)

Contribuições do autor

Conceituação: Cansu Uluseker, Giulia Simoni, Luca Marchetti, Marco Dauriz, Alice Matone, Corrado Priami.

Análise formal: Cansu Uluseker, Giulia Simoni, Luca Marchetti, Corrado Priami.

Aquisição de financiamento: Corrado Priami.

Investigação: Cansu Uluseker, Giulia Simoni, Luca Marchetti, Alice Matone, Corrado Priami.

Metodologia: Cansu Uluseker, Giulia Simoni, Luca Marchetti, Alice Matone, Corrado Priami.

Administração do projeto: Luca Marchetti, Corrado Priami.

Recursos: Corrado Priami.

Software: Cansu Uluseker, Giulia Simoni, Luca Marchetti, Corrado Priami.

Orientação: Luca Marchetti, Alice Matone, Corrado Priami.

Validação: Cansu Uluseker, Giulia Simoni, Luca Marchetti, Marco Dauriz, Alice Matone, Corrado Priami.

Visualização: Cansu Uluseker, Giulia Simoni, Luca Marchetti, Marco Dauriz, Alice Matone, Corrado Priami.

Redação – rascunho original: Cansu Uluseker, Giulia Simoni, Luca Marchetti, Marco Dauriz, Alice Matone, Corrado Priami.

Redação – revisão e edição: Cansu Uluseker, Giulia Simoni, Luca Marchetti, Marco Dauriz, Alice Matone, Corrado Priami.

Referências

1. Federação Internacional de Diabetes (2006) Atlas de Diabetes terceira edição. 1689-1699 p.
2. IDF Diabetes Atlas Group (2015) Atualização da mortalidade atribuível ao diabetes para o IDF Diabetes Atlas: Estimativas para o ano de 2013. Diabetes Res Clin Pract 109: 461–465. <https://doi.org/10.1016/j.diabetes.2015.05.037> PMID: [26119773](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26119773/)

3. American Diabetes Association (2016) 2. classificação e diagnóstico do diabetes. *Cuidados com Diabetes* 39: S13–S22. <https://doi.org/10.2337/dc16-S005> ID PM : 26696675
4. Groop L, Pociot F (2014) Genética do diabetes – estamos perdendo os genes ou a doença? *Mol Cell Endocrinol* 382: 726–739. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2013.04.002> PMID: 23587769
5. Ajmera I, Swat M, Laibe C, Novère N Le, Chelliah V (2013) O impacto da modelagem matemática na compreensão do diabetes e complicações relacionadas. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 2:e54. <https://doi.org/10.1038/psp.2013.30> PMID: 23842097
6. Palumbo P, Ditlevsen S, Bertuzzi A, De Gaetano A (2013) Modelagem matemática do sistema glicose-insulina: um artigo de revisão. *Math Biosci* 244: 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.mbs.2013.05.006> PMID: 23733079
7. Makroglou A, Li J, Kuang Y (2006) Modelos matemáticos e ferramentas de software para o sistema regulador de glicose-insulina e diabetes: uma visão geral. *Appl Numer Math* 56: 559–573. <https://doi.org/10.1016/j.apnum.2005.04.023>
8. Bergman RN, Ider YZ, Ider YZ, Bowden CR, Cobelli C (1979) Estimativa quantitativa da sensibilidade à insulina. *Am J Physiol* 236: E667–77. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1979.236.6.E667> PMID: 443421 9. Toghaw P, Matone A, Lenbury Y, De Gaetano A (2012) Cirurgia bariátrica e melhora do DM2 mecanismos: um modelo matemático. *Theor Biol Med Model* 9:16. <https://doi.org/10.1186/1742-4682-9-16> PMID: 22587410
10. Celeste R, Ackerman E, Reynolds C, Molnar GD (1978) O papel do glucagon na regulação da glicose no sangue: estudos de modelo. *Bull Math Biol* 40:59–77. PMID: 630152
11. Brubaker PL, Ohayon EL, D'Alessandro LM, Norwich KH (2007) Um modelo matemático do teste oral de tolerância à glicose ilustrando os efeitos das incretinas. *Ann Biomed Eng* 35: 1286–1300. <https://doi.org/10.1007/s10439-007-9274-1> PMID: 17393338
12. Dalla Man C, Caumo A, Basu R, Rizza R, Toffolo G, Cobelli C (2005) Medição do efeito seletivo da insulina na eliminação de glicose a partir do modelo mínimo de teste oral de glicose marcado. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 289: 909–914. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00299.2004> PMID: 15972269
13. Caumo A, Bergman RN, Cobelli C, Raffaele S, Califórnia S (2000) Sensibilidade à insulina de testes de tolerância à refeição em indivíduos normais: um índice de modelo mínimo. *Clin Endocrinol Metab* 85: 4396–4402.
14. Marchetti L, Reali F, Dauriz M, Brangani C, Boselli L, Ceradini G, et al. (2016) Um novo modelo de insulina/glicose após um teste de refeição mista em pacientes com diabetes tipo 1 em terapia com bomba de insulina. *Sci Rep* 6:36029. <https://doi.org/10.1038/srep36029> ID PM : 27824066
15. De Gaetano A, Panunzi S, Matone A, Samson A, Vrbikova J, Bendlova G et al. (2013) OGTT de rotina: um modelo robusto incluindo efeito incretina para identificação precisa da sensibilidade e secreção de insulina em um único indivíduo. *PLoS One* 8: e70875. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070875> PMID: 24009656 16. Dada JO, Mendes P (2011) Modelagem e simulação multiescala em biologia de sistemas. *Integral Biol* 3:86–96. <https://doi.org/10.1039/c0ib00075b> PMID: 21212881
17. Gallenberger M, Zu Castell W, Hense BA, Kuttler C (2012) Dinâmica da concentração de glicose e insulina ligada ao ciclo da célula γ : desenvolvimento e análise de modelos. *Modelo Theor Biol Med* 9:46. <https://doi.org/10.1186/1742-4682-9-46> PMID: 23164557
18. Nyman E, Brannmark C, Palmer R, Brugard J, Nystrom FH, Stralfors P et al. (2011) Uma hierarquia abordagem de modelagem de corpo inteiro elucidada a ligação entre a sinalização de insulina in vitro e a homeostase da glicose in vivo. *J Biol Chem* 286: 26028–26041. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.188987> PMID: 21572040
19. Castiglione F, Tieri P, De Graaf A, Franceschi C, Liò P, Van Ommen B et al. (2013) O surgimento do diabetes tipo 2: proposta de um modelo multiescala. *Protocolo JMIR Res* 2:e44. <https://doi.org/10.2196/resprot.2854> PMID: 24176906
20. Chew YH, Shia YL, Lee CT, Majid FAA, Chua LS, Sarmidi MR et al. (2009) Modelagem da regulação da glicose e vias de sinalização de insulina. *Mol Cell Endocrinol* 303: 13–24. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.01.018> PMID: 19428987
21. Sedaghat AR, Sherman A, Quon MJ (2002) Um modelo matemático das vias metabólicas de sinalização da insulina. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283: E1084–E1101. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00571.2001> PMID: 12376338
22. Dalla Man C, Rizza RA, Cobelli C (2007) Modelo de simulação de refeição do sistema glicose-insulina. *IEEE Trans Biomed Eng* 54: 1740–1749. <https://doi.org/10.1109/TBME.2007.893506> PMID: 17926672
23. Kiselyov VV, Versteyhe S, Gauguin L, De Meyts P (2009) Modelo de oscilador harmônico da ligação e ativação alostérica dos receptores de insulina e IGF1. *Mol Syst Biol* 5: 1–12. <https://doi.org/10.1038/msb.2008.78> PMID: 19225456

24. Herman M, Kahn BB (2006) Transporte e detecção de glicose na manutenção da homeostase da glicose e harmonia metabólica. *J Clin Invest* 116: 1767-1775. <https://doi.org/10.1172/JCI29027> ID PM : 16823474
25. Kershaw EE, Flier JS (2004) O tecido adiposo como órgão endócrino. *Clin Endoc Meta* 89: 2548-2556. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0395> ID PM : 15181022
26. Nyman E, Rajan MR, Fagerholm S, Brannmark C, Cedersund G, Stralfors P (2014) Um único mecanismo pode explicar a resistência à insulina em toda a rede em adipócitos de pacientes obesos com diabetes tipo 2. *J Biol Chem* 289: 33215-33230. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.608927> PMID: 25320095
27. Gromada J, Franklin I, Wollheim CB (2007) Células β do pâncreas endócrino: 35 anos de pesquisa, mas o enigma permanece. *Endocr Rev* 28:84-116. <https://doi.org/10.1210/er.2006-0007> PMID: 17261637 28. Taborsky GJ (2010) A fisiologia do glucagon. *J diabetes Sci Technol* 4: 1338-1344. <https://doi.org/10.1177/193229681000400607> _ PMID: 21129328
29. Sulston KW, Irlanda WP, Praught JC (2006) Efeitos hormonais na regulação da glicose. *Atlântico* 1: 31-46.
30. Gerich JE (2000) Fisiologia da homeostase da glicose. *Diabetes, Obes Metab* 2: 345-350. <https://doi.org/10.1046/j.1463-1326.2000.00085.x> 31. Lozada S (2010) Regulação da glicose no diabetes. *Atual NYU*.
32. Jacquier M, Crauste F, Soulage CO, Soula HA (2014) Um modelo preditivo da dinâmica do corpo peso e ingestão alimentar em ratos submetidos a restrições calóricas. *PLoS One* 9: e100073. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100073> _ PMID: 24932616
33. Sakata I, Sakai T (2010) células de grelina no trato gastrointestinal. *Int J Pept* 2010: 1–7. <https://doi.org/10.1155/2010/945056> _ ID PM : 20798855
34. Toghaw P, Lenbury Y (2013) O modelo de glicose-insulina-incretina para cirurgia bariátrica e mecanismos de melhora do DM2 com dois atrasos. *Int J Math Computing Simul* 7: 439–447.
35. Brannmark C, Nyman E, Fagerholm S, Bergenholm L, Ekstrand EM, Cedersund G, et al. (2013) Sinalização de insulina no diabetes tipo 2: análises experimentais e de modelagem revelam mecanismos de resistência à insulina em adipócitos humanos. *J Biol Chem* 288: 9867-9880. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.432062> PMID: 23400783
36. Poretsky L (2010) Homeostase normal da glicose. *Princípios do diabetes mellitus 2ª edição*. Nova york, EUA: Springer. p.p. 1-887. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-09841-8>
37. Pratt AC, AD Wattis J, Salter AM (2015) Modelagem matemática do metabolismo lipídico hepático. *Math Biosci* 262: 167-181. <https://doi.org/10.1016/j.mbs.2014.12.012> ID PM : 25645182 38. Mueller WM, Gregoire FM, Stanhope KL, Mobbs CV, Mizuno TM, Warden CH et al. (1998) Evidência que o metabolismo da glicose regula a secreção de leptina de adipócitos de rato cultivados. 139. <https://doi.org/10.1210/en.139.2.551>
39. Levy JR, Gyarmati J, Lesko JM, Adler RA, Stevens W (2000) Dupla regulação da secreção de leptina: energia intracelular e dependência de cálcio da via regulada. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 278: E892-901. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.2000.278.5.E892> PMID: 10780946 40. Grasman J (2013) Reconstrução do impulso subjacente à ingestão de alimentos e seu controle pela leptina e dieta eng. *PLoS One* 8: e74997. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074997> ID PM : 24086420
41. Tam J, Fukumura D, Jain RK (2009) Um modelo matemático de regulação metabólica murina pela leptina: balanço energético e defesa de um peso corporal estável. *Célula Metab* 9: 52-63. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.11.005> PMID: 19117546
42. Golden PL, Maccagnan TJ, Pardridge WM (1997) Receptor de leptina da barreira hemato-encefálica humana. Vinculativo e endocitose em microvasos isolados do cérebro humano. *J Clin Invest* 99: 14–18. <https://doi.org/10.1172/JCI119125> _ PMID: 9011568
43. Stockhorst U, De Fries D, Steingrueber HJ, Scherbaum WA (2004) Insulina e o SNC: Efeitos sobre a ingestão de alimentos, memória e parâmetros endócrinos e o papel da administração intranasal de insulina em humanos. *Fisiol Comportamento* 83: 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.07.022> ID PM : 15501490 44. Porte D, Woods SC (1981) Regulamento da ingestão de alimentos e peso corporal pela insulina. *Diabetes* 20: 274–280.
45. Gruetter R, Ugurbil K, Seaquist ER (1998) Concentrações de glicose cerebral em estado estacionário e transporte no cérebro humano. *J Neurochem* 70: 397-408. PMID: 9422387
46. Cummings DE (2001) Um aumento pré-prandial nos níveis plasmáticos de grelina sugere um papel no início da refeição em humanos. *Diabetes* 50: 1714-1719. PMID: 11473029
47. Tschoöp M, Wawarta R, Riepl RL, Friedrich S, Bidlingmaier M, et al. (2001) Diminuição pós-prandial de circulação os níveis de grelina humana. *J Endocrinol Invest* 24: 19–21.
48. Tschoöp M, Smiley DL, Heiman ML (2000) A grelina induz adiposidade em roedores. *Natureza* 407: 908-913. <https://doi.org/10.1038/35038090> PMID: 11057670

49. Barazzoni R (2014) Grelina e secreção de insulina em humanos: não um conto de dois hormônios? *Diabetes* 63: 2213-2215. <https://doi.org/10.2337/db14-0407> ID PM : 24962920
50. Jequier E, Tappy L (1999) Regulação do peso corporal em humanos. *Physiol Rev* 79: 451-480. <https://doi.org/10.1152/physrev.1999.79.2.451> PMID: 10221987
51. Banks WA, Kastin AJ, Huang W, Jaspan JB, Maness LM (1996) A leptina entra no cérebro por um sistema saturável independente da insulina. *Peptídeos* 17: 305-311. [https://doi.org/10.1016/0196-9781\(96\)00025-3](https://doi.org/10.1016/0196-9781(96)00025-3) PMID: 8801538
52. Friedman JM, Halaas JL (1998) Leptina e a regulação do peso corporal em mamíferos. *Natureza* 395: 763-770. <https://doi.org/10.1038/27376> PMID: 9796811
53. Scarpace PJ, Zhang Y (2009) Resistência à leptina: um fator predisponente para a obesidade induzida por dieta. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 296: R493-R500. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.90669.2008> PMID: 19091915
54. Kang H, Han K, Choi M (2012) Modelo matemático para regulação da glicose no sistema de corpo inteiro. *Ilhotas* 4: 84-93. <https://doi.org/10.4161/isl.19505> PMID: 22614448
55. Nussey SS, Whitehead SA (2001) *Endocrinologia: uma abordagem integrada Capítulo 2—O sistema endócrino pâncreas*. BIOS Sci Publ: 23–70.
56. D'alessio D (2011) O papel da secreção desregulada de glucagon no diabetes tipo 2. *Diabetes, Obes Metab* 13: 126-132. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2011.01449.x> ID PM : 21824266
57. Pattaranit R, van den Berg HA (2008) Modelos matemáticos de homeostase energética. *Interface JR Soc* 5: 1119-1135. <https://doi.org/10.1098/rsif.2008.0216> PMID: 18611843
58. Topp B, Promislow K, Devries G, Finegood DTF (2000) Um modelo de massa de células β , insulina e cinética da glicose: caminhos para o diabetes. *J Theor Biol* 206: 605-619. <https://doi.org/10.1006/jtbi.2000.2150> PMID: 11013117
59. De Gaetano A, Hardy T, Beck B, Abu-raddad E, Palumbo P, Bue-Valleskey J, et al. (2008) Matemática modelos cal de progressão do diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 295: E1462-1479. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90444.2008> PMID: 18780774
60. Marchetti L, Priami C, Thanh VH (2017) *Algoritmos de Simulação para Biologia de Sistemas Computacionais*. Cham: Springer International Publishing.
61. Lodish H, Berk A, Kaiser CA, Krieger M (2007) *Biologia celular molecular* 6ª edição.
62. Gostner R, Baldacci B, Morine MJ, Priami C (2014) Ferramentas de modelagem gráfica para biologia de sistemas. *MCA Calcular Surv* 47: 1–21. <https://doi.org/10.1145/2633461>