



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

POSGRADO EN CIENCIAS FÍSICAS

Modelos dinámicos continuos para la red de
regulación genética del nicho de células troncales
del meristemo apical de raíz de *Arabidopsis*
thaliana

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS (FÍSICA)

PRESENTA:

Iliusi Donaji Vega del Valle

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Carlos Villarreal Luján

MIEMBRO DE COMITÉ TUTORAL: Dra. M. Elena Álvarez-Buylla Roces

MIEMBRO DE COMITÉ TUTORAL: Dr. Germinal Cocho Gil





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos

A mi mamá. Por aguantar el miedo y la angustia mil veces con tal de verme feliz. Por tu confianza en el futuro, tu amor y tu esperanza inagotable.

A Prócoro. Por creer en mí aunque no le encuentres sentido a mis deseos. Por ponerme el espejo enfrente de vez en cuando y señalarme las consecuencias de mis actos. Por las discusiones sin fin.

A Vale. Por ser una mujer valiente; es un honor ser tu hermana menor. Gracias por darme la oportunidad de ser tía y por quererme tanto.

A Elena Álvarez Buylla, Eugenio y Mariana, porque con ustedes tuve una familia académica, con su generosidad al compartir conocimiento y su amor por aprender; gracias por generarme tantas preguntas y por tenerme confianza y paciencia.

A Carlos Villarreal y Germinal Cocho, por tenerme confianza y emocionarse junto conmigo en este proyecto, que ha devuelto las sonrisas a mis horas de estudio.

A Adriana Garay, Octavio Miramontes, Luis Benet y Max Aldana, por las muy acertadas correcciones, peticiones y comentarios. Sin ustedes yo no sentiría la confianza que ahora tengo en este trabajo.

Al PCF, porque gracias a su comprensión y orientación, ahora estoy en mi camino. Especiales gracias a Yanalté por aguantar mi torpeza en todo lo referente a los trámites.

A CONACYT, porque sin su apoyo yo no hubiera logrado esta etapa tan importante en mi vida, tanto en lo académico como en lo personal.

A la UNAM. Porque esta casa no solo significa un espacio de libertad, conocimiento y la forma más digna de poder vivir haciendo lo que uno ama, sino porque gracias a ella ha habido techo, comida y cultura en mi casa desde que tengo memoria.

A la familia Del Valle, por estar loca y enseñarme que cuando el mundo se pone negro lo mejor es hacer fiesta, para cambiar el llanto por las risas. En especial a mi abuelo, que me enseñó que la vida es para ser feliz y que tiene sentido por la gente que uno ama.

A Tetté, Sarya, Anaya, Marujita y Lilis. Gracias por el montón de cariño, su valentía y convicciones, por enseñarme el mundo a través de sus hermosos ojos y por aguantar mi mal humor, mis enojos, mis abandonos y aún así hacerme sentir parte de su vida en todo momento.

A Jesús, Hugo, Kimba, Compa, Chango, Bianca, Ale, Claus, Arturo, Abraham, Chepi, Mago, Nini y demás Miaus. Porque me abrieron su corazón sin dudarlos y me dejaron entrar a hacer relajo. Se han convertido en mis hermanos. A todos los tengo para siempre en mi corazón y los quiero

entrañablemente.

A Monse, Pedro, Fa, Eran, Nono, Grisel, Osvaldo, Rocío, Arturo, Josué, Jorge y todos los demás amigos de la fac. Gracias a ustedes la UNAM se convirtió en mi segunda casa, porque con cada uno pude tejer una historia diferente. Por enseñarme de fuerza de voluntad y cariño.

A León, Rafa, Diego, Emiliano, Jorgito, Sandra, Beba y Pez, por conocernos bajo el agua, en azul, en silencio y después haber irrumpido con tanto color y fuerza en el exterior.

A Anne. Gracias por poner el espejo y quitar las sombras de mis ojos en un momento crucial.

A toda la gente que ahora no nombro y que ha jugado un papel importante en mi vida, convirtiéndome en la persona feliz y llena de cariño que soy en este momento.

Contenidos

Índice de figuras	v
Introducción	1
1. Sistemas Dinámicos	3
1.1. Sistemas lineales	5
2. Sistema biológico	6
2.1. Regulación genética	7
2.1.1. Transcripción	8
2.1.2. Traducción	9
2.2. Formación de patrones y estructuras en plantas	10
2.3. Meristemos de <i>Arabidopsis thaliana</i>	12
3. Redes	15
3.1. Análisis matricial de redes	17
3.2. Centralidad	18
3.3. Homogeneidad	19
3.4. Redes Booleanas	19
3.5. Inferencia	21
3.6. Uso de Reglas lógicas y Tablas de verdad	21
4. Elementos reguladores del NCT del MAR	23
4.1. Evidencia experimental	23
4.2. Tipos celulares esperados	26
5. Formulación inicial	28
5.1. Tablas de verdad	28
5.2. RRG	31
5.3. Antecedentes: Resultados del modelo Booleano inicial	31
6. Modelos continuos	32
6.1. Formulación de un modelo continuo	32

6.2. Exponentes de Lyapunov	33
6.2.1. Tiempos de evolución	33
6.2.2. Estabilidad del sistema	34
6.3. Ecuaciones de evolución para el sistema	34
6.4. Programa de evolución	34
6.5. Resultados del modelo continuo inicial	35
6.6. Cuatro modelos	36
7. Resultados	40
7.1. Tiempos de iteración	40
7.2. Comportamiento de cada modelo	41
7.3. Atractores	41
7.4. Análisis lineal del sistema	44
7.5. Análisis topológico de las RRGs	45
7.5.1. Modelos 1 y 2	46
7.5.2. Modelos 3 y 4	49
7.6. Sensibilidad de resultados al parámetro “h”	53
7.7. Gráficas de evolución	53
8. Conclusiones	58
Apéndice A. Principios biológicos	60
ADN y ARN	60
Mutaciones	61
Apéndice B. Entradas de las matrices Jacobianas	61
Modelos 1 y 2	62
Modelos 1 y 2	63
Glosario	64
Bibliografía	67

Índice de figuras

2 <i>Arabidopsis thaliana</i>	6
2.1 Estructura axial de la raíz de <i>Arabidopsis thaliana</i>	11
2.2 Estructura radial de la raíz de <i>Arabidopsis thaliana</i> a la altura de la zona de maduración	12
2.3 Meristemos MAVA (A) y MAR (B) de <i>Arabidopsis thaliana</i>	12
2.4 Estructura del vástago aéreo de <i>Arabidopsis thaliana</i>	13
2.5 Estructura del meristemo MAR de <i>Arabidopsis thaliana</i>	13
3.1 Estructuras de redes: a) cadena, b) ciclo	15
3.2 Redes dirigidas: a) inhibición, b) activación, c) retroalimentación positiva o <i>loop</i>	16
3.3 Red seccionada en cuatro cúmulos	17
3.4 Red que modela el ejemplo	21
4.1 Raíces modificadas de <i>Arabidopsis thaliana</i> debido a mutaciones simples y dobles de <i>SCR</i>	24
4.2 Expresión de <i>JKD</i> en tipo silvestre	25
4.3 Expresión de mRNA de <i>WOX5</i> en el QC, tipo silvestre	25
5.1 RRG para el modelo inicial	31
6.1 Gráficas para la selección del parámetro “h”	35
6.2 RRGs. Cada modelo está etiquetado con su número asignado	39
7.1 RRG reducida para los modelos 1 y 2	47
7.2 Cúmulos formados para las RRG de los modelos 1 y 2	47
7.3 Cúmulos formados para las RRG de los modelos 3 y 4	50
7.4 RRG reducida para los modelos 3 y 4	51
7.5 Gráficas de evolución para algunas condiciones iniciales aleatorias en el Modelo 1	54
7.6 Gráficas de evolución para algunas condiciones iniciales aleatorias en el Modelo 2	55
7.7 Gráficas de evolución para algunas condiciones iniciales aleatorias en el Modelo 3	56
7.8 Gráficas de evolución para algunas condiciones iniciales aleatorias en el Modelo 4	57

Introducción

Arabidopsis thaliana es uno de los sistemas más simples a nivel genético y molecular con los que se puede trabajar en plantas. Cuenta con un nicho de células troncales o NCT en el extremo apical de la raíz primaria o MAR (Meristemo Apical de Raíz), y otro en el ápice del tallo o MAVA (Meristemo Apical del Vástago Aéreo). El NCT de la raíz se divide en varias estructuras: el Centro Quiescente (CQ), formado por cuatro células que raramente se dividen, y las células iniciales que rodean al CQ. Estas últimas son las progenitoras de los distintos tejidos de la raíz y se diferencian en: epidermis, córtex, columnela, cofia lateral, endodermis y estele.

Experimentalmente se han descubierto diferentes componentes genéticos, proteínas y hormonas, que mantienen el NCT y los patrones radial y longitudinal de la raíz. El estudio de sus interacciones define la dinámica molecular del NCT y permite conocer los mecanismos de diferenciación celular. Su importancia radica en la similitud con la estructura y la dinámica de las redes genéticas que subyacen el mantenimiento de las células troncales animales, fundamentales para numerosas investigaciones médicas, por ejemplo en cáncer.

En los sitios donde se mantiene el NCT actúan hormonas, proteínas y genes en diferentes estados de activación, que forman lo que se conoce como una red regulatoria genética (RRG), donde cada elemento corresponde a un nodo en la red y se relaciona con otro de forma activadora o inhibitoria, definiendo las aristas de la red. Las interacciones y elementos de la RRG que recuperan las configuraciones genéticas (o combinaciones de estados de activación de los elementos de la RRG) de los diferentes tipos celulares del NCT, aún no están bien determinadas. La generación de modelos dinámicos puede servir para sugerir estructuras: nodos y aristas, de la red que regula al NCT y dar pie a posteriores experimentos que confirmen las nuevas hipótesis.

Partiendo de la hipótesis de Kauffman en 1969 (ver referencia [38]), que postuló que las configuraciones de las redes multigénicas celulares podían representar diferentes tipos celulares, en este trabajo se formularon cuatro modelos dinámicos con diferentes configuraciones de RRG y se les hizo evolucionar en búsqueda de configuraciones genéticas estacionarias asociadas, o atractores, y se analizó la robustez y estabilidad de estas RRG.

Como antecedente a este trabajo, se encuentran los modelos realizados por Azpeitia *et al.* (en prensa, [12]), donde los elementos o nodos de la red se consideraron variables Booleanas, que pueden tener un estado activado (correspondiente al valor 1) o no activado (con valor 0). Asumir los nodos como Booleanos es válido ya que el comportamiento de su tasa de activación en los procesos regulatorios y de transcripción genética corresponde a una sigmoide con una pendiente muy pronunciada entre los valores 0 y 1. La dinámica del sistema fue discreta y cada arista fue representada por una función Booleana; las interacciones entre nodos fue determinada por tablas de verdad, construidas con datos experimentales obtenidos a partir de una exhaustiva revisión

bibliográfica de estudios de genética molecular del desarrollo de raíz de *Arabidopsis thaliana*.

Tanto en los modelos discretos como en los modelos continuos de este trabajo, los cuatro diferentes modelos dinámicos del nicho de MAR consideraron los genes *SHORT ROOT (SHR)*, *SCARECROW (SCR)*, *MAGPIE (MGP)*, *PLETHORA (PLT)*, *JACKDAW (JKD)*, *Aux/IAA* (auxina/ácido acético-indole-3), *WUSCHEL RELATED HOMEBOX 5 (WOX5)* y genes tipo *CLE (CLEX)*, la hormona Auxina y los factores de respuesta a auxinas (ARF). Los cuatro modelos planteados difieren en la inclusión de *CLEX*, y en la interacción de *SCR* con *SHR*, *JKD* y *MGP*. Estos componentes fueron elegidos en base a la búsqueda bibliográfica, donde se distinguieron dos rutas principales de regulación: la vía *SHR/SCR* y la vía *PLT/Auxinas*. Si bien algunos genes y hormonas han sido investigados dentro de los mecanismos de regulación del NCT de MAVA y MAR, no todos fueron incluidos en los modelos realizados, debido a dificultades en su ubicación dentro de la red o por falta de datos experimentales (un ejemplo de esto fueron los genes *PIN*).

Para probar si los resultados dependen del supuesto Booleano y dado que la forma real en que los genes, proteínas y hormonas se activan puede no ser estrictamente Booleana, se pasó de la dinámica discreta a una continua, que permite además observar fenómenos como difusión. La hipótesis de este trabajo es que la aproximación continua al sistema discreto recupera las mismas configuraciones estacionarias, probando que las RRG propuestas son robustas.

Para modelar la dinámica continua se partió de un sistema de ecuaciones diferenciales acopladas creado por L. Mendoza e I. Xenarios (2006), donde el nivel de activación describe una función sigmoide que toma valores entre cero y uno. Adicionalmente se hizo la suposición de que el lapso de activación era igual para todas las variables, dado que no existe información experimental al respecto. Como dichas ecuaciones son altamente no-lineales, su evolución temporal se encontró de forma numérica. Igualmente, para conocer la estabilidad, se hizo un análisis lineal, donde se encontraron y clasificaron los eigenvalores de cada modelo.

La metodología para la evolución, consiste en dar un gran número de condiciones iniciales, aleatorias y con diferentes valores de activación entre cero y uno, para el sistema de ecuaciones diferenciales acopladas, hacerlas evolucionar por integración RK4 (Runge-Kutta de cuarto orden) y con ello obtener los estados estacionarios del sistema que se espera que estén relacionados con los diferentes tipos celulares de la raíz.

Como resultado de las simulaciones se encontró que tanto la dinámica discreta como la continua llegan a los mismos estados estacionarios, compatibles con las configuraciones estables de los tipos celulares reportados experimentalmente en el NCT del MAR.

Sin embargo, estas redes no son concluyentes, pues falta incluir algunos grupos de genes u hormonas, y por lo tanto aún no se recuperan algunos datos experimentales reportados sobre el fenotipo. Al comparar las diferentes RRG, se logran hacer algunas predicciones sobre nuevas interacciones y elementos. Esto, a su vez, permite detectar contradicciones o interpretaciones problemáticas de los datos experimentales publicados.

Capítulo 1

Sistemas Dinámicos

Una de las cualidades de los sistemas biológicos, que los hace tan difíciles de estudiar, es la presencia de un gran número de variables en interacción, donde cada variable puede ser un sistema en sí mismo; otra cualidad común es su comportamiento no lineal. Es por eso que el estudio de sistemas biológicos por medio de métodos matemáticos, como los sistemas dinámicos, ha tomado fuerza a partir de la segunda mitad del siglo XX, aprovechando los avances en el desarrollo computacional. Entre los pioneros en este tipo de estudios se encuentran matemáticos como Lotka, Volterra, Derrida y Poincaré, quienes volcaron su atención a fenómenos como el crecimiento poblacional y las redes tróficas.

Los modelos dinámicos se forman con un conjunto de elementos o variables, relacionados por medio de funciones que describen sus dependencias e interacciones, y un conjunto de condiciones iniciales.

Para formular un buen modelo se requiere de gran cantidad de evidencia experimental; cuando esta evidencia es pobre, el modelo debe restringirse a sistemas pequeños. Cuando el número de componentes del sistema es pequeño, se pueden usar métodos de optimización para estimar los parámetros que mejor se ajustan a la dinámica observada.

Un modelo bien fundamentado con datos experimentales, permite localizar cambios en el sistema ante pequeñas perturbaciones, variables acopladas y las condiciones en que la dinámica de las variables son cualitativamente similares.

Idealmente, un buen modelo tiene un bajo nivel de incertidumbre en las interacciones, ecuaciones y parámetros utilizados; es aplicable a gran cantidad de sistemas, robusto ante pequeños cambios en los parámetros y suposiciones; relativamente sencillo en su construcción; y es capaz de brindar gran cantidad de conocimiento y predicciones suficientemente precisas.

Los modelos se suelen clasificar en continuos o discretos, y deterministas o estocásticos. La primera clasificación se refiere al nivel de detalle en la representación del estado del nodo, mientras que la segunda indica si las funciones de interacción tienen incertidumbre o variabilidad estocástica. Los modelos híbridos combinan descripciones discretas y continuas. De igual manera, el sistema a modelar puede mostrar dependencia temporal, espacial o espacio-temporal. La aleatoriedad de los procesos biológicos suele agregarse como términos estocásticos en las ecuaciones diferenciales que los modelan.

Ya que la variabilidad y el ruido son persistentes en los sistemas biológicos, los modelos continuos

y estocásticos son los que muestran más precisión al describir el sistema, aunque también requieren más información de entrada. Los modelos continuos deterministas se suelen utilizar cuando el número de elementos del sistema es muy grande o cuando el ruido es casi cero y permiten un análisis de bifurcación en donde la dinámica del sistema cambia en función de varios parámetros. Los modelos discretos deterministas muestran un gran nivel de abstracción al clasificar los estados de los nodos en pocas categorías de expresión o actividad, requieren información poco detallada de entrada y pueden construirse en casos donde el gran número de incógnitas hace que los modelos continuos sean impracticables o imposibles, pero sus predicciones son muy generales y menos cuantitativas que las de los sistemas continuos.

Una vez incluida toda la información sobre las interacciones y las configuraciones iniciales, el modelo dará como resultado la evolución temporal de las configuraciones del sistema. El número y tipo de configuraciones finales en un sistema dinámico, son los atractores. Para encontrarlos, se deja evolucionar el sistema de ecuaciones diferenciales que describen al sistema biológico, en el límite en el que el tiempo de evolución es infinito, de modo que las configuraciones llegan a lo que se conoce como un estado estacionario. Formalmente, los estados estacionarios cumplen con la expresión: $x_{t+1} = x_t$.

Por su estructura, es posible modelar a los sistemas biológicos por medio de redes. Al modelar tejidos, los atractores de las redes regulatorias genéticas involucradas corresponden a distintas configuraciones celulares (Kauffman, 1969).

La solución a una ecuación no-lineal puede aproximarse al estado estacionario de forma monotónica o alternante. La solución también puede mostrar comportamiento periódico, cuando tiene ciclos; o aperiódico, cuando oscila de forma no periodica sino caótica. El caos se define como una dinámica aperiódica dentro de un sistema determinístico que es sensible a condiciones iniciales.

En ecuaciones de diferencias finitas, los estados estacionarios están asociados con el concepto de punto fijo. Matemáticamente, se dice que una función $f(x_t)$ tiene un punto fijo cuando existe un valor x_t^* que satisface:

$$x_t^* = f(x_t^*) \quad (1.1)$$

Cuando se parte de una condición inicial suficientemente cercana a un punto fijo y las iteraciones conducen a éste, se dice que el punto fijo es localmente estable. Cuando las iteraciones conducen al punto fijo sin importar la condición inicial, se dice que es globalmente estable. El conjunto de condiciones iniciales que llevan a un punto fijo se conocen como el pozo de atracción.

Para poder conocer el tipo de estabilidad de un punto fijo en una ecuación de diferencias finitas de una variable, se debe:

- 1) resolver: $x_t = f(x_t)$,
- 2) calcular la tasa m de $f(x_t)$ al evaluar en el punto fijo x^* : $m = \left. \frac{df}{dx_t} \right|_{x_t=x^*}$,
- 3) determinar la estabilidad de acuerdo al valor de m : si $-1 < m < 1$, el punto fijo es estable, si $m > 1$ o $m < -1$, es inestable.

Numéricamente, el punto fijo se puede encontrar al analizar el comportamiento asintótico (cuando el tiempo tiende al infinito) de un gran número de condiciones iniciales. Si las iteraciones convergen a un valor fijo, éste será el punto fijo. La dificultad con este tipo de estudios es que las ecuaciones podrían tener puntos fijos inestables y no los encontraríamos a menos de que la condición inicial escogida fuera precisamente el estado del punto fijo. Para encontrar este tipo de puntos fijos inestables, es mejor utilizar el método descrito anteriormente.

En algunos sistemas, la función biológica puede estar limitada a un número finito de valores, por lo que es mejor representarlos de forma discreta. Así pues, si la variable I_u toma n valores, entonces $I_u = \{u_1, \dots, u_n\}$.

Si el sistema estudiado es espacialmente homogéneo, de modo que nos podemos olvidar de las diferentes variables espaciales y ocuparnos únicamente de la temporal, las ecuaciones de evolución serán diferenciales ordinarias. Si el sistema estudiado tiene dependencia espacio-temporal, las ecuaciones de evolución serán integro-diferenciales o derivadas parciales.

1.1 Sistemas lineales

Los sistemas de ecuaciones que se forman para describir el comportamiento de un sistema biológico, suelen ser no-lineales y de múltiples variables, por lo que su análisis intuitivo es difícil. Como una aproximación para entender el comportamiento dinámico, se puede linealizar el sistema y así obtener información sobre la clasificación de sus puntos fijos, al calcular los eigenvalores $\{\lambda\}$.

Si escribimos las ecuaciones de evolución del sistema de la siguiente manera:

$$\frac{d\bar{x}}{dt} = \bar{f}(\bar{x}, t) \quad (1.2)$$

Podemos obtener la matriz Jacobiana evaluada en los puntos fijos y a partir de ésta, obtener los eigenvalores del sistema.

La matriz Jacobiana se forma de la siguiente manera:

$$J = \begin{pmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_1} & \frac{\partial f_1}{\partial x_2} & \cdots & \frac{\partial f_1}{\partial x_m} \\ \frac{\partial f_2}{\partial x_1} & \frac{\partial f_2}{\partial x_2} & \cdots & \frac{\partial f_2}{\partial x_m} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_m}{\partial x_1} & \frac{\partial f_m}{\partial x_2} & \cdots & \frac{\partial f_m}{\partial x_m} \end{pmatrix} \quad (1.3)$$

Y los eigenvalores se obtienen al resolver $\det(J - \lambda I) = 0$, donde J es la matriz Jacobiana e I la matriz identidad¹.

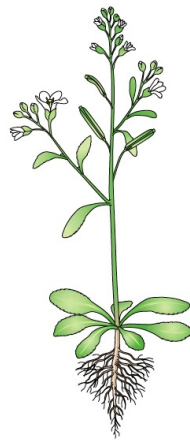
La clasificación de eigenvalores se muestra en la siguiente tabla:

Todos los $\lambda \in \mathbb{R}$	> 0	\implies	Fuente
Todos los $\lambda \in \mathbb{R}$	< 0	\implies	Sumidero
$\lambda \in \mathbb{R}$, algunos	> 0 y otros < 0	\implies	Punto silla
$\lambda \in \mathbb{S}$, $Re\lambda$	> 0	\implies	Fuente espiral
$\lambda \in \mathbb{S}$, $Re\lambda$	< 0	\implies	Sumidero espiral
$\lambda \in \mathbb{S}$, $Re\lambda$	$= 0$	\implies	Centro

¹Para una explicación sobre el procedimiento de linealización y cómo obtener los eigenvalores de un sistema, ver "Introduction to linear algebra" de Lang [3].

Capítulo 2

Sistema biológico



Arabidopsis thaliana (tomada de Zeiger y Taiz, 2006).

El nacimiento de la biología de sistemas¹ tiene como referencia estudios como los realizados en 1948 por Clausen, sobre variabilidad en plantas, o en 1956 por Williams, sobre la variabilidad en mamíferos. Ambos estudios mostraban que el promedio individual o media estadística no era una realidad biológica, sino que cada individuo en una población silvestre mostraba respuestas diferentes ante perturbaciones ambientales.

A estas ideas se añadió la propuesta, a mediados del siglo XX, de que el ADN transportaba la información genética de los organismos vivos (A. D. Hershey y M. Chase, 1952). Esto puso en marcha las investigaciones sobre la estructura del ADN y los mecanismos que le permitían, a dicha secuencia de bases nitrogenadas, formar las secuencias de aminoácidos en las proteínas. Dentro de estos mecanismos encontramos a los denominados procesos de regulación genética, que son el objetivo central de los modelos realizados para este trabajo.

La carrera por el descubrimiento del genoma de diversas especies se disparó en 1976 con una serie de artículos de W. Fiers que secuenciaban el primer genoma completo: del ARN virus del bacteriófago MS2 (Fiers), y gracias al desarrollo y optimización de la técnica experimental de *shotgun*, donde el genoma se rompe en múltiples piezas que posteriormente se combinan. Así pues, en el año 2000 se

¹Ver glosario

presentó el primer genoma completo de una planta: *Arabidopsis thaliana*, gracias al proyecto AGI (Iniciativa para el Genoma de *Arabidopsis*, [62]).

Ya que las plantas, a diferencia de los animales, mantienen el proceso de crecimiento a lo largo de todo el ciclo de vida, se convirtieron en un importante sujeto de estudio. *Arabidopsis thaliana* es una angiosperma dicotiledónea (figura 2), cuyo atractivo en la investigación se encuentra en ser el sistema más simple a nivel genético y molecular con el que se puede trabajar en plantas. A pesar de no tener usos comerciales, *A. thaliana* es una de las plantas más investigadas debido a su pequeño tamaño, la posibilidad de crear muchos mutantes, tener un genoma reducido y sencillo que permite clonarlo fácilmente, y la posibilidad de insertarle genes ajenos para crear transgénicos.

2.1 Regulación genética

Algunas células animales y vegetales pueden originar varios tipos celulares y reciben el nombre de totipotenciales. En humanos, las células troncales (SC o *stem cells*) cumplen funciones principalmente durante el desarrollo embrionario y después pueden localizarse sólo en algunos sitios específicos, donde siguen una sola ruta de diferenciación para formar células de ciertos tipos. En el reino vegetal, la diferenciación de algunas células no cesa y las rutas de diferenciación están dadas en torno a nichos de células troncales localizadas en los meristemos.

Cada tipo de célula diferenciada produce un conjunto de proteínas específico bajo el principio de equivalencia nuclear, que enuncia que los núcleos de todas las células adultas contienen la misma información genética pero expresada de forma distinta, ocasionando variaciones metabólicas. Mientras que algunas enzimas son necesarias para todos los tipos de células y son sintetizadas generalmente por genes que se transcriben constantemente (o genes constitutivos), algunas otras sólo son necesarias en algunos tipos celulares, por lo que se duplican de forma selectiva. Algunos genes de acción tardía, llamados genes homeóticos, especifican los tipos de tejidos y el plan corporal del organismo. La existencia de genes homeóticos en plantas sugiere que éstos tienen un origen muy antiguo, e incluso podrían ser los generadores de la multicelularidad.

Los diferentes tipos celulares en eucariotas se generan, en mayor medida, por diferencias en la expresión de genes que codifican proteínas. Los diferentes niveles de expresión genética son ocasionados por los mecanismos de regulación genética, que pueden ocurrir en diferentes momentos: la activación de la estructura génica, iniciación de la transcripción, procesamiento del transcrito, transporte al citoplasma o translación de ARNm.

Los factores ambientales como las horas de luz en el día, la cantidad de lluvia, el tipo de suelo, la temperatura y las hormonas, también deben incluirse en el proceso de expresión del fenotipo, crecimiento y desarrollo de las plantas. La producción hormonal se controla genética y ambientalmente. En las plantas, cada hormona cuenta con gran cantidad de funciones, contrario a lo que ocurre en animales; hay superposición de efectos, por lo que cada respuesta es atribuible a la acción integrada de un conjunto de hormonas y dependiendo de la cantidad en que se encuentren, tienen acción inhibitoria o activadora. Algunos tipos de hormonas vegetales son las auxinas, citocininas, giberelinas, etileno y ácido abscísico. Otras sustancias que intervienen en el desarrollo y crecimiento son las poliaminas, polipéptidos, oligosacáridos y ácido salicílico.

Los procesos que controlan el nivel de expresión de genes en cada tipo de célula diferenciada, dependen de señales provenientes de la célula y su entorno, que interactúan con ADN, ARN y

proteínas. La regulación actúa de forma diferente sobre los genes dependiendo de las necesidades metabólicas de cada tipo celular, alterando la cantidad y velocidad de transcripción y traducción de ARNm, así como la actividad de las proteínas producidas.

Transcripción y traducción son muy parecidas en eucariotas y procariotas, pero presentan algunas diferencias debido a que en las primeras el DNA se organiza en cromosomas y se confina al núcleo. La modificación más importante en eucariotas es la presencia de secuencias codificadoras interrumpidas en muchos genes, es decir largas secuencias de bases que no codifican aminoácidos en la proteína final. Las regiones no codificadoras reciben el nombre de intrones y las que sí codifican o se expresan, se llaman exones.

2.1.1 Transcripción

La primera fase para la expresión de genes es el proceso de transcripción, en el cual la información contenida en el ADN, se copia en ARNm (o ARN mensajero), que contiene la información en tripletes de bases nitrogenadas consecutivas, llamados codones, y que será transportado del núcleo al citoplasma.

Esta se inicia cuando la ARN polimerasa reconoce una secuencia de bases nitrogenadas promotora al inicio de un gen y se termina con el reconocimiento de otra secuencia de bases específicas, que detiene la lectura de la ARN polimerasa. Esta etapa es controlada por proteínas que se unen al ADN, que a su vez son controladas por varios tipos de procesos de regulación.

Los genes, incluyendo intrones, se copian en el primer transcripto, llamado ARNm precursor o pre-ARNm, por lo que éste debe ser procesado para remover los intrones. Al pre-ARNm se le quitan los intrones y se le empalman exones por medio de secuencias de bases especiales dentro y alrededor de los intrones. El empalme de exones usa catalizadores llamados “complejos ribonucleoproteínicos nucleares pequeños” (o snRNP por sus siglas en inglés), o bien ribozimas, que son moléculas de ARN que actúan como enzimas.

En algunos casos, el primer transcripto puede separarse en formas diferentes, en un proceso llamado “separación alternativa de ARN” (también regulado), permitiendo a un mismo gen dar origen a diferentes cadenas de polipéptidos; éste proceso es raro de encontrar en plantas.

El pre-ARNm es empacado en una pequeña cadena de partículas con proteínas, llamadas “partículas de ribonucleoproteína heteronuclear”. Así pues, para ser traducido, el ARNm eucariótico debe modificarse para poder viajar del núcleo al citoplasma; estas modificaciones pueden aparecer combinadas o solas y son básicamente la adición de un *cap* y de una cola poli-A.

La adición de un *cap* ocurre inmediatamente después de la iniciación de la síntesis de ARNm y consiste en la unión de una molécula de 7-metilguanilato (un monofosfato de guanosina² con un grupo metilo en uno de los nitrógenos de la base) a la cola 5' del transcripto, con una unión tipo 5' a 5', cuando el ARNt tiene alrededor de 20 o 30 nucleótidos. Como los ribosomas no se unen cuando no hay *cap*, se piensa que ésta protege al ARNm contra la degradación de RNasas y lo hace más estable.

El segundo tipo de modificación ocurre en una etapa posterior en la síntesis del primer transcripto, cuando la cola 3' es fijada a un sitio específico y a ésta se le añade una cola de poli-A por medio

²La guanosina es un nucleósido que resulta de la unión de una base nitrogenada guanina con un anillo de ribosa.

de la enzima poli-A polimerasa. La cola poliadenilada es una secuencia de bases, donde alrededor de 1 minuto después de la transcripción, algunas enzimas detectan el mARN, lo cortan y agregan entre 100 y 250 nucleótidos de adenina. Algunas de las funciones de la cola poli-A son proteger al transcrito de las RNasas para incrementar la estabilidad de las moléculas de ARNm en el citoplasma, incrementar la eficiencia de la traducción en los ribosomas y junto con la capa 5', permitir el tránsito a través de los poros nucleares.

Durante la transcripción, la regulación puede darse por alteraciones en el procesamiento o estabilidad del ARNm (al cambiar por ejemplo, la forma en que el pre-ARNm se empalma), por inhibición de retroacción (cuando un producto inhibe una reacción anterior en la secuencia de reacciones), o por modificaciones en la estructura de proteínas.

Algunos segmentos de ADN y proteínas, llamados “factores de transcripción”, funcionan como activadores o inhibidores de la acción génica. Entre estos segmentos del ADN encontramos promotores ascendentes, intensificadores y sitios de inicio de transcripción.

Los elementos promotores ascendentes son secuencias de entre 8 y 12pb (pares de bases nitrogenadas) cercanos al sitio de unión de ARN polimerasa dentro de la región promotora, cuyo número y tipo aparentemente determinan la eficiencia y precisión en la síntesis de ARNm para la expresión de genes.

Los segmentos intensificadores elevan la velocidad con que se sintetiza ARNm después de la iniciación, producto de la unión de proteínas con el intensificador, que facilitan la unión de ARN polimerasa al promotor. Al ser funcionales sólo en ciertos tipos celulares, controlan a los genes inducibles, encargados de producir enzimas cuya concentración se adapta a variaciones o estímulos ambientales; algunos genes son inducibles sólo en ciertos periodos del ciclo celular y otros dependen de la ubicación espacial, por lo que también sufren procesos de regulación temporal y de regulación específica de tejidos.

Cuando un gen se codifica, el ARNm puede ser transcrito a partir de diferentes sitios de iniciación de la transcripción, produciendo proteínas diferentes. Algunas proteínas reguladoras pueden unirse y formar distintas combinaciones, produciendo múltiples maneras de controlar la transcripción de un mismo gen.

2.1.2 Traducción

En la segunda fase para la expresión de genes, o traducción, se sintetizan proteínas en el ribosoma. Cada codón del ARNm se convierte en uno de los 20 aminoácidos específicos al ser reconocido por el ARNt (o ARN de transferencia), que contiene tripletes de bases complementarias a cada codón, llamados anticodones. Esta fase a su vez se divide en tres etapas: iniciación, alargamiento o elongación, y terminación. La traducción de ARNm va de 5' a 3'.

La iniciación de la traducción usa proteínas llamadas factores de iniciación y empieza con una carga de ARNt de iniciación en la subunidad ribosómica pequeña³ (el codón de iniciación es AUG) que sintetiza metionina.

La elongación es la adición de otros aminoácidos al polipéptido mediante enlaces peptídicos, donde

³Los ribosomas son complejos que sintetizan proteínas a partir de la información que les llega transcrita del ADN en forma de ARNm. Están formados por dos subunidades: una grande formada por dos moléculas de ARN, una de 23 S y otra de 5 S; otra pequeña formada por una molécula de ARNr (o ARN ribosomal).

cada uno tarda un veinteavo de segundo en formarse. En este proceso, el ARNt es reconocido por aminoacil-ARNt sintetasa, una enzima que usa ATP para unirlo con el aminoácido a un sitio fijo y cuyo complejo resultante, el aminoacil-ARNt, se une a la secuencia codificadora de ARNm. El ARNt también es reconocido por los ribosomas, que se unen al extremo del ARNm y lo recorren, permitiendo que el ARNt forme los aminoácidos y los una en el orden correcto por medio de enlaces peptídicos.

Se dice que el código genético es redundante porque algunas moléculas de ARNt reconocen hasta veinte codones distintos para el mismo aminoácido.

La terminación es indicada por factores de liberación que reconocen los codones de alto o paro (UAA, UGA o UAG) en el extremo de la secuencia codificadora, disociando al ribosoma en sus dos subunidades.

2.2 Formación de patrones y estructuras en plantas

Las plantas cuentan con tejidos basales, vasculares y dérmicos. La mayor parte del cuerpo de la planta lo forman los sistemas de tejidos basales: parénquima, colénquima y esclerénquima, que son tres tejidos diferenciados por las estructuras de sus paredes celulares. Las células parenquimatosas cumplen funciones como fotosíntesis, almacenamiento y secreción; las células colenquimatosas dan soporte estructural flexible; y las células esclerenquimatosas (escléridas y fibras) dan soporte estructural.

El sistema de tejidos vasculares conduce sustancias a través de todo el cuerpo de la planta y se divide en xilema y floema. El xilema transporta agua y minerales a través de la planta y se forma de células traqueridas, elementos de vaso, células parenquimatosas y fibras. El floema transporta azúcares y se compone de células de tubo criboso, acompañantes, parenquimatosas y fibras. El xilema suele tener varias ramificaciones o brazos, mientras que el floema se acomoda en manchas entre los brazos del xilema. Entre estos dos se encuentra el Cambium Vascular, que origina los tejidos secundarios.

El sistema de tejidos dérmicos recubre la planta protegiéndola del entorno, y se divide en epidermis y peridermo. La epidermis recubre a las plantas herbáceas y se compone de células guarda, parenquimatosas y tricomas. El peridermo recubre a las plantas leñosas, almacena almidón y biomoléculas, y se compone de células de corcho, de cambium de corcho y parenquimatosas de corcho.

En casi todas las plantas es posible encontrar la formación de estructuras con simetrías radial y axial o apico-basal. Estos patrones se establecen desde etapas muy tempranas en la embriogénesis y se mantienen durante toda la vida de la planta por medio de la actividad de los meristemos.

Los meristemos son regiones de células troncales que se dividen por mitosis, y que se mantienen activas durante todo el ciclo de vida de la planta. En ellos se generan los tipos celulares que conforman los tejidos y órganos que determinan el tamaño, forma y estructura de la planta. Son de primer orden si producen células diferenciadas directamente, o de segundo orden si lo hacen de forma indirecta.

Las células iniciales del meristemo se pueden identificar en los inicios de la separación celular del *primordium* embrionario (ver Glosario), pero no hay evidencia de que sean fuente de la formación de

patrones; la diferenciación de estas células no puede depender únicamente de información intrínseca, como lo muestra el hecho de ser indistinguibles de su progenie (Scheres *et al.*, 1997). La morfogénesis se desarrolla posteriormente, a través de un proceso de múltiples etapas llamado formación de patrones, donde diferentes conjuntos de células específicas se organizan en estructuras distinguibles.

El crecimiento de las plantas ocurre principalmente en los meristemos, por medio de tres procesos: división celular, alargamiento y diferenciación. Si la planta crece de forma longitudinal, se dice que tiene crecimiento primario, pero si lo hace en forma radial, se dice que tiene crecimiento secundario. El crecimiento primario ocurre en los meristemos apicales.

La estructura axial de la raíz, en este caso ejemplificada con el esquema de la raíz de *Arabidopsis thaliana*, consta de tres zonas, que en orden a partir de la punta de la raíz, son: zona meristemática, zona de alargamiento celular y zona de maduración (figura 2.1).

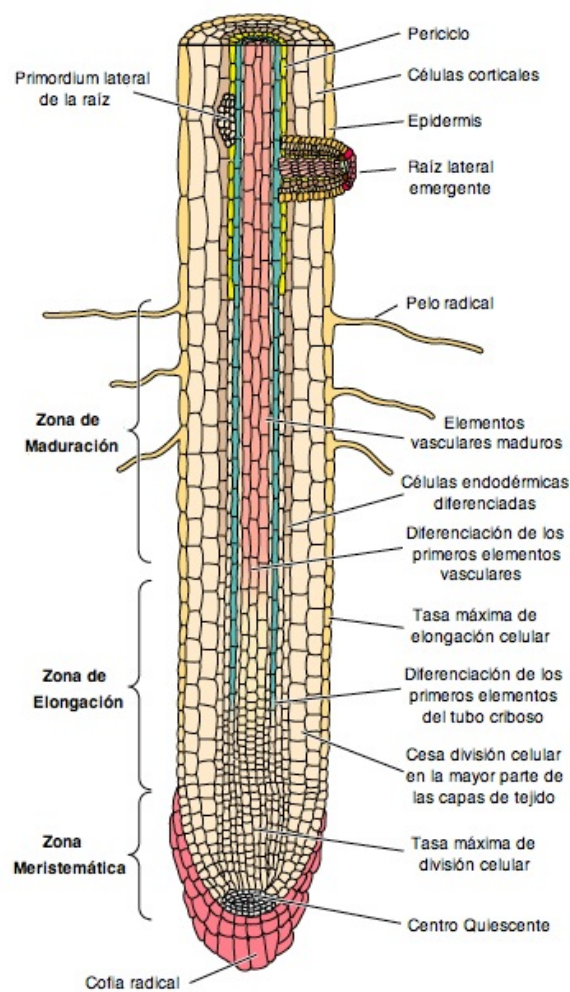


Figura 2.1: Estructura axial de la raíz de *Arabidopsis thaliana* (tomada de Zeiger y Taiz, 2006).

La zona meristemática es la que se estudia en este trabajo y donde se dan las condiciones de diferenciación celular que darán origen a los diferentes tejidos de la raíz. En la zona de alargamiento celular, las vacuolas de las células se llenan de agua y empujan la pared celular, las células ya no

se dividen y hay poca diferenciación. Más allá de la zona de alargamiento ocurre la diferenciación.

La estructura radial de la raíz se divide en tres capas concéntricas, que en orden del centro al exterior de la raíz, son: el cilindro vascular (que comprende a la endodermis, el periciclo, el floema y el xilema), el tejido cortical (córtez) y la epidermis (figura 2.2).

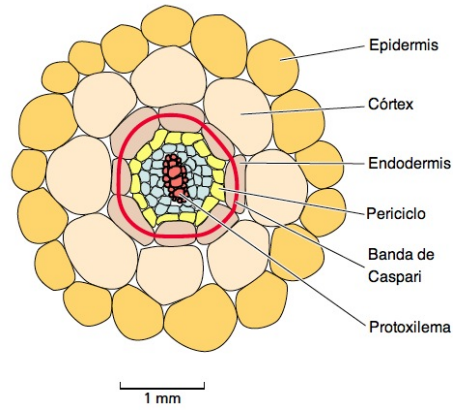


Figura 2.2: Estructura radial de la raíz de *Arabidopsis thaliana* a la altura de la zona de maduración (tomada de Zeiger y Taiz, 2006).

2.3 Meristemas de *Arabidopsis thaliana*

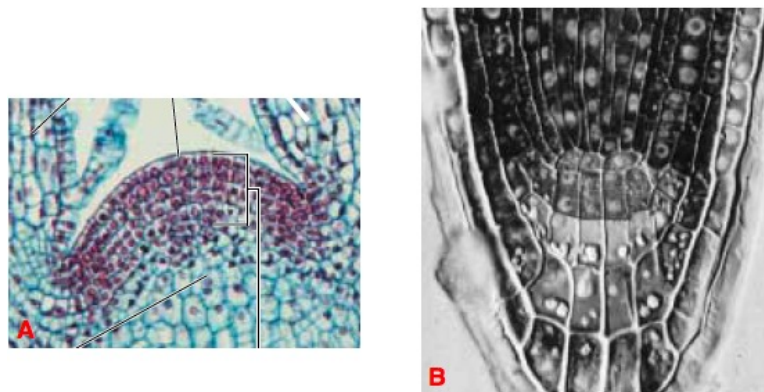


Figura 2.3: Meristemas MAVA (A) y MAR (B) de *Arabidopsis thaliana* (tomada de Zeiger y Taiz, 2006).

A. thaliana cuenta con un nicho de células troncales en el extremo del ápice de la raíz primaria y otro en el extremo de la parte aérea de la planta o brote apical (figura 2.3), por lo que reciben los nombres de MAR (Meristemo Apical de la Raíz) y MAVA (Meristemo Apical del Vástago Aéreo o Meristemo Apical del Tallo), respectivamente; ambos meristemas son clasificados como de primer orden porque se desarrollan durante el periodo embrionario.

Los procesos de diferenciación celular en el nicho MAVA han sido ampliamente estudiados, de forma experimental y teórica. La estructura del vástago aéreo o brote se observa en la figura 2.4, donde se

distinguen los primordium foliares y el meristemo (formado únicamente de células no diferenciadas).

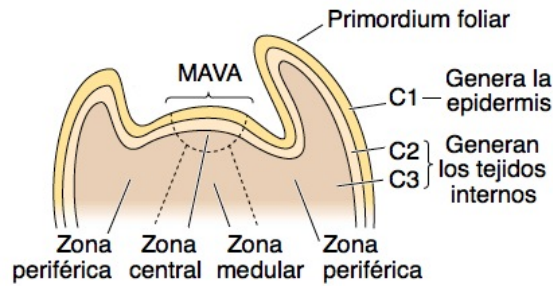


Figura 2.4: Estructura del vástago aéreo de *Arabidopsis thaliana* (tomada de Zeiger y Taiz, 2006).

El nicho de células troncales del MAR consta de cuatro células que rara vez se dividen y forman lo que se conoce como el centro organizador o Centro Quiescente (CQ), además de grupos de células iniciales o progenitoras (figura 2.5).

El CQ nunca pierde su posición dentro del meristemo y es estructural y funcionalmente equivalente a los centros organizadores de los nichos de células troncales en animales. Las células iniciales o progenitoras dan origen a los diferentes tejidos principales de la raíz: epidermis, córtex, endodermis, estele, columnela y cofia lateral.

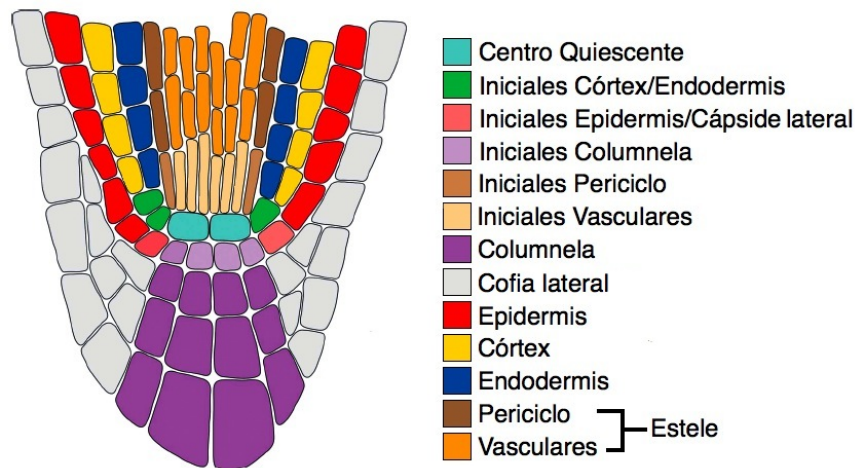


Figura 2.5: Estructura del meristemo MAR de *Arabidopsis thaliana* (tomada de Stahl *et al.*, 2005).

La epidermis, junto con los pelos radicales, cubren las raíces. Los pelos radicales son una modificación de la epidermis que les permite aumentar el área de contacto con el suelo para absorber agua, nutrientes y minerales.

El Córte forma la mayor parte de la raíz y son células en su mayoría parenquimatosas con grandes espacios intercelulares, cuya función es almacenar almidón; en los espacios intercelulares se transportan oxígeno y agua.

La Endodermis es la capa interior del córtex y filtra minerales al xilema en el interior de la raíz; en esta capa, las células tienen poco espacio intercelular y tienen una banda radial y transversal en sus paredes llamada Banda de Caspari, que tiene una sustancia grasosa llamada suberina.

Bajo la endodermis se encuentra una monocapa de células parenquimatosas con propiedades meristemáticas llamada Periciclo, que al dividirse origina las ramas radicales o raíces laterales, que contienen todas las estructuras de la raíz mayor de la que salen: caliptra, pelos radicales, epidermis, córtex, endodermis, periciclo, xilema y floema. El periciclo ayuda a formar los meristemos laterales que producen crecimiento secundario. El Estele se forma por el periciclo y el cilindro de tejidos vasculares en el centro de la raíz primaria.

La Columnela es la parte central de la cofia radical y en términos estructurales, representa al tejido epitelial y periciclo. Se distinguen la cofia lateral de la radical porque la primera recubre a la raíz de forma radial y la segunda recubre la parte más apical de la raíz.

En *Arabidopsis thaliana*, como en gran cantidad de plantas, existen otros meristemos distintos a MAVA y MAR que producen órganos primordiales a modo de apéndices. Los meristemos de inflorescencia, florales, axilares, intercalares y laterales son de este tipo y se clasifican como meristemos de segundo orden.

Sobre la regulación molecular y genética de meristemos secundarios, el grupo de investigación del Laboratorio de Genética Molecular, Desarrollo y Evolución de Plantas (IE, UNAM), también ha llevado a cabo investigaciones sobre la formación de estructuras en el meristemo del tallo (E. Álvarez-Buylla *et al.*, 2000, 2004, 2006, 2008; L. Mendoza y Álvarez-Buylla, 1998; M. Benítez *et al.*, 2007; entre otros). Por algunos resultados obtenidos al trabajar con el meristemo del brote, se pudieron hacer algunas de las suposiciones sobre los componentes de la red regulatoria genética del NCT del MAR.

Capítulo 3

Redes

Cuando el sistema que se estudia es complejo y el número de variables dinámicas interactuando es grande, se deben hacer simplificaciones, como discretizar el tiempo y limitar el número de valores que pueden tomar las variables. De esta forma, para sistemas complejos, es conveniente trabajar con redes.

Una gráfica o red $G=(X, U)$, es un conjunto de elementos o nodos $X=\{x_1, x_2, x_3, \dots, x_N\}$, y las conexiones $U=\{u_1, u_2, u_3, \dots, u_M\}$ entre ellos. Visualmente, cada elemento corresponde a un nodo y cada arista corresponde a una entrada o salida.

Las redes pueden tener estructura de cadena, de ciclos cerrados o combinaciones de estas dos (ver figura 3.1).

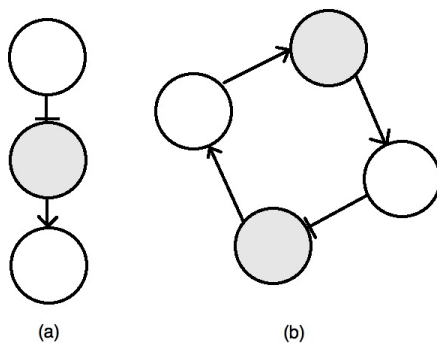


Figura 3.1: Estructuras de redes: a) cadena, b) ciclo.

Los nodos y aristas pueden ser de diferentes clases, cuando esto ocurre se dice que la red es compuesta. En las redes compuestas de múltiples sistemas biológicos, se superponen interacciones proteína-proteína, proteína-ADN, interacciones genéticas, regulación transcripcional, secuencias homólogas, expresión de correlación, reacciones metabólicas y regulación transcripcional de genes metabólicos. Las redes trabajadas en nuestros modelos son compuestas, pues hay hormonas, proteínas y genes.

En un sistema celular, los nodos de la red representan al ARNm, las proteínas u otras biomoléculas

cuyas abundancias varían, mientras que las aristas de la red representan las transformaciones químicas y relaciones regulatorias. Sin embargo, en muchos casos la falta de evidencia experimental puede dejar aristas sin dirección o bien trazar aristas entre nodos que en realidad signifiquen la simplificación de una sub-red aún desconocida.

Las aristas contienen las reglas dinámicas y pueden ser dirigidas o no dirigidas, e indican activación cuando terminan en flecha o inhibición cuando terminan en barra, y pueden ir de un nodo a otro o bien crear ciclos de retroalimentación cuando van de un nodo a él mismo (figura 3.2). Las gráficas no-dirigidas suelen ser más útiles en interacciones tipo unión de proteínas, o cuando la fuente y el objetivo no están bien identificados.

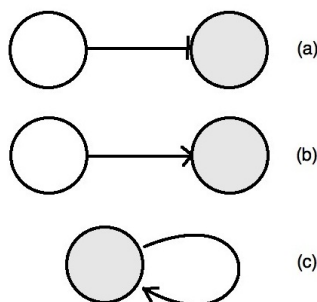


Figura 3.2: Redes dirigidas: a) inhibición, b) activación, c) retroalimentación positiva o *loop*.

Las aristas también pueden tener pesos asociados, que indican niveles de confianza o intensidad, o velocidad de la interacción. Si el número de aristas dirigidas de un nodo x_i a un nodo x_j no excede p , se tiene una *gráfica-p*.

El número total de nodos en la red define el orden de la misma. El número de aristas que convergen en un nodo define el grado de entrada y el número de aristas que salen de un nodo, define el grado de salida. La suma del grado de entrada con el grado de salida, da el grado de cada nodo.

Se dice que una gráfica o red es completa si, para cada par de nodos (x_i, x_j) , existe al menos una arista que los conecta. La densidad de una red con N nodos, es la proporción entre el número de aristas K que tiene y el número de aristas de una gráfica completa con el mismo número de nodos.

$$\rho = \frac{K}{N(N-1)} \quad (3.1)$$

Una trayectoria es la secuencia de aristas adyacentes y significa la ruta de transformación de un nutriente a un producto en la red metabólica, o una cadena de reacciones en una red de señales de transducción. La distancia o longitud de trayectoria entre dos nodos cualesquiera x_i y x_j en la red, se define como el número de aristas que los conecta. Si las aristas de la red tienen pesos asignados, la distancia entre dos nodos será la suma de los pesos de las aristas para las que la ruta se minimiza. La distancia geodésica es la longitud de trayectoria en la ruta más corta.

El promedio de la longitud de trayectoria para múltiples redes metabólicas, transcripcionales, de proteínas y de transducción, es menor a cuatro (R. Albert, 2007), por lo que estas redes responden rápidamente a perturbaciones. De igual manera, estas redes suelen tener redundancia de trayectorias y múltiples rutas entre nodos, lo cual las hace robustas ante perturbaciones, permitiéndoles recuperar la trayectoria preferente.

Se dice que dos nodos x_i y x_j están conectados directamente si existe una arista que vaya de x_i a x_j o viceversa. Ambos nodos están conectados indirectamente si hay una trayectoria que los comunique. Una conexión es básica si al removerla se interrumpen todas las trayectorias entre dos nodos.

Además de grandes cúmulos de nodos conectados de forma bidireccional, en la red hay motivos de interacción, que son pequeñas subgráficas con topología bien definida, que forman bloques de redes celulares o módulos, robustos y separables o autónomos (figura 3.3).

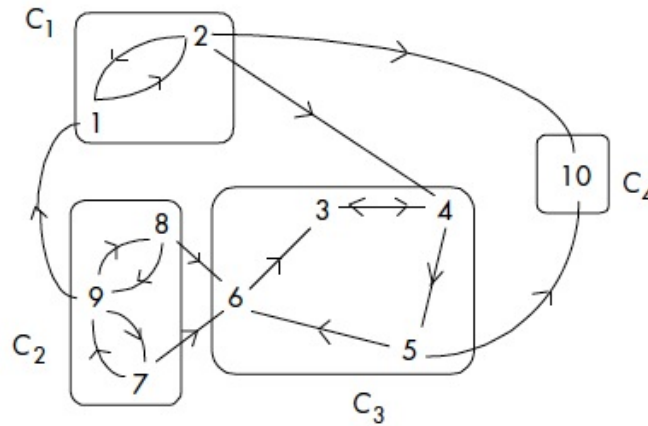


Figura 3.3: Red seccionada en cuatro cúmulos.

Las mediciones más importantes en las redes son la conectividad entre nodos, la importancia o centralidad de nodos individuales y el grado de homogeneidad en la red, en términos de una propiedad de nodo dada. En las redes también se puede estudiar la existencia de puntos fijos, ciclos y multiestabilidad.

3.1 Análisis matricial de redes

Una forma eficiente de analizar la estructura, seccionamiento, importancia de nodos y aristas en una red, es por medio del análisis matricial. Diferentes matrices mostradas a continuación, darán información relevante.

La matriz adyacente $A_{N \times N}$ resume la estructura de una red con N nodos, pues indica si cada par de nodos x_i y x_j están conectados, sin importar la direccionalidad de la arista que los une. Las componentes de dicha matriz, están dadas por:

$$A_{ij} = \begin{cases} 0 & \text{si } (i, j) \in U \\ 1 & \text{si } (i, j) \notin U \end{cases} \quad (3.2)$$

Ésta matriz puede modificarse cuando las aristas tienen cualidades diferentes. Por ejemplo, para interacciones de activación entre los nodos x_i y x_j , el valor del elemento de la matriz será 1, pero para interacciones de inhibición, será -1. Si pueden formarse submatrices dentro de A , donde sólo hay unos o ceros, se pueden distinguir los conjuntos de nodos fuertemente conectados.

La matriz de distancias geodésicas G_{ij} tiene como entradas el número de aristas que componen la distancia geodésica entre dos nodos x_i y x_j .

La matriz de cohesión Z_{ij} indica la fuerza de relación entre dos nodos x_i y x_j . Si $N(i)$ es el conjunto de nodos alcanzables por el nodo x_i incluyéndose a sí mismo, y f_{ij} el número de nodos que se encuentran a una distancia menor o igual que la distancia entre x_i y x_j . Sus entradas están dadas por:

$$Z_{ij} = \begin{cases} 0 & \text{si no hay trayectoria entre } x_i \text{ y } x_j \\ 1 & \text{si } i=j \\ 1 - \frac{f_{ij}}{N(i)} & \text{en el resto de los casos.} \end{cases} \quad (3.3)$$

La matriz de distancias Euclidianas es un indicador de la equivalencia entre nodos de una red. Las entradas de esta matriz D_{ij} , están dadas por:

$$D_{ij} = \sqrt{(Z_{ij} - Z_{ji})^2 + \sum_q (Z_{iq} - Z_{jq})^2 + \sum_q (Z_{qi} - Z_{qj})^2} \quad (3.4)$$

Mientras menor sea la distancia Euclideana entre dos nodos, más tienden a la equivalencia estadística. Esta medición es importante al seccionar una red en varias subredes.

3.2 Centralidad

La importancia relativa de un nodo dentro de la red está determinada por su centralidad, que considera el grado de entrada y salida, es decir el número de conexiones o aristas que entran y salen de cada nodo, así como la conectividad. Hay cuatro medidas principales de centralidad: de grado, de intermediación, de cercanía y de eigenvector.

La centralidad de grado C_D de la red, da la fracción de nodos de grado k en una red. Para una gráfica con N nodos, la centralidad de grado para un nodo de grado k , es:

$$C_D(k) = \frac{k}{N-1} \quad (3.5)$$

La centralidad de intermediación mide la frecuencia con que un nodo aparece en la trayectoria geodésica (la de menor distancia) entre dos nodos, y es grande para los nodos que funcionan como intermediarios y controladores de la comunicación. Para una red $G(X,U)$ con N nodos, la centralidad de intermediación para un nodo x_v , es:

$$C_B(v) = \frac{1}{B} \sum_{\substack{s \neq v \neq t \in V \\ s \neq t}} \frac{\sigma_{st}(v)}{\sigma_{st}} \quad (3.6)$$

Donde σ_{st} es el número de trayectorias geodésicas que unen el nodo x_s con el nodo x_t , $\sigma_{st}(v)$ es el número de trayectorias geodésicas que unen x_s con x_t y que pasan por x_v . B es una cantidad que normaliza respecto al número de pares de vértices que no incluyen a x_v , es decir $(N-1)(N-2)$ para gráficas dirigidas y $(N-1)(N-2)/2$ para gráficas no dirigidas.

3.3 Homogeneidad

A las redes muy heterogéneas en el grado de cada nodo se les nombra de escala libre. En las redes de escala libre, los nodos de grado pequeño son más comunes y los de grado mayor suelen ser órdenes de magnitud mayores que el promedio. La estructura heterogénea predice que en redes de escala libre, la ruptura aleatoria no causa gran pérdida de conectividad, mientras que la pérdida de nodos de alto grado rompe la red en cúmulos aislados.

3.4 Redes Booleanas

Cuando una variable puede tomar sólo los valores 0 o 1, se dice que es Booleana, y la relación que determina la entrada y salida es la función Booleana. El estado de una red Booleana especifica un valor 0 o 1 para cada uno de los elementos; así pues, para una red con N elementos, existen $2N$ posibles estados. George Boole (1815-1864) fue el creador del este tipo de análisis, que tiene como aplicación más notable el desarrollo del lenguaje computacional y de circuitos.

En redes Booleanas con múltiples entradas, la conectividad y las funciones se vuelven más complicadas, por lo que la dinámica del sistema también se complica. Para poder entender la dinámica del sistema, se crean tablas de verdad, que relacionan un estado al tiempo t con otro al tiempo $t+1$. En este trabajo, se utilizan tablas de verdad para deducir las reglas lógicas que determinan la dinámica del sistema, en las que se indican las condiciones iniciales de un conjunto de variables y el estado final de otra variable que depende de las anteriores.

En muchos sistemas biológicos y en particular en el caso de los procesos de regulación de transcripción genética (F. Jacob y J. Monod, 1961) y de regulación enzimática, las tasas de activación de los componentes (que dependen así mismo del nivel de activación de otros componentes interrelacionados) muestran un comportamiento temporal de tipo sigmoidal.

Una función $f(y)$ con comportamiento sigmoidal, se caracteriza por comenzar en un valor e incrementar suavemente a otro valor cuando $y \rightarrow \infty$, con un sólo punto de inflexión. Hay varios tipos de funciones sigmoidales, como la tangente hiperbólica (3.7), la arcotangente, la de Hill (3.8), la logística o de Heaviside (3.9), la de Gompertz (3.10), entre otras. Cualquiera de éstas puede usarse de forma indistinta para obtener la dinámica de un sistema que describe un comportamiento sigmoidal.

Funciones sigmoidales:

$$f(y) = \tanh \beta y = \frac{e^{\beta y} - e^{-\beta y}}{e^{\beta y} + e^{-\beta y}} \quad (3.7)$$

$$f(y) = \frac{y^n}{K^n + y^n} \quad (3.8)$$

$$f(y) = \begin{cases} 0 & \text{si } y < 0 \\ 1 & \text{si } y \geq 0 \end{cases} \quad (3.9)$$

$$f(y) = ae^{be^{cy}} \quad (3.10)$$

Este tipo de comportamiento ha hecho suponer que los sistemas de control biológico pueden modelarse como redes Booleanas, donde el estado activado corresponde al valor 1 o función identidad, y el estado inhibido corresponde al valor 0 o función inversa.

Los modelos discretos para el nicho de SC utilizan una función de activación escalón, que puede ser representada por la función de Heaviside. Los modelos continuos están basados en el sistema de ecuaciones de Xenarios y Mendoza (2006), que usa una función del tipo tangente hiperbólica.

Según Kauffman, los estados estacionarios de redes de regulación genética (RRGs) podían representar los diferentes tipos celulares. Por esta razón, dadas las configuraciones iniciales de un sistema Booleano y las reglas lógicas que determinan las relaciones entre los genes, se puede dejar evolucionar el sistema y después de un tiempo no muy largo, encontrar que los elementos de la red tienen estados de activación cíclicos o de punto fijo, que corresponden a los atractores. Estos estados estacionarios o atractores, no son estados intrínsecos de cada elemento, sino un fenómeno emergente de la complejidad del sistema.

Las RRGs pueden presentar comportamiento ordenado, caótico o crítico (Derrida y Stauffer, 1986; M. Aldana, 2003) y dependiendo de su naturaleza, implican diferentes resultados a nivel biológico. El tipo de comportamiento de la red se conoce al aplicar perturbaciones a algunos de sus nodos en tipo silvestre. Cuando la red es ordenada, las perturbaciones no interfieren y se regresa al estado silvestre; cuando la red es caótica, las perturbaciones crecen y se propagan en la red, modificando su estructura dinámica; y cuando la red muestra criticalidad, se transita entre dinámicas ordenadas y caóticas. Según el mismo Kauffman, la vida existe en el estado crítico, ya que si fuera ordenada no podríamos esperar fenómenos de evolución y si fuera caótica no podríamos tener individuos reconocibles en reinos, pues no habría modo de mantener estados fijos de la red. Así pues, sólo en el régimen crítico puede haber procesos evolvables (que son capaces de evolucionar) y robustos, capaces de originar la vida.

3.5 Inferencia

Los métodos de inferencia, análisis y modelación de la estructura dinámica de redes, son necesarios para entender los procesos que subyacen la diferenciación celular y la morfogénesis. Para inferir una red se deben identificar los elementos del sistema, sus relaciones y tipo de interacciones. La formulación y análisis de redes permite encontrar nuevo conocimiento y la posibilidad de hacer predicciones. El objetivo de la inferencia de gráficas o grafos, es encontrar la red que resulta más parsimoniosa y consistente con las observaciones experimentales.

La forma más común de trazar una red es con la información de la expresión de genes y proteínas. Esta información incluye la regulación transcripcional, postranscripcional, traduccional y postraduccional. Una vez propuesta la relación de regulación entre dos genes, ésta puede ser confirmada experimentalmente.

Se puede conocer de forma indirecta la presencia y tipo de función de alguna proteína u hormona dentro de un proceso, al analizar las diferencias en las respuestas a un mismo estímulo entre organismos tipo silvestre (se dice que un organismo es tipo silvestre o *wild*, cuando no contiene mutaciones o bien cuando tiene los fenotipos estándares) y organismos donde la expresión o actividad de una proteína ha sido alterada.

Cuando varios genes tienen esquemas de expresión similares se pueden agrupar con algoritmos de

acumulamiento. Sin embargo, que dos nodos pertenezcan al mismo grupo no implica forzosamente una relación causal entre ellos, sino que pueden estar coregulados. En otras ocasiones, la función o productos de un gen son encontrados por asociación con otros cúmulos ya conocidos. La capacidad de encontrar significado biológico en los métodos de acumulamiento depende únicamente del conocimiento biológico previo de la persona que estudia el sistema.

Otra forma de trazar la red, cuando no existe información experimental sobre la expresión de algunos genes o proteínas, es postular interacciones con base en estudios de genética molecular funcional, como se hizo en la modelación Booleana previa a este trabajo.

3.6 Uso de Reglas lógicas y Tablas de verdad

La información acumulada de forma directa o indirecta para la inferencia de una red Booleana, puede expresarse por medio de tablas de verdad, que expresan los diferentes estados de activación para un nodo: encendido (1) o apagado (0); en relación al estado de activación de los nodos que se conectan al nodo en cuestión.

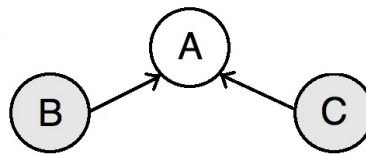


Figura 3.4: Red que modela el ejemplo.

Tomemos un ejemplo, en el que un nodo A se encuentra conectado a dos nodos B y C, y donde el nodo A se activa sólo cuando los nodos B y C se encuentran encendidos. La red que representa este sistema se muestra en 3.4

En este caso se puede formar la tabla de verdad 3.1.

B	C	A
0	0	0
0	1	0
1	0	0
1	1	1

Tabla 3.1: Tabla de verdad para el ejemplo.

La información de las tablas de verdad puede traducirse en reglas lógicas. Los símbolos lógicos a usar son: \neg (negación), \wedge (intersección o "y"), \vee (unión u "o") y \Rightarrow (entonces). Para el ejemplo mencionado, las reglas lógicas quedan de la forma:

$$\begin{aligned} \neg B \wedge \neg C &\Rightarrow \neg A \\ (\neg B \wedge C) \vee (B \wedge \neg C) &\Rightarrow \neg A \\ B \wedge C &\Rightarrow A \end{aligned}$$

Estas reglas lógicas pueden expresarse en términos matemáticos por medio de máximos y mínimos. Para el ejemplo mencionado, quedarán como:

$$\text{MIN}(B,C)=A$$

Capítulo 4

Elementos reguladores del NCT del MAR

Para entender mejor la función de los genes en el desarrollo y formación de estructuras en las plantas, se han realizado estudios genéticos que hacen uso de mutantes, sencillos y múltiples, para explicar los patrones de expresión de diversos genes. A partir de estos estudios, se ha inferido la función de algunos genes clave en los procesos regulatorios y sus interacciones con otros genes.

4.1 Evidencia experimental

Se han propuesto dos vías principales para la regulación de la diferenciación y la formación de patrones en la raíz de *A. thaliana*, la primera de éstas depende de los genes *SHOORT-ROOT* (*SHR*) y *SCARECROW* (*SCR*) y actúa de forma radial, y la segunda depende de la familia de genes *PLETHORA* (*PLT*) y de las hormonas Auxinas y actúa de forma axial.

Vía *SCR/SHR*:

Esta vía se dedujo de experimentos con mutantes simples y dobles de *SCR*, realizados por Scheres *et al.* (1995) y Di Laurenzio *et al.* (1996), donde se muestra el control de *SCR* sobre el crecimiento y la estructura radial de la raíz de *Arabidopsis thaliana* (figura 4.1). Los estudios de mutantes de *SHR* también presentan este comportamiento.

Si después de la germinación ya no se expresa *SCR* en el CQ ni en células CEI, se altera la organización celular en el meristemo. *SHR* se transcribe en toda la estele y se mueve del cilindro vascular hacia la capa siguiente de células, que incluye al CQ, CEI y endodermis, donde en conjunto con *SCR*, induce la expresión de *SCR* (Nakajima *et al.*, 2001).

De acuerdo con Scheres *et al.* (1997), *SHR* es necesario para la determinación del tipo celular endodérmico y la regulación de *SCR*, ya que en mutantes *shr* se reduce la activación de *SCR*. Una vez que la expresión de *SCR* ha sido inducida por *SHR*, su expresión es autosostenida (Sabatini *et al.*, 2003; Cui *et al.*, 2007), ya que en mutantes *scr* se inhibe la acción de *SCR* en el CQ y CEI.



Figura 4.1: Raíces modificadas de *Arabidopsis thaliana* debido a mutaciones simples y dobles de *SCR* (tomada de Di Laurenzio *et al.*, 1996).

SHR funciona como un indicador de posición para la formación del patrón radial y sufre regulación específica de tejidos.

Así pues, en conjunto, *SCR* y *SHR* especifican el centro quiescente, controlan la tasa de división periclinal de las células hijas de las células iniciales de cortex-endodermis, o células CEI (Di Laurenzio *et al.*, 1996; Helariutta *et al.*, 2000; Sabatini *et al.*, 2003; Levesque *et al.*, 2006; Cui *et al.*, 2007); y son fundamentales en la organización radial de la raíz y el control transcripcional de varios genes.

En la vía de regulación de *SCR* y *SHR* también son importantes los genes *JACKDAW* (*JKD*) y *MAGPIE* (*MGP*), que codifican una familia específica de proteínas con ramas de zinc y controlan la actividad de los dos primeros genes. Tanto *JKD* como *MGP* están implicados en la regulación del patrón radial de la raíz: las fronteras entre tejidos y la división celular asimétrica.

Experimentos en dos híbridos en levadura muestran que pueden interactuar, sugiriendo que hay complejos proteína-proteína entre ellos que están involucrados en la regulación del NCT (Welch *et al.*, 2007).

JKD es un gen expresado en CQ y en células CEI, cuyos estudios en mutantes (*jdk-1*, *jdk-2*, *jdk-3*, *jdk-4*) muestran que actúa como activador de *SCR* en CEI y CQ. La expresión de *JKD* se inicia independientemente de *SCR* y *SHR*, pero posteriormente se vuelve dependiente de éstos. La localización de su región de expresión en tipo silvestre, se muestra en la figura 4.2.

La función de *MGP* es difícil de especificar, ya que las pruebas con mutantes simples y dobles (donde la actividad del gene *NUTCRACKER*, corregulado y relacionado filogenéticamente, ha sido reducida), no revelan alteraciones fenotípicas (Sarkar *et al.*, 2007). El transcrito de *MGP* casi no se detecta en mutantes *shr-2*, y en mutantes *scr-4* su expresión es muy reducida. Por medio de los análisis RT-PCR y ChIP, se ha confirmado que *SHR* es necesario para la expresión de *MGP*. Sin embargo, *JKD* restringe el rango de acción de *SHR* a través de una contra-reacción promotora de la división celular, dependiente de *MGP*, *SHR* y *SCR*. Los dos últimos pueden unirse directamente

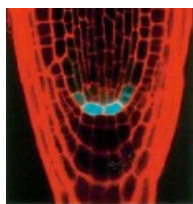


Figura 4.2: Expresión de *JKD* en tipo silvestre (Welch *et al.*, 2007).

al promotor de *MGP* (Levesque *et al.*, 2006; Cui *et al.*, 2007).

Se sabe que, en conjunto, *SCR* y *SHR* regulan al gen *WUSCHEL RELATED HOMEBOX 5* (*WOX5*), un gen con dominio homeobox¹ que al expresarse en MAR mantiene al NCT, y cuya expresión es necesaria para la formación del CQ (Sarkar *et al.*, 2007). Por dicho comportamiento, se considera un análogo del gene *WUS*, que mantiene el NCT del brote apical, o MAVA.

Se asume que *SHR* y *SCR* tienen una función activadora de *WOX5*, ya que en estudios con mutantes *shr* y *scr*, no se detecta *WOX5*. De igual manera, en estudios con mutantes *wox5*, no se recupera la expresión genética en CQ (ver figura 4.3) y no hay diferenciación distal (ver Glosario) del NCT. En mutantes *wox5-1*, la expresión de *SCR* no se altera.



Figura 4.3: Expresión de mRNA de *WOX5* en el CQ, tipo silvestre (Sarkar *et al.*, 2007)

En los mutantes de *BODENLOS* (*bdl*) o *MONOPTEROS* (*mp*) (ambos reguladores de respuesta a Auxina o ARFs), *WOX5* casi no se expresa. Esto coincide con la idea de que las señales de Auxina mediadas por *BDL/MP* son necesarias para la formación del CQ.

A pesar de las similitudes funcionales entre *WOX5* y *WUS*, se desconoce si, de forma similar al MAVA, hay algún mecanismo de retroalimentación tipo *WUS-CLV3*, con algún gene de la familia *CLAVATA* (en el brote, *WUS* mantiene a las células troncales sin diferenciar e induce la expresión del péptido *CLAVATA3* o *CLV3*, que a su vez restringe el tamaño del dominio de expresión de *WUS*).

De acuerdo con Suzuki *et al.* (2008), la sobre-expresión de *CLV3* inhibe el crecimiento de la raíz y la aplicación de péptidos *CLV3* consume tanto al MAVA como al MAR (Hobe *et al.*, 2003; Fiers *et al.*, 2005; Ito *et al.*, 2006). Igualmente, al sobre-expresar o aplicar péptidos de *CLE19* y *CLE40* en raíz, se ocasionan resultados similares a los de *CLV3* y su péptido (Casamitjana-Martínez *et al.*, 2003; Suzuki *et al.*, 2008). Recientemente se ha encontrado que el péptido *CLAVATA-like 40* (*CLE40*)

¹Las secuencias homeobox son secuencias de aminoácidos conservadas en varios genes homeóticos. Los genes homeóticos codifican factores de transcripción que determinan cuáles estructuras se desarrollan en qué sitios; activan grandes cantidades de genes que conforman el programa genómico para cada estructura en particular.

regula negativamente a *WOX5* en la parte más distal del meristemo (Stahl *et al.*, 2009). De igual manera, se han encontrado otros genes tipo *CLE*, acumulados en la familia *CLEX*, involucrados en el mantenimiento del MAR, aunque su función aún no es clara en el NCT (Hobe *et al.*, 2003; Fiers *et al.*, 2005; Hirakawa *et al.*, 2008).

Vía *PLT*/Auxinas:

La familia de genes *PLT* también ha sido relacionada con el mantenimiento del NCT. Lo anterior se deduce de estudios donde los mutantes triples *plt1*, *plt2* y *plt3* no mantienen el NCT, haciendo que eventualmente todas las células del MAR se diferencien (Aida *et al.*, 2004).

Se ha encontrado que la hormona auxina estimula la iniciación de raíces laterales (Scheres *et al.*, 1997) y la formación del patrón próximo-distal de la raíz (Ueda *et al.*, 2005), además de inhibir la formación de yemas laterales en tallos. La auxina se transporta de forma polar (de forma descendente desde el sitio en que se produce) a la punta de la raíz y se acumula en el centro quiescente y en la columnela, bajo la regulación de dos tipos de factores de transcripción: los factores de respuesta a auxinas (ARFs por sus siglas en inglés) y las proteínas auxina/ácido acético-indole-3 (Aux/IAAs). En el genoma de *A. Thaliana* se sintetizan 23 tipos de ARF y 29 de Aux/IAA.

Se sugiere que las auxinas inhiben a las proteínas Aux/IAA (Tiwari *et al.*, 2001; Tiwari *et al.*, 2004) y que hay retroalimentación positiva de Aux/IAA por auxinas. Los genes *Aux/IAA* se han propuesto como reguladores de los genes ARF (Woodward *et al.*, 2004), por lo que se sugiere que las auxinas inhiben la actividad transcripcional de ARF vía Aux/IAA (Guilfoyle *et al.*, 2007; Mockaitis *et al.*, 2008; Lau *et al.*, 2008).

Los mutantes dobles *mp arf7/nhp4* y el mutante simple *monopteros (mp)* de ARF, muestran reducida o nula expresión de los transcritos *PLT1* y *PLT2*, sugiriendo que la activación de la transcripción de *PLT* ocurre río abajo (ver el Apéndice A) de los ARF (Aida *et al.*, 2004; Galinha *et al.*, 2007).

4.2 Tipos celulares esperados

Los tipos celulares esperados son: Iniciales Vasculares (VI), Iniciales de Córtex-Endodermis (o CEI), Iniciales de Columnela (o CI), Iniciales de Epidermis/Cofia lateral (EI) y Centro Quiescente (CQ). Sin embargo, no se tienen datos experimentales que distingan a las CI de las EI, por lo que se une a estos dos tipos celulares en uno solo, al que llamaremos “Iniciales de Columnela/Epidermis/Cofia lateral” (abreviado CEPI).

En relación a los resultados experimentales mencionados, se pueden ensamblar las configuraciones de genes, proteínas y hormonas, que se encuentran en cada tipo celular del NCT. Los elementos a considerar en la RRG son los genes *PLT*, *SHR*, *SCR*, *MGP*, *JKD*, *WOX5*, *CLEX*, *Aux/IAA*, ARF y la hormona Auxina.

Se espera que cada tipo celular corresponda con estados estacionarios o atractores de esta RRG. Así pues, cada tipo celular en el NCT puede ser asociado con un vector cuyas entradas tomen valores cero o uno según sea el estado, apagado o encendido respectivamente, de cada elemento. En general, el estado 0 significará que la proteína es no-funcional o que el gen es no-expresado, excepto

para *PLT* y Auxinas, que tienen un perfil de activación gradual, donde el estado 0 significará que su nivel de expresión es insuficiente para poder ejercer una función óptima en el NCT.

Dicho lo anterior, se construyó la Tabla 4.1 con los vectores que identifican a cada tipo celular.

<i>PLT</i>	<i>IAA</i>	<i>ARF</i>	<i>AUX</i>	<i>SHR</i>	<i>SCR</i>	<i>JKD</i>	<i>MGP</i>	<i>WOX5</i>	<i>CLEX*</i>	Atractor
1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	CEI
1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	CQ
1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	VI
1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	CEpI

Tabla 4.1: *La información sobre *CLEX* será válida sólo para los modelos que lo incluyan dentro de la RRG. En los demás modelos, la tabla sigue siendo válida al eliminar la columna referente a éste gen. En los modelos donde se usa *CLEX*, es posible que el nivel de activación varíe en todos los tipos celulares excepto en CEI (Stahl *et al.*, 2009), que es el único tipo celular donde se tienen resultados concluyentes.

Capítulo 5

Formulación inicial

5.1 Tablas de verdad

Recuperando lo dicho en capítulos anteriores, se construyeron unas tablas de verdad que indicaban la relación de activación o inhibición entre cada elemento de la RRG Booleana para el NCT del MAR de *Arabidopsis thaliana*. En base a dichas tablas de verdad se construyó la RRG y las reglas lógicas que permitieron posteriormente desarrollar el modelo continuo.

Las tablas de verdad fueron construídas gracias a la extensa revisión bibliográfica realizada por el Biol. Eugenio Azpeitia, dentro del Laboratorio de Genética Molecular, Desarrollo y Evolución de Plantas (IE, UNAM).

<i>ARF</i>	<i>PLT</i>
0	0
1	1

<i>AUXINAS</i>	<i>IAA</i>
0	1
1	0

<i>IAA</i>	<i>ARF</i>
0	1
1	0

<i>SHR</i>	<i>SCR</i>	<i>JKD</i>
0	0	0
0	1	0
1	0	0
1	1	1

<i>ARF</i>	<i>SHR</i>	<i>SCR</i>	<i>MGP</i>	<i>WOX5</i>	<i>WOX5</i>
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	1	0
0	0	0	1	0	0
0	0	0	1	1	0
0	0	1	0	0	0
0	0	1	0	1	0
0	0	1	1	0	0
0	0	1	1	1	0
0	1	0	0	0	0
0	1	0	0	1	0
0	1	0	1	0	0
0	1	0	1	1	0
0	1	1	0	0	0
0	1	1	0	1	0
0	1	1	1	0	0
0	1	1	1	1	0
1	0	0	0	0	0
1	0	0	0	1	0
1	0	0	1	0	0
1	0	0	1	1	0
1	0	1	0	0	0
1	0	1	0	1	0
1	0	1	1	0	0
1	0	1	1	1	0
1	1	0	0	0	0
1	1	0	0	1	0
1	1	0	1	0	0
1	1	0	1	1	0
1	1	1	0	0	1
1	1	1	0	1	1
1	1	1	1	0	0
1	1	1	1	1	1

<i>SHR</i>	<i>SCR</i>	<i>WOX5</i>	<i>MGP</i>
0	0	0	0
0	0	1	0
0	1	0	0
0	1	1	0
1	0	0	0
1	0	1	0
1	1	0	1
1	1	1	0

Para *SCR* se hizo una suposición sobre el tipo de interacción con *MGP*, ya que no hay información experimental específica sobre su interacción.

<i>SHR</i>	<i>SCR</i>	<i>JKD</i>	<i>MGP</i>	<i>SCR</i>
0	0	0	0	0
0	0	0	1	0
0	0	1	0	0
0	0	1	1	0
0	1	0	0	0
0	1	0	1	0
0	1	1	0	0
0	1	1	1	0
1	0	0	0	0
1	0	0	1	0
1	0	1	0	1
1	0	1	1	1
1	1	0	0	1
1	1	0	1	0
1	1	1	0	1
1	1	1	1	1

Para *SHR* y Auxinas, se usaron las siguientes tablas de verdad, de modo que *SHR* no tiene entradas, y las Auxinas siempre están activas (esta condición es necesaria para la acción de *WOX5* que permite el mantenimiento del NCT y la formación del CQ):

<i>SHR</i>	<i>SHR</i>
0	0
1	1

Auxinas	Auxinas
0	1
1	1

5.2 RRG

De acuerdo con la evidencia experimental encontrada sobre los elementos reguladores del NCT, se trazó una RRG inicial para el sistema (figura 5.1), donde las interacciones de activación se indican con flechas y las de inhibición con barras.

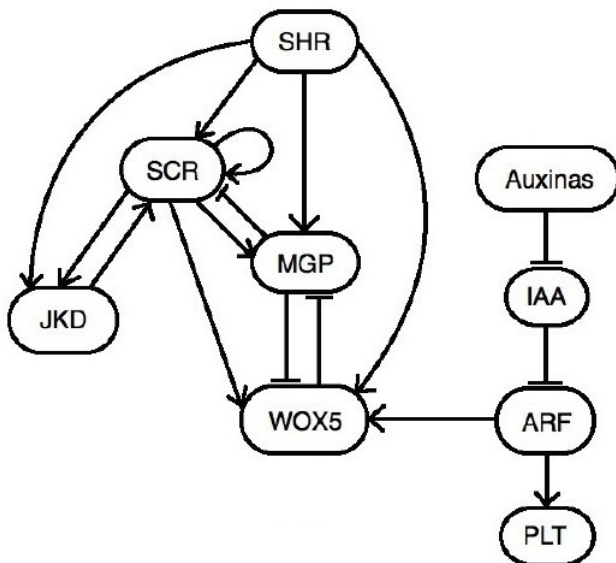


Figura 5.1: RRG para el modelo inicial.

5.3 Antecedentes: Resultados del modelo Booleano inicial

El modelo dinámico Booleano inicial, realizado por el Biol. E. Azpeitia, usó las 2^9 condiciones iniciales (9 variables que pueden tomar los valores 0 o 1) que puede tener el sistema y las dejó evolucionar de acuerdo con las tablas de verdad.

Los atractores encontrados con ésta metodología son los presentados en la tabla 5.1

<i>PLT</i>	<i>IAA</i>	<i>ARF</i>	<i>AUX</i>	<i>SHR</i>	<i>SCR</i>	<i>JKD</i>	<i>MGP</i>	<i>WOX5</i>	Atractor
1	0	1	1	1	1	1	1	0	CEI
1	0	1	1	1	1	1	0	1	CQ
1	0	1	1	1	0	0	0	0	VI
1	0	1	1	0	0	0	0	0	CEpI

Tabla 5.1: Atractores para el modelo Booleano inicial (Azpetia *et al.*, artículo en revisión para su publicación).

Capítulo 6

Modelos continuos

6.1 Formulación de un modelo continuo

El tránsito a los modelos continuos siguió el trabajo realizado previamente por el Biol. E. Azpeitia. El propósito de la modelación continua, era saber si se recuperaban los mismos atractores encontrados en los modelos Booleanos y por lo tanto, saber si las RRGs propuestas eran robustas.

Se sabe que al pasar de una dinámica discreta a una continua, es posible hallar más configuraciones estacionarias y algunas de éstas pueden no tener expresión biológica de referencia o ser inestables. Si los atractores estables encontrados no tienen referente biológico, nuestro modelo debe tener algunas interacciones erróneas, sobrantes o faltantes, y debe ser modificado. Si los atractores inestables no tienen referente biológico, esto no dice si nuestro modelo es correcto, ya que ninguna solución inestable puede ser expresada en términos biológicos, pues su probabilidad de aparición es cero.

Existen diferentes métodos para transitar de dinámicas discretas a continuas. Todas estas consisten en cambiar la función discontinua (tipo escalón) de encendido-apagado, por una función continua $f(x)$ que pase de valor cero a uno en un intervalo pequeño de x .

L. Mendoza e I. Xenarios (2006, 2007) diseñaron dos funciones para modelar la dinámica continua de la red molecular de linfocitos T. En ambas funciones la activación describe una función sigmoide, que depende del valor de ganancia h y de la entrada w_i , que toma valores entre cero y uno. Para ganancias mayores a 0.5, las funciones de activación adquieren la foma logística estándar.

$$x(h, w_i) = \frac{-e^{0.5h} + e^{-hw_i}}{(1 - e^{0.5h})(1 + e^{-h(w_i-0.5)})} \quad (6.1)$$

$$x(h, w_i) = \frac{-e^{0.5h} + e^{-h(w_i-0.5)}}{(1 - e^{0.5h})(1 + e^{-h(w_i-0.5)})} \quad (6.2)$$

Basados en el modelo desarrollado por Mendoza *et al.* (2006) para pasar de un sistema dinámico a uno continuo, utilizando la función 6.2, se formó el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias para modelar la evolución del sistema:

$$\frac{dx_i}{dt} = \frac{-e^{0.5h} + e^{-h(w_i-0.5)}}{(1 - e^{0.5h})(1 + e^{-h(w_i-0.5)})} - \gamma_i x_i \quad (6.3)$$

6.2 Exponentes de Lyapunov

Una cualidad característica de los sistemas caóticos es la sensibilidad a condiciones iniciales. Es decir, ante pequeños cambios en las condiciones iniciales, pueden presentarse trayectorias que se separan exponencialmente. Una medida de qué tan caótico es un sistema, son los exponentes de Lyapunov. Hay tantos exponentes de Lyapunov como dimensiones en el espacio fase.

Para calcular dichos exponentes en mapeos de una dimensión, se da una condición inicial x_0 y un punto cercano $x_0 + \delta_0$, donde δ_0 es muy pequeño. Se deja evolucionar el sistema y, si δ_n es la separación después de n iteraciones y si $|\delta_n| \approx |\delta_0|e^{n\lambda_L}$, entonces λ_L es el exponente de Lyapunov.

Una forma computacional para calcular los exponentes se obtiene al considerar que:

$$\delta_n = f^n(x_0 + \delta_0) - f^n(x_0)$$

De esta forma, la expresión queda como:

$$\begin{aligned} \lambda_L &\approx \frac{1}{n} \ln \left| \frac{\delta_n}{\delta_0} \right| \\ &= \frac{1}{n} \ln \left| \frac{f^n(x_0 + \delta_0) - f^n(x_0)}{\delta_0} \right| \end{aligned} \quad (6.4)$$

Comúnmente, se hace el siguiente manejo de las ecuaciones, para obtener una expresión sencilla en términos computacionales.

$$\begin{aligned} \lambda_L &\approx \frac{1}{n} \ln \left| \prod_{i=0}^{n-1} f'(x_i) \right| \\ &= \frac{1}{n} \sum_{i=0}^{n-1} \ln |f'(x_i)| \\ &= \lim_{n \rightarrow \infty} \left\{ \frac{1}{n} \sum_{i=0}^{n-1} \ln |f'(x_i)| \right\}, \text{ en el límite cuando } n \rightarrow \infty \\ &= \frac{1}{n} \ln |(f^n)'(x_0)|, \text{ en el límite cuando } \delta_0 \rightarrow 0 \end{aligned}$$

Sin embargo, por la forma de nuestras ecuaciones de evolución, se tomó la ecuación 6.4, expandida para el número de variables de nuestra red (9 en el modelo inicial). De esta forma, se forman los vectores $\vec{\delta}_0$, donde cada entrada vale δ_0 , y \vec{D} , que calcula la distancia entre los estados finales: $f_i^n(\vec{x}_0 + \vec{\delta}_0) - f_i^n(\vec{x}_0)$, donde f_i^n es la i -ésima función en la n -ésima iteración.

De esta forma, la expresión con la que calculamos los exponentes de Lyapunov, queda de la siguiente manera:

$$\lambda_L \approx \frac{1}{n} \ln \left(\frac{|\vec{D}|}{\delta_0} \right) \quad (6.5)$$

6.2.1 Tiempos de evolución

El tiempo de evolución, o número de iteraciones, es suficiente cuando se permite que el sistema alcance un estado estacionario y ya no muestre cambios significativos en la evolución de las variables. Para encontrar qué tan largo debe ser el tiempo de integración, se pueden calcular los exponentes de Liapunov, ya que el inverso de estos exponentes define tiempos característicos para el sistema.

6.2.2 Estabilidad del sistema

El valor absoluto del exponente de Lyapunov indica el grado de estabilidad del sistema. Dependiendo del valor real del exponente, el sistema se comporta de diferente manera.

$$\lambda_L \begin{cases} = 0, & \text{sistema conservativo y en estado estacionario.} \\ > 0, & \text{sistema caótico e inestable, aunque sigue siendo determinístico.} \\ < 0, & \text{sistema disipativo y atraído a un punto fijo u órbita periódica estable.} \end{cases} \quad (6.6)$$

6.3 Ecuaciones de evolución para el sistema

Con las tablas de verdad mencionadas en el capítulo anterior, se establecieron los factores w_i , o entrada total para cada nodo. Éste factor corresponde con la regla lógica para cada variable, ya que $w_i = w_i(x_j)$, $(i, j) = 1, \dots, 9$ ó 10 . Así pues, los factores de entrada total por nodo, para el modelo inicial, quedan de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} w_{PLT} &= ARF \\ w_{IAA} &= 1 - AUX \\ w_{ARF} &= 1 - IAA \\ w_{AUX} &= 1.0 \\ w_{SHR} &= SHR \\ w_{JKD} &= \min(SHR, SCR) \\ w_{MGP} &= \min(SHR, SCR, 1 - WOXS) \\ w_{SCR} &= \min(SHR, \max(SCR, JKD), 1 - \min(1 - JKD, MGP)) \\ w_{WOXS} &= \min(ARF, SHR, SCR, 1 - \min(MGP, 1 - WOXS)) \end{aligned} \quad (6.7)$$

Al introducir toda la información en el sistema dado por la expresión 6.3, las ecuaciones de evolución resultaron ser áltamente no-lineales.

Para poder calcular los estados estacionarios del sistema, se usaron dos métodos diferentes. El primero consistía en, por medio de un programa de integración Rung-Kutta de cuarto orden con Fortran 90, hacer evolucionar el sistema un tiempo “suficientemente largo” y encontrar los estados a los que convergía. Y el segundo consistió en resolver, por métodos numéricos con *Mathematica*®[©], la ecuación resultante de la igualdad $\frac{dx_i}{dt} = 0$, es decir:

$$x_i = \frac{-e^{25} + e^{-50(w_i - 0.5)}}{(1 - e^{25})(1 + e^{-50(w_i - 0.5)})} \quad (6.8)$$

6.4 Programa de evolución

Para el programa de evolución del sistema, dimos 10 000 condiciones iniciales aleatorias para las componentes, con valores reales entre 0 y 1 con precisión de milésimas. Para poder generar las condiciones iniciales aleatorias para cada nodo de la red, usamos una subrutina *random* cuya

semilla cambia en base a la hora y la fecha de la máquina, con lo que se modifica la serie de números generados en cada corrida.

El programa se dejó evolucionar durante 1500 iteraciones. Este tiempo fue elegido de forma empírica con los primeros resultados de las gráficas de evolución.

Para saber si este tiempo era “suficiente largo”, posteriormente tomamos condiciones cercanas en cienmilésimos a cada una de las 10 000 condiciones iniciales aleatorias dadas, y las dejamos evolucionar hasta la iteración 1500, donde calculamos el exponente de Lyapunov para cada condición inicial. De esta forma, el tiempo característico del sistema lo tomamos como el inverso del mínimo exponente de Lyapunov calculado. El tiempo característico del sistema inicial, obtenido con la anterior metodología, fue de 4008 por lo que volvimos a evolucionar el sistema, pero ahora para 6000 iteraciones.

Inicialmente fijamos el parámetro “h” (o ganancia) en 50, puesto que las gráficas de la ecuación 6.2 respecto a w_i mostraban el comportamiento de la gráfica 6.1, que sugieren que para este valor de h, la transición entre el estado apagado y encendido, es suficientemente rápida para semejar el sistema Booleano, pero suficientemente suaves como para dar información adicional de importancia.

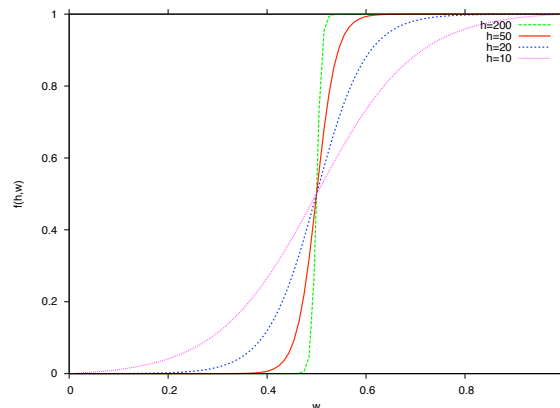


Figura 6.1: Gráficas para la selección empírica del parámetro “h”.

Posteriormente se supuso de que el lapso de activación γ_i era igual para todas las variables, ya que no se cuenta con información experimental al respecto. Debido a la estructura de las funciones de activación, el comportamiento cualitativo de las soluciones de las ecuaciones diferenciales no dependen de los valores específicos de lapso de activación. Y como $\frac{1}{\gamma_i}$ juega el papel de un tiempo característico, tomamos $\gamma_i = 1$ para cada variable i .

6.5 Resultados al modelo continuo inicial

Como resultado al modelo inicial, tras resolver las ecuaciones 6.8 con *Mathematica*®, no sólo se encontraron los cuatro atractores deseados (tabla 4.1), sino que apareció otro atractor estable, mencionado en la tabla 6.1.

Aún cuando la probabilidad de aparición de éste atractor fuera muy baja, su presencia como atractor estable indicaba que algunas interacciones en la RRG no eran adecuadas, es decir, que

PLT	IAA	ARF	Aux	SHR	SCR	JKD	MGP	WOX5
1	0	1	1	0	1	1	1	0

Tabla 6.1: Atractores adicionales encontrados con las interacciones del modelo inicial.

había aristas o nodos faltantes o de sobra. Las posibles interacciones faltantes deberían recaer sobre *WOX5* fuera del CQ y *MGP* en el CQ, involucrando a los genes *CLEX*, debido a que no hay información experimental concluyente al respecto.

6.6 Cuatro modelos

Con la intención de construir una RRG que tuviera como atractores únicamente las configuraciones de los tipos celulares esperados, se formularon dos hipótesis principales:

- A. *MGP* reprime a *WOX5* y viceversa. *SCR*, *SHR* y *ARF* activan *WOX5*. *SHR* y *SCR* activan *MGP*. Se introduce una regulación indirecta entre *WOX5* y *MGP*.
- B. Algún gen *CLEX* inhibe *WOX5*, restringiendo su acción a células CEI y VI. Sólo *WOX5* inhibe *MGP* y el estado de *CLEX* será dado como una retroalimentación de *SHR* y él mismo.

Con éstas suposiciones, se formaron dos modelos base. El Modelo A, donde no se incluye a los genes *CLEX*, y donde *MGP* y *WOX5* se reprimen mutuamente; y el Modelo B, donde se incluye la función inhibidora de *CLEX* sobre *WOX5*, sólo *WOX5* inhibe a *MGP* y *SHR* inhibe a *CLEX*.

A su vez, cada uno de estos modelos se dividió en dos modelos (el modelo A se descompuso en los modelos 1 y 2, y el modelo B se descompuso en los modelos 3 y 4) al distinguir entre dos posibles funciones regulatorias del gen *SCR*; la distinción de estas funciones fue sugerida debido a la falta de información sobre la función de *MGP*. El modelo 1 coincide con el modelo inicial planteado en el capítulo anterior.

Esto llevó a la construcción de las diferentes tablas de verdad para los genes *WOX5*, *CLEX* y *SCR*.

Para *WOX5* en los Modelos 1 y 2 se usó la misma tabla de verdad mencionada en el capítulo 5, pero para los modelos 3 y 4 se introdujo la acción de *CLEX*, por lo que se usó 6.2 como su tabla de verdad.

Para los Modelos 3 y 4, se introdujo la acción de *CLEX* bajo la hipótesis B, por lo que su tabla de verdad es la mostrada en la tabla 6.3.

Para *SCR* en los Modelos 1 y 3 se usó la misma tabla de verdad mencionada en el capítulo 5, pero para los modelos 2 y 4 se introdujo otro tipo de interacción con *MGP*, por lo que la anterior tabla de verdad se modificó en un renglón, como se muestra en la tabla 6.4.

Como hubo suposiciones diferentes para cada modelo, algunos de los factores de entrada se mantuvieron fijos y otros variaron.

ARF	SHR	SCR	WOX5	CLEX	WOX5
0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	1	0
0	0	0	1	0	0
0	0	0	1	1	0
0	0	1	0	0	0
0	0	1	0	1	0
0	0	1	1	0	0
0	0	1	1	1	0
0	1	0	0	0	0
0	1	0	0	1	0
0	1	0	1	0	0
0	1	0	1	1	0
0	1	1	0	0	0
0	1	1	0	1	0
0	1	1	1	0	0
0	1	1	1	1	0
1	0	0	0	0	0
1	0	0	0	1	0
1	0	0	1	0	0
1	0	0	1	1	0
1	0	1	0	0	0
1	0	1	0	1	0
1	0	1	1	0	0
1	0	1	1	1	0
1	1	0	0	0	0
1	1	0	0	1	0
1	1	0	1	0	0
1	1	0	1	1	0
1	1	1	0	0	1
1	1	1	0	1	0
1	1	1	1	0	1
1	1	1	1	1	0

Tabla 6.2: Tabla de verdad para los Modelos 3 y 4, donde se introduce la interacción de *WOX5* y *CLEX*.

SHR	CLEX	CLEX
0	0	0
0	1	0
1	0	0
1	1	1

Tabla 6.3: Tabla de verdad para *CLEX* en los Modelos 3 y 4

SHR	SCR	JKD	MGP	SCR
1	1	0	1	1

Tabla 6.4: Modificación en la tabla de verdad de *SCR* para los Modelos 2 y 4

Los nodos que permanecieron con una estructura fija en los cuatro modelos, son:

$$\begin{aligned}
w_{PLT} &= ARF \\
w_{IAA} &= 1 - AUX \\
w_{ARF} &= 1 - IAA \\
w_{AUX} &= 1.0 \\
w_{SHR} &= SHR \\
w_{JKD} &= \min(SHR, SCR) \\
w_{MGP} &= \min(SHR, SCR, 1 - WOX5)
\end{aligned} \tag{6.9}$$

Y los factores de entrada para los nodos que varían en cada modelos, son:

Modelo 1

$$\begin{aligned}
w_{SCR} &= \min(SHR, \max(SCR, JKD), 1 - \min(1 - JKD, MGP)) \\
w_{WOX5} &= \min(ARF, SHR, SCR, 1 - \min(MGP, 1 - WOX5))
\end{aligned} \tag{6.10}$$

Modelo 2

$$\begin{aligned}
w_{SCR} &= \min(SHR, \max(SHR, MGP), \max(SCR, JKD)) \\
w_{WOX5} &= \min(ARF, SHR, SCR, 1 - \min(MGP, 1 - WOX5))
\end{aligned} \tag{6.11}$$

Modelo 3

$$\begin{aligned}
w_{SCR} &= \min(SHR, \max(SCR, JKD), 1 - \min(1 - JKD, MGP)) \\
w_{WOX5} &= \min(ARF, SHR, SCR, \min(1 - CLEX, \max(SCR, WOX5))) \\
w_{CLEX} &= \min(SHR, CLEX)
\end{aligned} \tag{6.12}$$

Modelo 4

$$\begin{aligned}
w_{SCR} &= \min(SHR, \max(SHR, MGP), \max(SCR, JKD)) \\
w_{WOX5} &= \min(ARF, SHR, SCR, \min(1 - CLEX, \max(SCR, WOX5))) \\
w_{CLEX} &= \min(SHR, CLEX)
\end{aligned} \tag{6.13}$$

Las RRGs para cada modelo, incluyendo las modificaciones expresadas en las tablas de verdad anteriores, se muestran en la figura 6.2.

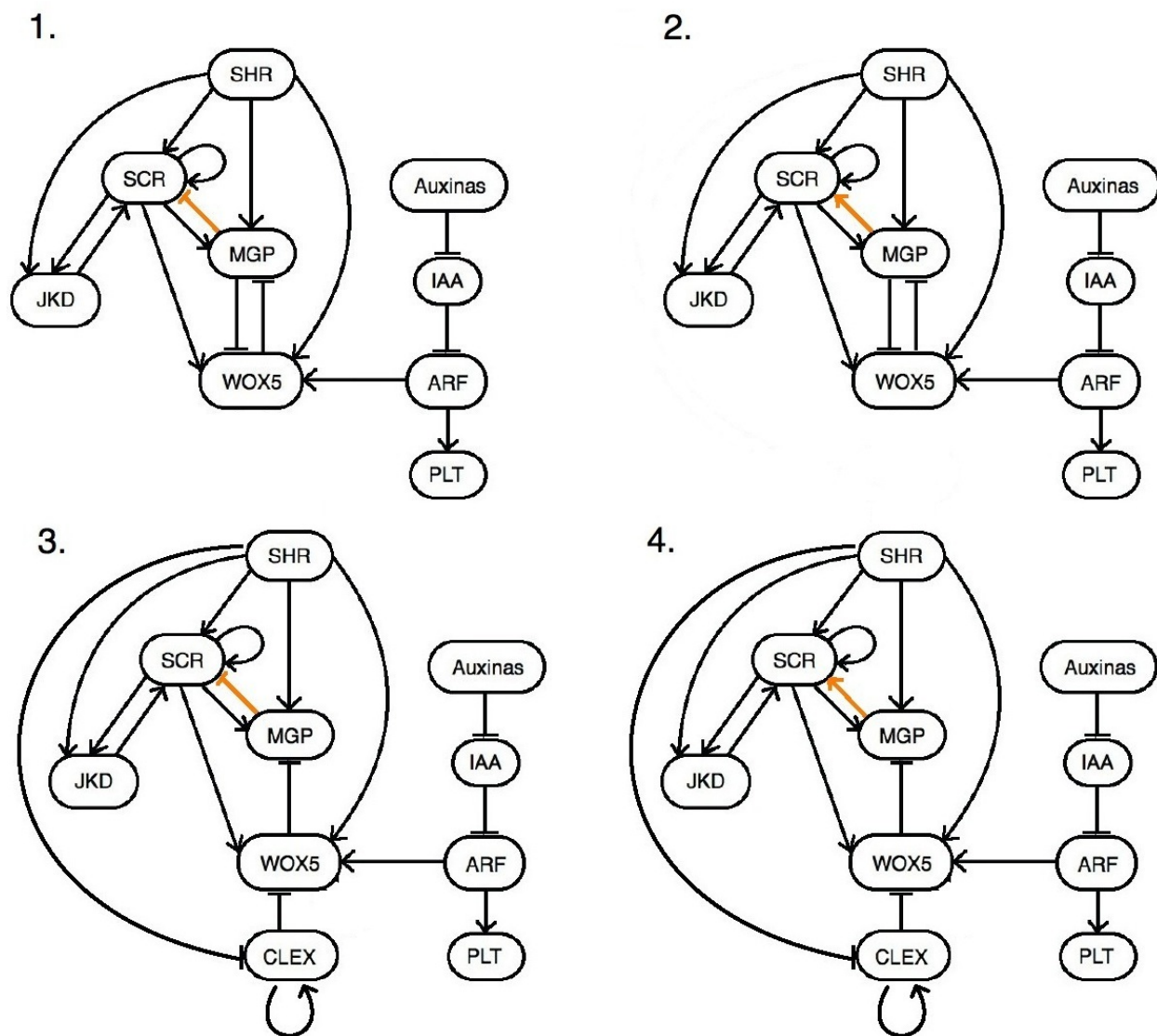


Figura 6.2: RRGs. Cada modelo está etiquetado con su número asignado.

Capítulo 7

Resultados.

7.1 Tiempos de iteración.

Se calcularon los exponentes de Lyapunov mínimos para cada modelo y con éste se obtuvo el número de iteraciones a utilizar. Los resultados obtenidos se indican en la tabla 7.1

Modelo	$\lambda_{L_{min}}$	Tiempo característico	Iteraciones utilizadas
1	2.6137588×10^{-4}	3825.908	5000
2	2.1456958×10^{-4}	4660.493	6000
3	2.1929809×10^{-4}	4560.003	6000
4	2.4947367×10^{-4}	4008.439	6000

Tabla 7.1: Número de iteraciones necesarias para la evolución de los sistemas, tomando la ganancia $h=50$.

Tomando ahora estos números de iteraciones para cada modelo, los tiempos característicos obtenidos con el mismo procedimiento, caen a los valores mostrados en la tabla 7.2, comprobando que el tiempo de evolución utilizado, es suficientemente largo.

Modelo	Tiempo característico*
1	170
2	140
3	140
4	230

Tabla 7.2: *Los tiempo característicos escritos se encuentran redondeados.

7.2 Comportamiento de cada modelo

Tomando los exponentes de Lyapunov calculados para obtener el número de iteraciones conveniente en cada modelo, podemos también obtener información sobre el tipo de comportamiento de nuestras variables, según se indicó en la expresión 6.6.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 7.3.

Modelo	$\lambda_L < 0$	$\lambda_L > 0$	$\lambda_L = 0$
1	9999*	1	0
2	10000**	0	0
3	9999**	1	0
4	10000*	0	0

Tabla 7.3: Clasificación de exponentes de Lyapunov para cada modelo. *Todos los eigenvalores encontrados son del orden de -0.01. **Todos los eigenvalores encontrados son del orden de -0.02.

A pesar de que los modelos 3 y 4 presentan el mismo tipo de atractores, el análisis de la estabilidad de los atractores, revela que el modelo 4 tiende a ser disipativo y atraído a un punto fijo u órbita estable, pues sus exponentes de Lyapunov son negativos. El modelo 3, aunque en una sola ocasión, presenta comportamiento caótico e inestable. Por esto, son fenomenológicamente diferentes.

7.3 Atractores.

Para cada modelo se encontraron sus atractores y se calculó el porcentaje de veces que aparece cada atractor, pues éste número indica qué tan profundo es su pozo de atracción y da referencia del hipervolumen que ocupa en el espacio fase. La probabilidad de aparición de cada atractor para cada modelo, se calcula como:

$$P = \frac{\text{Número de veces que apareció el atractor}}{\text{Número total de condiciones iniciales exploradas}} \quad (7.1)$$

Modelo 1

PLT	IAA	ARF	AUX	SHR	SCR	JKD	MGP	WOX5	Atractor
1	0	1	1	1	1	1	1	0	CEI
1	0	1	1	1	1	1	0	1	CQ
1	0	1	1	1	0	0	0	0	VI
1	0	1	1	0	0	0	0	0	CEpI
1	0	1	1	0	1	1	1	0	Extra1(CEI*)

Tabla 7.4: Atractores encontrados con la dinámica continua, modelo 1.

Los resultados de la evolución del modelo 1 se obtuvieron las tablas 7.4 y 7.5. El atractor Extra1, de configuración similar al de células Iniciales de CórteX-Endodermis, pero con *SHR* apagado. Esto

Atractor	Probabilidad de aparición
CEI	0.1788
CQ	0.1057
VI	0.2206
CEpI	0.4947
Extra1	0.0002

Tabla 7.5: Probabilidad de aparición de cada atractor encontrado en el modelo 1.

quiere decir que el estado Extra 1 aparece muy pocas veces. Sin embargo, su existencia como estado estacionario estable del sistema, indica que alguna interacción de la red debe sobrar o faltar, pues su configuración no tienen referencia biológica real.

Modelo 2

PLT	IAA	ARF	AUX	SHR	SCR	JKD	MGP	WOX5	Atractor
1	0	1	1	1	1	1	1	0	CEI
1	0	1	1	1	1	1	0	1	CQ
1	0	1	1	1	0	0	0	0	VI
1	0	1	1	0	0	0	0	0	CEpI
1	0	1	1	1	1	1	0.5	0.5	Extra1

Tabla 7.6: Atractores encontrados con la dinámica continua, modelo 2.

Atractor	Probabilidad de aparición
CEI	0.2096
CQ	0.1085
VI	0.1833
CEpI	0.4985
Extra1	0.0001

Tabla 7.7: Probabilidad de aparición de cada atractor encontrado en el Modelo 2.

Los resultados de la evolución del modelo 2 se obtuvieron las tablas 7.6 y 7.7. El atractor Extra 1 tiene estados de activación intermedio para *MGP* y *WOX5*, por lo que la interacción entre estos nodos puede estar mal especificada. Éste tampoco tiene referencia biológica real, por lo que debe haber alguna interacción aún faltante.

Los nodos que actúan sobre estos genes son *JKD*, *SCR*, *WOX5* y *SHR*, por lo que la interacción faltante debe recaer sobre alguno de estos nodos.

Modelo 3

PLT	IAA	ARF	AUX	SHR	SCR	JKD	MGP	WOX5	CLEX	Atractor
1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	CEI
1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	CQ
1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	VI
1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	CEpI
1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	Extra1(VI*)

Tabla 7.8: Atractores encontrados, con la dinámica continua, en el modelos 3.

Atractor	Probabilidad de aparición
CEI	0.1256
CQ	0.1217
VI	0.1267
CEpI	0.4972
Extra1	0.1288

Tabla 7.9: Probabilidad de aparición de cada atractor encontrado en el Modelo 3.

Los resultados de la evolución del modelo 3 se obtuvieron las tablas 7.8 y 7.9. El atractor Extra 1 es similar al de células Iniciales de Células Vasculares y sólo difiere el estado de activación de *CLEX*. Esto no nos indican si el modelo es adecuado o no, ya que no se cuenta con información experimental que permita descartarlos de manera definitiva como atractores sin referencia biológica real.

Modelo 4

PLT	IAA	ARF	AUX	SHR	SCR	JKD	MGP	WOX5	CLEX	Atractor
1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	CEI
1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	CQ
1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	VI
1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	CEpI
1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	Extra1(VI*)

Tabla 7.10: Atractores encontrados, con la dinámica continua, en el modelos 4.

Los resultados de la evolución del modelo 4 se obtuvieron las tablas 7.10 y 7.11. De nueva cuenta, obtener el atractor Extra 1 no implica que nuestro modelo esté incompleto, ya que no hay información experimental que lo respalde.

Atractor	Probabilidad de aparición
CEI	0.1609
CQ	0.1538
VI	0.0978
CEpI	0.4960
Extra1	0.0915

Tabla 7.11: Probabilidad de aparición de cada atractor encontrado en el Modelo 4.

7.4 Análisis lineal del sistema

Como una primera aproximación al comportamiento del sistema, linealizamos los sistema de ecuaciones diferenciales acopladas descritos anteriormente, para encontrar los eigenvalores, clasificarlos, y tener certeza sobre la estabilidad de sus puntos fijos. El sistema de ecuaciones a linealizar, varía para cada modelo, ya que las entradas w_i cambian, pero la estructura general se conserva.

En general, las ecuaciones de evolución de nuestro sistema se pueden reescribir como:

$$\frac{dx_i}{dt} = \Theta(w_i(\bar{x}) - 1/2) - x_i \quad (7.2)$$

Donde Θ es la función de activación o inhibición para cada nodo, resultante de su interacción con otros nodos; una función sigmoide. Al linealizar la función Θ alrededor de x_i , nos queda:

$$\Theta(w_i(\bar{x}) - 1/2) \approx \Theta(w_i(\bar{x}^*) - 1/2) + \frac{\partial \Theta}{\partial w_i} \Big|_{\bar{x}^*} (x_i - x_i^*) \quad (7.3)$$

De modo que:

$$\frac{dx_i}{dt} \approx \Theta(w_i(\bar{x}^*) - 1/2) + \frac{\partial \Theta}{\partial w_i} \Big|_{\bar{x}^*} (x_i - x_i^*) - x_i \quad (7.4)$$

El primer término de ésta ecuación son constantes que denotaremos como C_i . Si además aproximáramos Θ como una función escalón, su derivada sería una función delta y la ecuación anterior quedaría como:

$$\frac{dx_i}{dt} \approx C_i + \delta(w_i(\bar{x}^*) - 1/2)(x_i - x_i^*) - x_i \quad (7.5)$$

Éste análisis no es prudente, pues cuando la función delta vale infinito, la ecuación diferencial no tiene sentido. Sólo tendría sentido en los casos en que la función delta vale cero, con lo que $\frac{dx_i}{dt} \approx C_i - x_i$.

Por otra parte, si tomamos Θ como una función continua y diferenciable, podemos analizar el sistema con la matriz Jacobiana, como se explicó en la sección 1.1.

De acuerdo con las ecuaciones 6.3, las entradas w_i son funciones con máximos y mínimos, así que para poder hacer el análisis lineal, las consideramos funciones diferenciables ($f_i(x_a, \dots, x_n)$ y $g_i(x_a, \dots, x_n)$) y derivamos de forma implícita. De esta manera se construye una misma matriz Jacobiana para los modelos 1 y 2, y otra para los modelos 3 y 4¹:

¹Para las expresiones de las f_i y g_i , ir al Apéndice B.

$$J_{\text{Modelo12}} = \begin{pmatrix} -1 & 0 & f_1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -1 & 0 & f_2 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & f_3 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & f_4 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & f_5 & f_6 & f_7 & f_8 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & f_9 & f_{10} & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & f_{11} & f_{12} & 0 & -1 & f_{13} & 0 \\ 0 & 0 & f_{14} & 0 & f_{15} & f_{16} & 0 & f_{17} & f_{18} & 0 \end{pmatrix} \quad J_{\text{Modelo34}} = \begin{pmatrix} -1 & 0 & g_1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -1 & 0 & g_2 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & g_3 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & g_4 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & g_5 & g_6 & g_7 & g_8 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & g_9 & g_{10} & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & g_{11} & g_{12} & 0 & -1 & g_{13} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & g_{14} & 0 & g_{15} & g_{16} & 0 & 0 & g_{17} & g_{18} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & g_{19} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & g_{20} \end{pmatrix}$$

Al evaluar las funciones alrededor de los puntos fijos, obtuvimos diferentes matrices Jacobianas, a las que calculamos sus eigenvalores.

Para el primer modelo, los eigenvalores alrededor de todos los puntos fijos de la Tabla 7.4, fueron iguales a los dados por $\lambda^{\{1\}}$, donde se observa que el último eigenvalor siempre es negativo, ya que $-\frac{he^{h/2}}{1-e^h}$ toma valores entre cero y 1, y tiende a 1 cuando h tiende a 0. Como todos los eigenvalores son negativos, todos los puntos fijos son atractores estables.

$$\lambda^{\{1\}} = \left\{ -1, -1, -1, -1, -1, -1, -1, -1, -1, -1 - \frac{he^{h/2}}{1-e^h} \right\}$$

Para el segundo modelo, los eigenvalores alrededor de los primeros cuatro atractores, fueron los dados por $\lambda^{\{1\}}$, pero para el punto fijo extra, fueron los dados por $\lambda^{\{2\}}$, donde las dos últimas entradas varían en un signo. Por esta razón, uno de estos eigenvalores será positivo mientras que el otro será negativo. Esto indica que el punto fijo es inestable, por lo que se hicieron pruebas de perturbaciones al programa de evolución al rededor de dicho punto fijo, obteniendo que éste atractor cae en cualquiera de los dos primeros atractores de la Tabla 7.6 al ser perturbado.

$$\lambda^{\{2\}} = \left\{ -1, -1, -1, -1, -1, -1, -1, -1 - \frac{he^{h/2}}{1-e^h}, -1 + \frac{a\sqrt{1-2e^a+e^{2a}}}{4(1-2e^{h/2}+e^a)}, -1 - \frac{a\sqrt{1-2e^a+e^{2a}}}{4(1-2e^{h/2}+e^a)} \right\} \quad (7.6)$$

Para el tercer modelo, los eigenvalores alrededor de los atractores 1, 2 y 4 de la Tabla 7.8, fueron los dados por $\lambda_{1,2,4}^{\{3\}}$ y para los atractores 3 y 5, fueron los dados por $\lambda_{3,5}^{\{3\}}$. Ninguno de estos atractores muestra inestabilidades, ya que en todos los casos, estas ecuaciones dan eigenvalores negativos.

$$\lambda_{1,2,4}^{\{3\}} = \left\{ -1, -1, -1, -1, -1, -1, -1, -1, -1 - \frac{he^{h/2}}{1-e^h}, -1 - \frac{he^{h/2}}{1-e^h} \right\}$$

$$\lambda_{3,5}^{\{3\}} = \left\{ -1, -1, -1, -1, -1, -1, -1, -1 - \frac{he^{h/2}}{1-e^h}, -1 - \frac{he^{h/2}}{1-e^h}, -1 - \frac{he^{h/2}}{1-e^h} \right\}$$

Para el cuarto modelo, los eigenvalores alrededor de los atractores, fueron los mismos que los dados para el modelo 3 y en el mismo orden. Nuevamente, ninguno de estos atractores muestra inestabilidades.

7.5 Análisis topológico de las RRGs.

Para cada modelo calculamos la densidad de la red y construimos las matrices de adyacencia A_{ij} (ecuación 3.2), de distancias geodésicas G_{ij} y de distancias de Euler D_{ij} (ecuación 3.4).

Con las matrices de adyacencia podemos saber si la RRG es separable en cúmulos y por lo tanto es reducible. En éstas matrices, si hay regiones que se forman únicamente de 0, se simplifican a 0; si contiene 0 y 1, se simplifican como 1; si tienen 0 y -1, se simplifican como -1; y si tienen 1 y -1, se simplifican como ± 1 . Estas regiones definen conjuntos de nodos que pueden agruparse en cúmulos y formar las matrices simplificadas $C_{Mods\#}$. En la red reducida, las flechas indican la entrada 1 en la matriz simplificada, las barras la entrada 0 y las aristas simples la entrada ± 1 .

Con las matrices de distancias geodésicas y de Euler, podemos saber qué nodos son equivalentes. En conjunto, la información contenida en las matrices nos dice, a nivel biológico, qué variables son más importantes y qué otras pueden ser removibles o no son indispensables para la descripción del sistema.

7.5.1 Modelos 1 y 2

Para ambos modelos, la red tiene una densidad de $\rho = \frac{21}{72} = 0.29167$, lo cual indica que la conectividad es baja. Y las matrices de adyacencia, distancia geodésica y Euleriana son iguales, ya que no se quitan o añaden aristas, sino que sólo cambian el tipo de una interacción.

El orden de las entradas para todas las matrices, es: Aux, IAA, ARF, PLT, WOX5, MGP, JKD, SCR, SHR.

Matriz de adyacencia:

$$\mathbf{A}_{Mods12} = \left(\begin{array}{cccc|cccc} 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 \\ \hline 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & \pm 1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \\ \hline 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 1 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 1 & 1 \end{array} \right)$$

Matriz simplificada:

$$\mathbf{C}_{Mods12} = \begin{pmatrix} \pm 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & -1 & 0 & \pm 1 \\ 0 & 1 & 1 & 1 \end{pmatrix}$$

De acuerdo con éstas matrices, la RRG queda entonces dividida en las regiones mostradas en la figura 7.1, y podemos construir la red reducida que se muestra en la figura 7.2.

La matriz de distancias geodésicas queda de la siguiente manera:

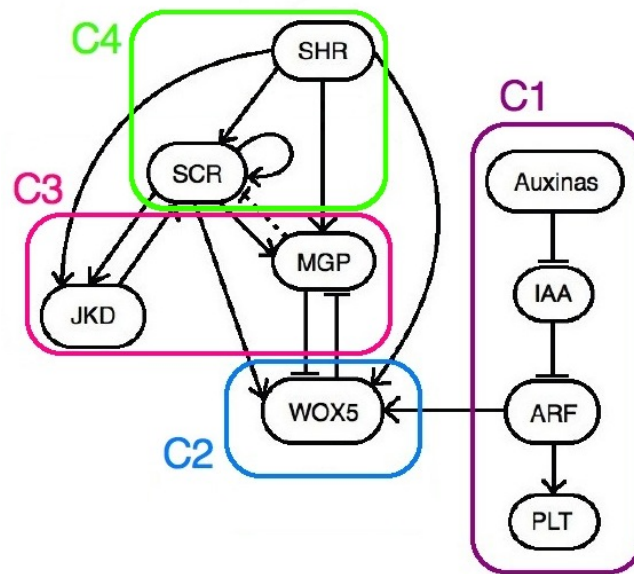


Figura 7.1: RRG reducida para los modelos 1 y 2.

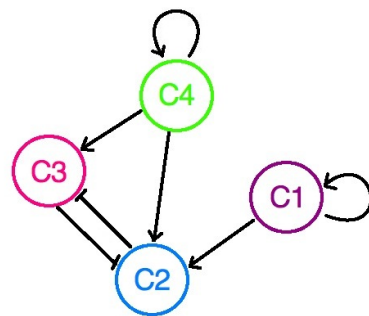


Figura 7.2: Cúmulos formados para las RRG de los modelos 1 y 2.

$$\mathbf{G}_{Mods12} = \begin{pmatrix} 0 & 1 & 2 & 3 & 3 & 4 & 6 & 5 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 2 & 2 & 3 & 5 & 4 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 2 & 4 & 3 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 2 & 1 & 3 & 2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 2 & 2 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 2 & 2 & 2 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 1 & 2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 1 & 1 & 0 \end{pmatrix}$$

Con los datos de éstas matrices podemos dar la centralidad de grado:

$$\begin{aligned} C_D(1) &= \frac{2}{8} = 0.25 \\ C_D(2) &= \frac{1}{8} = 0.125 \\ C_D(3) &= \frac{2}{8} = 0.25 \\ C_D(4) &= \frac{1}{8} = 0.125 \\ C_D(5) &= \frac{2}{8} = 0.25 \\ C_D(6) &= 0 \\ C_D(7) &= 0 \\ C_D(8) &= \frac{1}{8} = 0.125 \end{aligned}$$

Para construir la matriz de distancias de Euler, se requiere del número de nodos alcanzables por cada nodo, la matriz Z_{ij} y la matriz F_{ij} , que indica la cantidad de nodos a una distancia menor o igual que la existente entre los nodos x_i y x_j .

$$\mathbf{F}_{Mods12} = \begin{pmatrix} 0 & 1 & 2 & 4 & 4 & 5 & 7 & 6 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 3 & 3 & 4 & 6 & 5 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 2 & 2 & 3 & 5 & 3 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 4 & 3 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 2 & 4 & 4 & 2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 4 & 4 & 4 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 3 & 3 & 4 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 4 & 4 & 4 & 4 & 0 \end{pmatrix}$$

$$\mathbf{Z}_{Mods12} = \begin{pmatrix} 1.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 \\ 0.86 & 1.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 \\ 0.71 & 0.83 & 1.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 \\ 0.43 & 0.50 & 0.60 & 1.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 \\ 0.43 & 0.50 & 0.60 & 0.00 & 1.0 & 0.50 & 0.00 & 0.25 & 0.00 \\ 0.29 & 0.33 & 0.40 & 0.00 & 0.75 & 1.00 & 0.00 & 0.25 & 0.00 \\ 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 1.00 & 0.25 & 0.00 \\ 0.14 & 0.17 & 0.40 & 0.00 & 0.25 & 0.50 & 0.75 & 1.00 & 0.00 \\ 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 1.00 \end{pmatrix}$$

Por lo que D_{ij} queda de la siguiente manera:

$$\mathbf{D}_{Mods12} = \begin{pmatrix} 0.00 & 0.87 & 1.44 & 1.52 & 1.66 & 1.59 & 1.46 & 1.61 & 1.31 \\ 0.87 & 0.00 & 0.89 & 1.37 & 1.49 & 1.51 & 1.56 & 1.63 & 1.44 \\ 1.44 & 0.89 & 0.00 & 1.11 & 1.17 & 1.26 & 1.51 & 1.54 & 1.50 \\ 1.53 & 1.37 & 1.11 & 0.00 & 0.97 & 1.10 & 1.19 & 1.14 & 0.89 \\ 1.67 & 1.49 & 1.17 & 0.97 & 0.00 & 0.46 & 1.36 & 1.05 & 1.32 \\ 1.59 & 1.51 & 1.26 & 1.10 & 0.46 & 0.00 & 1.11 & 1.02 & 1.22 \\ 1.46 & 1.56 & 1.51 & 1.19 & 1.36 & 1.10 & 0.00 & 0.95 & 0.79 \\ 1.61 & 1.63 & 1.54 & 1.14 & 1.05 & 1.02 & 0.95 & 0.00 & 1.13 \\ 1.31 & 1.44 & 1.50 & 0.89 & 1.32 & 1.21 & 0.79 & 1.13 & 0.00 \end{pmatrix}$$

Los valores más bajos, fuera de la diagonal, se encuentran en las entradas D_{12} , D_{21} , D_{23} , D_{32} , D_{45} , D_{49} , D_{54} , D_{56} , D_{65} , D_{78} , D_{87} , D_{94} y D_{97} por lo que los nodos 1, 2 y 3 son equivalentes, y los 4, 5, 6, 7, 8 y 9 son equivalentes. Esto refuerza la separación de la red en cúmulos pero favorece la formación de sólo 2, uno que engloba a Aux, IAA y ARF, y otro a todos los demás.

La centralidad de intermediación podemos medirla para cada nodo. Por tratarse de una red dirigida, el factor B de la ecuación 3.6 está dado como $(N-1)(N-2)$, por lo que $B=56$.

$$\begin{aligned} C_B(Aux) &= 0 \\ C_B(IAA) &= \frac{6}{56} = 0.1071 \\ C_B(ARF) &= \frac{10}{56} = 0.1786 \\ C_B(PLT) &= 0 \\ C_B(WOX5) &= \frac{9}{56} = 0.1607 \\ C_B(MGP) &= \frac{8}{56} = 0.1429 \\ C_B(SCR) &= \frac{5}{56} = 0.0893 \\ C_B(JKD) &= 0 \\ C_B(SHR) &= 0 \end{aligned}$$

Esto quiere decir que los nodo de mayor centralidad y que controlan el tránsito de información son ARF, *WOX5* y *MGP*.

7.5.2 Modelos 3 y 4

Para ambos modelos, la red tiene una densidad de $\rho = \frac{24}{90} = 0.267$, lo cual indica que la conectividad es aún menor que para los modelos 1 y 2. Y las matrices de adyacencia, distancia geodésica y Euleriana son iguales, ya que no se quitan o añaden aristas, sino que sólo cambian el tipo de una interacción.

El orden de las entradas para todas las matrices, es {Aux, IAA, ARF, PLT, *WOX5*, *MGP*, *JKD*, *SCR*, *SHR*, *CLEX*}.

Matriz de adyacencia:

$$\mathbf{A}_{Mods34} = \left(\begin{array}{cccc|cccc|c} 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ \hline 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \pm 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ \hline 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 1 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 1 & 1 & 0 \\ \hline 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{array} \right)$$

Como puede notarse, si cambiamos el orden de las entradas a: {Aux, IAA, ARF, PLT, WOX5, CLEX, MGP, JKD, SCR, SHR}, formamos una matriz \mathbf{A}^*_{Mods34} que puede separarse en cuatro regiones distinguibles, que forman la matriz simplificada \mathbf{C}_{Mods34} .

$$\mathbf{A}^*_{Mods34} = \left(\begin{array}{cccc|cc|cc|cc} 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \pm 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ \hline 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 1 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 1 & 1 & 1 & 0 \end{array} \right)$$

$$\text{Matriz simplificada: } \mathbf{C}^*_{Mods34} = \begin{pmatrix} \pm 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & \pm 1 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \pm 1 \\ 0 & \pm 1 & 1 & 1 \end{pmatrix}$$

De acuerdo con éstas matrices, la RRG queda entonces dividida en las regiones mostradas en la figura 7.4, y podemos construir la red reducida que se muestra en la figura 7.3.

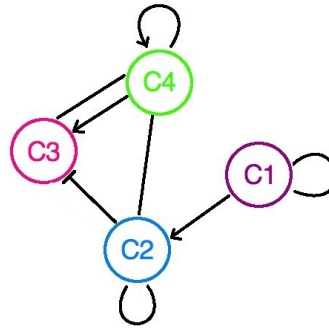


Figura 7.3: Cúmulos formados para las RRG de los modelos 3 y 4.

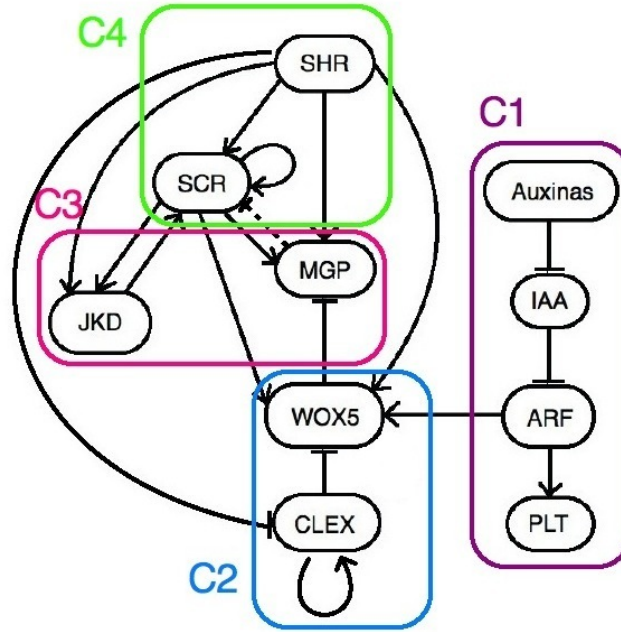


Figura 7.4: RRG reducida para los modelos 3 y 4.

Para las siguientes matrices, volvemos al siguiente orden de las variables: {Aux, IAA, ARF, PLT, WOX5, MGP, JKD, SCR, SHR, CLEX}. De esta forma, la matriz de distancias geodésicas queda de la siguiente manera:

$$\mathbf{G}_{Mod34} = \begin{pmatrix} 0 & 1 & 2 & 3 & 3 & 4 & 6 & 5 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 2 & 2 & 3 & 5 & 4 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 2 & 4 & 3 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 3 & 2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 2 & 2 & 2 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 2 & 2 & 2 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 1 & 2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 1 & 1 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 2 & 4 & 3 & 0 & 2 \end{pmatrix}$$

Con los datos de éstas matrices podemos dar la centralidad de grado:

$$\begin{aligned} C_D(1) &= \frac{2}{8} = 0.25 \\ C_D(2) &= \frac{1}{8} = 0.125 \\ C_D(3) &= \frac{1}{8} = 0.25 \\ C_D(4) &= \frac{1}{8} = 0.25 \\ C_D(5) &= \frac{1}{8} = 0.25 \\ C_D(6) &= 0 \\ C_D(7) &= 0 \\ C_D(8) &= \frac{1}{8} = 0.125 \end{aligned}$$

Para la matriz de distancias de Euler, primero construimos las matrices Z_{ij} y F_{ij} .

$$\mathbf{F}_{Mod34} = \begin{pmatrix} 0 & 1 & 2 & 4 & 4 & 5 & 7 & 6 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 3 & 3 & 4 & 6 & 5 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 2 & 2 & 3 & 5 & 3 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 4 & 1 & 4 & 2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 4 & 4 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 4 & 4 & 4 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 3 & 3 & 3 & 4 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 5 & 5 & 5 & 5 & 0 & 5 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 3 & 5 & 4 & 0 & 3 \end{pmatrix}$$

$$\mathbf{Z}_{Mod34} = \begin{pmatrix} 1.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 \\ 0.86 & 1.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 \\ 0.71 & 0.83 & 1.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 \\ 0.43 & 0.50 & 0.60 & 1.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 \\ 0.43 & 0.50 & 0.60 & 0.00 & 1.00 & 0.00 & 0.00 & 0.25 & 0.00 & 0.80 \\ 0.29 & 0.33 & 0.40 & 0.00 & 0.75 & 1.00 & 0.00 & 0.25 & 0.00 & 0.40 \\ 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 1.00 & 0.25 & 0.00 & 0.00 \\ 0.14 & 0.17 & 0.40 & 0.00 & 0.50 & 0.75 & 0.75 & 1.00 & 0.00 & 0.20 \\ 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 1.00 & 0.00 \\ 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 0.00 & 1.00 \end{pmatrix}$$

Por lo que D_{ij} queda de la siguiente manera:

$$\mathbf{D}_{Mod34} = \begin{pmatrix} 0.00 & 0.87 & 1.44 & 1.52 & 1.62 & 1.72 & 1.46 & 1.76 & 1.31 & 1.26 \\ 0.87 & 0.00 & 0.89 & 1.37 & 1.44 & 1.66 & 1.56 & 1.77 & 1.44 & 1.33 \\ 1.44 & 0.89 & 0.00 & 1.11 & 1.05 & 1.44 & 1.51 & 1.69 & 1.50 & 1.28 \\ 1.52 & 1.37 & 1.11 & 0.00 & 0.93 & 1.13 & 1.19 & 1.34 & 0.89 & 1.28 \\ 1.62 & 1.44 & 1.05 & 0.93 & 0.00 & 0.84 & 1.19 & 1.32 & 1.29 & 1.31 \\ 1.72 & 1.66 & 1.44 & 1.13 & 0.84 & 0.00 & 0.96 & 1.02 & 1.24 & 1.44 \\ 1.46 & 1.56 & 1.51 & 1.19 & 1.19 & 0.95 & 0.00 & 1.18 & 0.79 & 1.08 \\ 1.76 & 1.77 & 1.70 & 1.34 & 1.32 & 1.02 & 1.18 & 0.00 & 1.33 & 1.42 \\ 1.31 & 1.44 & 1.50 & 0.89 & 1.29 & 1.24 & 0.79 & 1.33 & 0.00 & 0.92 \\ 1.26 & 1.33 & 1.28 & 1.28 & 1.31 & 1.44 & 1.08 & 1.42 & 0.92 & 0.00 \end{pmatrix}$$

Los valores más bajos, fuera de la diagonal, se encuentran en las entradas D_{12} , D_{21} , D_{23} , D_{32} , D_{45} , D_{49} , D_{54} , D_{56} , D_{65} , D_{67} , D_{76} , D_{79} , D_{94} , D_{97} y D_{910} , por lo que los nodos 1,2 y 3 son equivalentes; los 4, 5, 6, 7, 9 y 10 son equivalentes; y el nodo 8 queda sólo, así que no es equiparable con otro. Esto refuerza la separación de la red en cúmulos pero favorece la formación de 2, uno que engloba a Aux, IAA y ARF, y otro a todos los demás, menos SCR. Éste último es más semejante a JKD, así que podría unirse al segundo cúmulo.

La centralidad de intermediación podemos medirla para cada nodo. Por tratarse de una red dirigida, el factor B de la ecuación 3.6 está dado como $(N-1)(N-2)$, por lo que $B=72$.

$$\begin{aligned}
C_B(Aux) &= 0 \\
C_B(IAA) &= \frac{6}{72} = 0.0833 \\
C_B(ARF) &= \frac{10}{72} = 0.1389 \\
C_B(PLT) &= 0 \\
C_B(WOX5) &= \frac{12}{72} = 0.1667 \\
C_B(MGP) &= \frac{10}{72} = 0.1389 \\
C_B(SCR) &= \frac{6}{72} = 0.0833 \\
C_B(JKD) &= 0 \\
C_B(SHR) &= 0 \\
C_B(CLEX) &= 0
\end{aligned}$$

Esto quiere decir que los nodos de mayor centralidad y que controlan el tránsito de información son ARF, *WOX5* y *MGP*.

Para todos los modelos, las longitudes de trayectoria son en promedio menor a cuatro y hay redundancia de trayectorias, así que todas las redes responden rápidamente ante perturbaciones, por lo que son robustas.

7.6 Sensibilidad de resultados al parámetro “h”

En la ecuación 6.3 se expresa la dependencia del parámetro “h” o ganancia, que indica qué tan rápido se transita de nivel de activación cero a uno, dependiendo del valor de w_i . Con el fin de encontrar si algunos atractores encontrados en el modelo continuo desaparecerían al incrementar la ganancia, se hicieron corridas para valores de 10 a 100, en intervalos de 10.

Como resultado obtuvimos que para todos los modelos, sin importar el valor de “h”, se obtienen los mismos atractores.

7.7 Gráficas de evolución

Conociendo el número de iteraciones necesarias, se modeló la evolución del sistema y trazamos algunas gráficas de evolución para cada modelo.

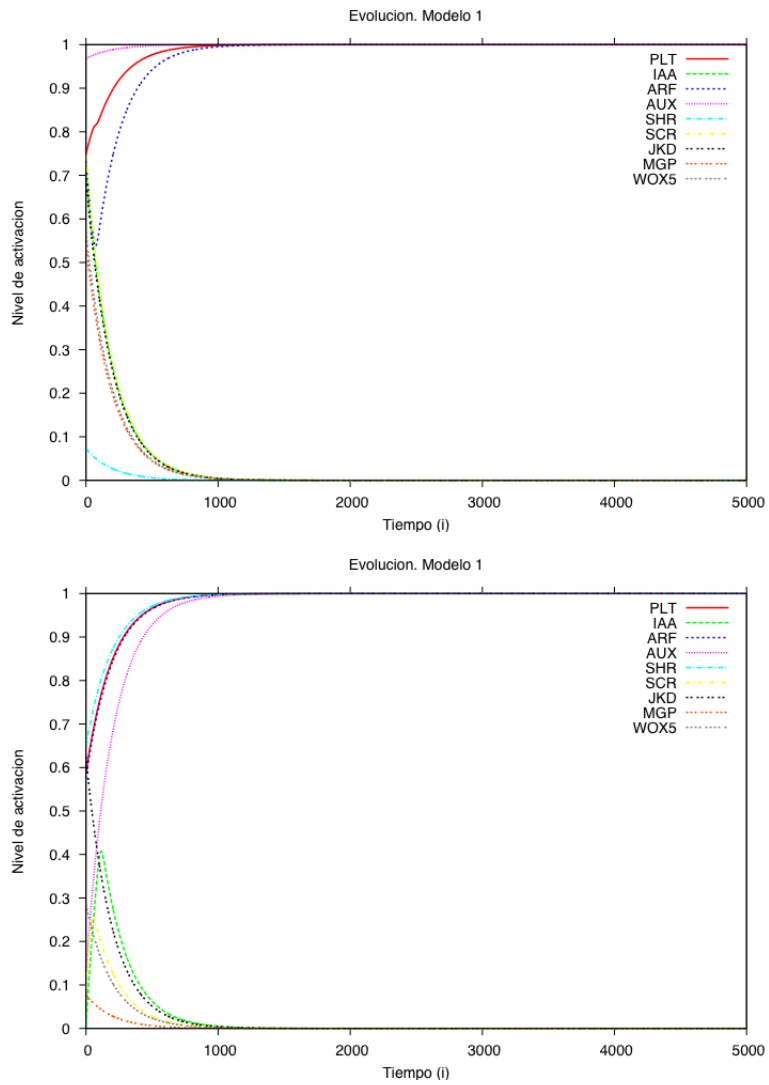


Figura 7.5: Gráficas de evolución para algunas condiciones iniciales aleatorias en el Modelo 1.

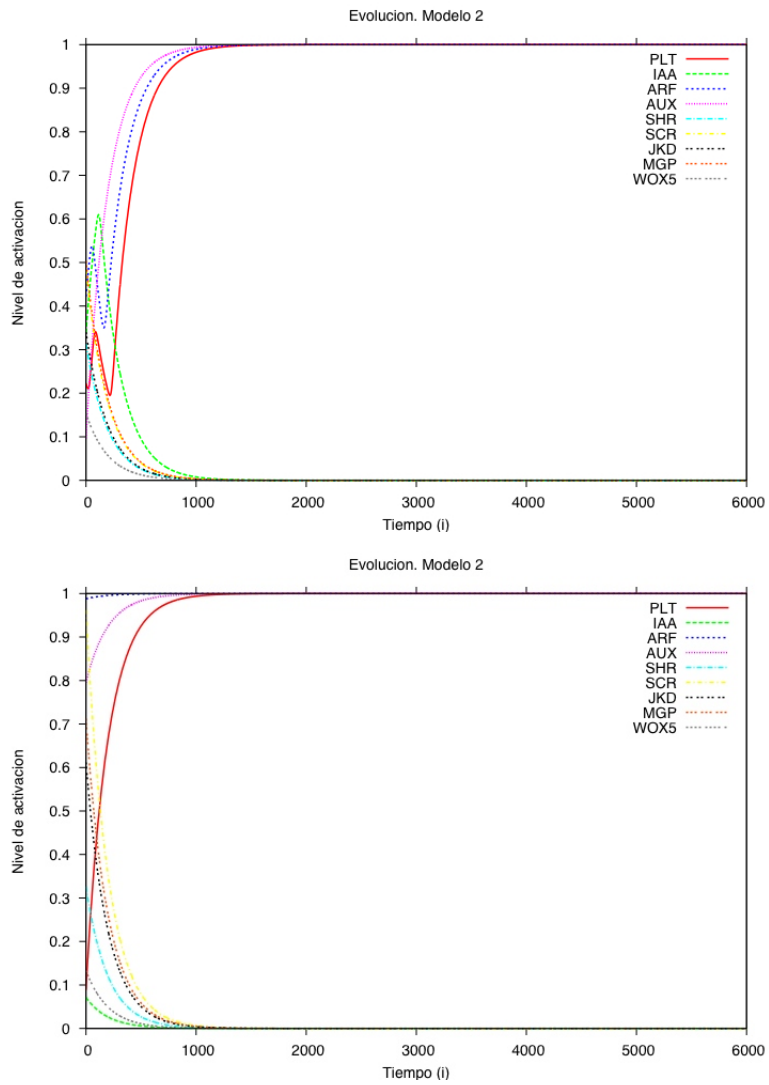


Figura 7.6: Gráficas de evolución para algunas condiciones iniciales aleatorias en el Modelo 2.

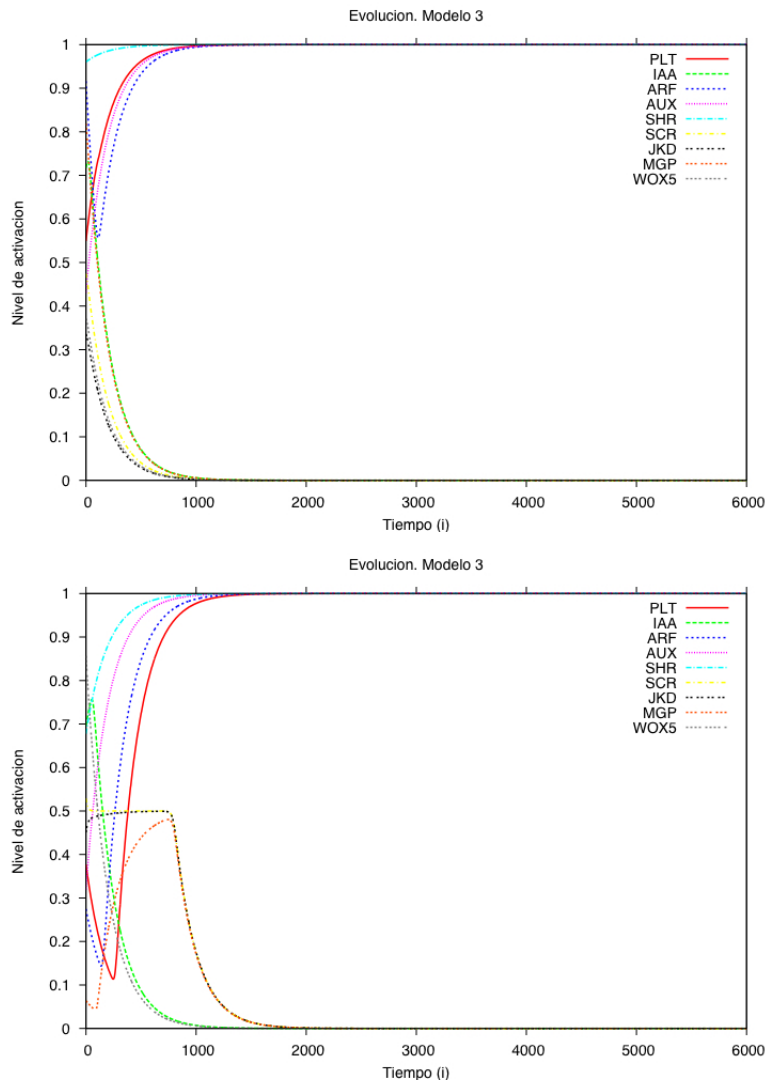


Figura 7.7: Gráficas de evolución para algunas condiciones iniciales aleatorias en el Modelo 3.

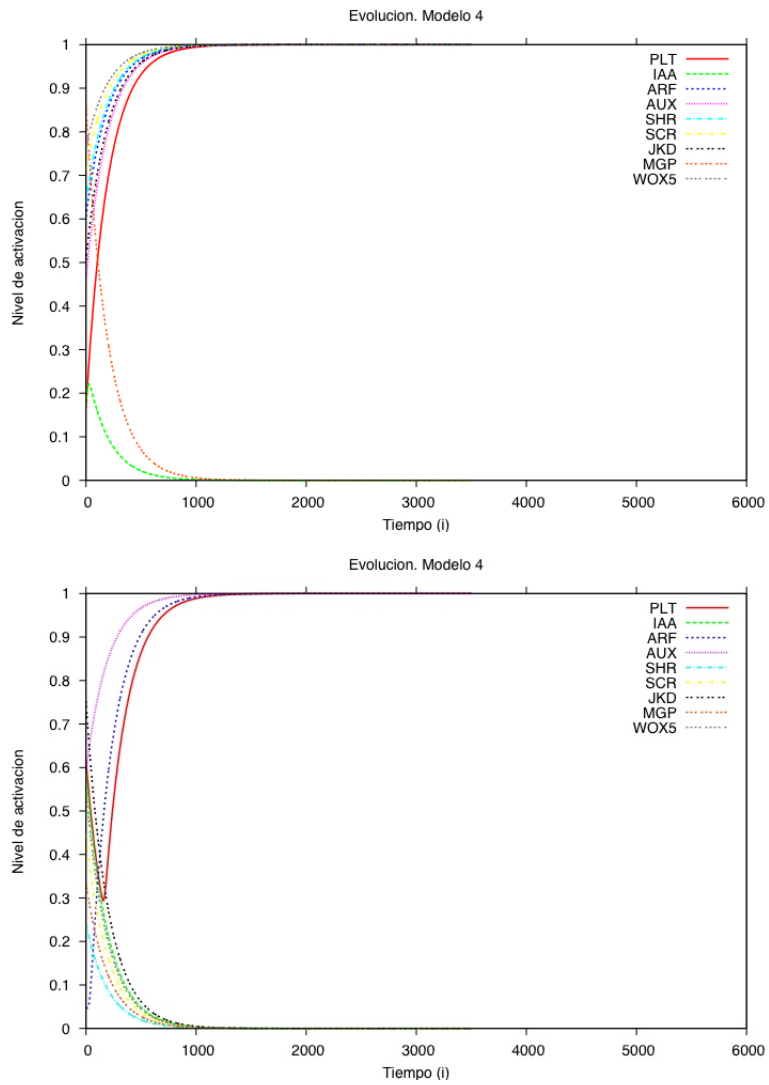


Figura 7.8: Gráficas de evolución para algunas condiciones iniciales aleatorias en el Modelo 4.

Capítulo 8

Conclusiones

El estudio del nicho de células troncales en la raíz de *Arabidopsis thaliana* es relevante para entender los procesos de diferenciación, formación de patrones y porque todos los organismos multicelulares presentan similitudes en la dinámica de estos nichos, que permiten mantener la producción de nuevas células durante la morfogénesis.

La teoría de redes es eficiente para modelar sistemas complejos como los biológicos, pues permite trabajar sistemas con elementos de diferente clase y con interacciones de tipo no-lineal (Newman *et al.*, 2006). La construcción de cada red ligada a un sistema biológico, refleja su historia evolutiva, es decir la forma en que se fueron seleccionando y fijando algunas interacciones (Barabási & Reka, 1999). Así pues, el descubrimiento de mecanismos regulatorios, o motivos dentro de una RRG, similares en los nichos de SC de diferentes organismos, permitiría entender procesos evolutivos que afectan el fenotipo.

La generación de modelos dinámicos, ya sean discretos o continuos, permite generar nuevas hipótesis sobre el sistema, para su posterior verificación experimental. Sin embargo, las posibilidades de interpretación son diferentes en cada caso; por ejemplo, los sistemas Booleanos son más útiles cuando los elementos de la red están sujetos a la acción de activadores e inhibidores sin perfiles de activación graduales.

Aunque algunos sistemas biológicos podrían suponerse discretos en un principio, la intervención de otros agentes que actúan como campos continuos (díganse hormonas, proteínas, factores de transcripción, etc.), implica la necesidad de formular modelos híbridos. Así pues, el estudio comparativo de ambos tipos de modelos muestra diferencias cualitativas en la dinámica del sistema, permitiendo echar luz sobre algunas hipótesis.

De las cuatro RRGs propuestas, en la dinámica discreta se encontró que todas son configuraciones que recuperan los perfiles observados de los tipos celulares y mutantes del MAR descritos hasta ahora. De la dinámica continua podemos decir que los modelos 3 y 4 resultan ser más robustos, pues eliminan la aparición del atractor inestable y de valores de activación intermedio que aparece en los modelos 1 y 2, por lo que las RRGs que los describen, son más robustas y muestran un comportamiento más estable. Al parecer, los modelos continuos son robustos ante cambios en el factor de ganancia “h”, ya que para valores entre 10 y 100, el comportamiento es cualitativamente el mismo.

Los resultados de estabilidad en nuestras redes, con el análisis de los exponentes de Lyapunov y de

los eigenvalores de la matriz Jacobiana, muestran que todos los modelos muestran comportamiento estable y que tienden a puntos fijos. Como el modelo 2 presenta atractores sin referente biológico real, sólo queda el modelo 4 como el más robusto. Esto favorece las hipótesis de inhibición de *WOX5* sobre *MGP* y la acción indirecta de *CLEX*.

Conjuntando los resultados obtenidos en los cuatro modelos, podemos decir que a las suposiciones sobre *MGP* y *WOX5* les falta información, pero que al introducir las interacciones con *CLEX*, la información es suficiente para obtener los cuatro atractores relacionados con los cuatro tipos celulares en los que se diferencian las células meristemáticas en el nicho *MAR*, salvo por un estado tipo células vasculares iniciales, que puede considerarse válido pues difiere sólo en *CLEX*, para el que no hay evidencia experimental contundente.

Las RRGs planteadas, pueden dividirse en dos subgrafos o cúmulos, uno que comprende la vía de Auxinas, *IAA* y *ARF* y otro que comprende al resto de nodos, pero comunicados a través de *WOX5* y *ARF*. Esto tiene referencia con las dos vías de regulación planteadas para el NCT del *MAR*: una encargada de la simetría radial y otra de la axial.

Las comparaciones entre los diferentes modelos permiten predicciones sobre la necesidad y suficiencia de interacciones particulares entre genes que podrán no haber sido vistas sin tales herramientas de simulación, y que son útiles para detectar contradicciones publicadas en interpretaciones de datos experimentales, así como para detectar huecos en la evidencia disponible.

Ya que algunos de los elementos considerados en estas redes se encuentran en otros sitios de la planta, resultaría interesante crear, en un futuro cercano, modelos espacio-temporales híbridos y hacer estudios comparativos con el nicho *MAVA*, que ha sido ampliamente estudiado por E.R. Alvarez-Buylla *et al.*

APÉNDICE A. Principios biológicos

ADN y ARN

El ADN y el ARN son ácidos nucleicos. Los ácidos nucleicos son macromoléculas formadas por nucleótidos, que a su vez están formados por un grupo fosfato, una base nitrogenada y un azúcar de cinco carbonos (pentosa), que para el ARN es la ribosa y para el ADN es la desoxirribosa.

El ARN o ácido ribonucleico dirige las etapas intermedias de la síntesis proteica, y está formado por una cadena de nucleótidos que pueden ser adenina (A), guanina (G), citosina (C) y uracilo (U). El ADN o ácido desoxirribonucleico está formado por dos cadenas de nucleótidos unidas por enlaces de hidrógeno (pares de bases). Los nucleótidos que forman estas cadenas pueden ser las purinas adenina (A) y guanina (G), y las pirimidinas timina (T) y citosina (C).

El ADN contiene el material genético y las instrucciones para la síntesis de proteínas en las células, y está organizado en genes, o segmentos que pueden copiarse como algún tipo de ARN a través del proceso de transcripción, más algunas regiones adyacentes en el mismo ADN que regulan dicho proceso. Los segmentos de ARN producidos en la transcripción, dan lugar a las proteínas, al indicar la secuencia particular de aminoácidos en una cadena de péptidos. A su vez las enzimas, que son proteínas catalíticas, regulan las reacciones metabólicas al actuar como catalizadores, por lo que los genes determinan algunas o todas las funciones celulares de los organismos.

Existen varios tipos de ARN y la mayor parte se sintetiza por medio de ARN polimerasas dependientes de ADN, que son enzimas similares a la ADN polimerasa (enzima que se encarga de la replicación del ADN al sintetizar nuevos poli-nucleótidos) y usan trifosfato de nucleósido como sustrato para extraer dos fosfatos y enlazar subunidades de forma covalente con el extremo 3' del ARN. Algunos tipos de ARN regulan la expresión génica, mientras que otros tienen actividad catalítica. La estructura del ARN tiene un extremo que indica la iniciación de la traducción, denotado como 3' y un sitio de terminación denotado como 5'.

En el núcleo de las células eucarióticas, el material genético debe replegarse y empacarse con ayuda de proteínas, organizándose en estructuras filamentosas llamadas cromosomas, que están formados en un 60% por fibras de proteínas, 35% por ADN y 5% por ARN. Cada par de cromosomas es morfológicamente diferente de los otros. En las procariontas hay típicamente un círculo de ADN y pocas proteínas asociadas.

Para organismos eucarióticos que se reproducen de forma sexual, las células encargadas de la

reproducción reciben el nombre de células sexuales o gametos, y el resto son las células somáticas. En las células somáticas los cromosomas vienen por pares y cada uno recibe el nombre de cromosoma homólogo; estos son similares en tamaño, forma y posición del centrómero. Al conjunto formado por un cromosoma de cada tipo se le llama juego de cromosomas. Los cromosomas homólogos transportan la información necesaria para controlar los rasgos genéticos en la descendencia. Si una célula tiene dos juegos de cromosomas se le llama diploide y si tiene sólo un conjunto, haploide (este es el caso de los gametos). Cuando se tienen más de dos juegos de cromosomas, se dice que la célula es poliploide.

Cada cromosoma puede contener gran cantidad de genes; el sitio que cada gen ocupa en el cromosoma recibe el nombre de locus (un conjunto de locus es un loci). Las diferentes formas en que se expresa un gen se denominan alelos y ocupan loci diferentes en cromosomas homólogos, por lo que los genes existen como pares de alelos en los individuos diploides. Los individuos con dos alelos idénticos para un mismo locus se denominan homocigotos para ese locus, mientras que si los alelos son diferentes, se dice que son heterocigotos.

En los individuos heterocigotos, la expresión de un alelo puede enmascarar la de otro, por lo que se clasifica a los alelos como dominantes o recesivos. Por esta razón, un individuo heterocigoto puede tener el mismo fenotipo que el de un homocigoto, a pesar de tener distinta información genética o genotipo. La dominancia total de un alelo sobre otro ocurre porque, en muchas ocasiones, tener una fracción de la cantidad de una enzima basta para producir cantidades normales de otras sustancias.

La relación entre el genotipo y el fenotipo puede ser más compleja. Por ejemplo, un gen puede tener varios efectos o pleiotropía; o puede presentar epistasis, que es un tipo de interacción entre genes en la que un alelo específico determina si otros alelos de otro par de genes serán expresados; o bien múltiples pares de genes pueden tener efectos parecidos y aditivos para una misma cualidad, en lo que se conoce como herencia poligenética.

La información contenida en los genes se expresa en la producción de proteínas a través de ARN mediante los procesos de traducción y transcripción.

Mutaciones

Durante la duplicación del DNA puede haber errores que produzcan cambios en la secuencia de nucleótidos, alterando los genes y produciendo lo que se conoce como mutaciones. Los errores pueden ocurrir por agentes físicos externos (luz UV, rayos X, etc.), mutágenos químicos, errores en la duplicación de DNA o genes saltarines (transposones), y pueden repararse por sistemas enzimáticos. Las mutaciones pueden ser puntuales (de sentido falso o equivocado, o sin sentido) o por cambios de estructura, y su probabilidad de ocurrencia es diferente para cada sitio del DNA.

Las mutaciones puntuales son aquellas en que sólo se cambia un par de nucleótidos, produciendo el cambio de un codón. Son de sentido falso cuando se produce un codón que sintetiza un aminoácido diferente, y sin sentido cuando el codón modificado es de terminación.

Las mutaciones por cambio de estructura son aquellas en que se insertan o eliminan pares de nucleótidos en el DNA, resultando en la producción de una serie totalmente distinta de aminoácidos que suele provocar la inactivación de enzimas y puede tener consecuencias fulminantes.

APÉNDICE B. Entradas de las matrices Jacobianas

Modelos 1 y 2

$$\begin{aligned}
 f_1 &= -\frac{ae^{-a(-0.5+x3)}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+x3)})} + \frac{ae^{-a(-0.5+x3)}(-e^{a/2}+e^{-a(-0.5+x3)})}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+x3)})^2} \\
 f_2 &= \frac{ae^{-a(0.5-x4)}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(0.5-x4)})} - \frac{ae^{-a(0.5-x4)}(-e^{a/2}+e^{-a(0.5-x4)})}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(0.5-x4)})^2} \\
 f_3 &= \frac{ae^{-a(0.5-x2)}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(0.5-x2)})} - \frac{ae^{-a(0.5-x2)}(-e^{a/2}+e^{-a(0.5-x2)})}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(0.5-x2)})^2} \\
 f_4 &= -1 - \frac{ae^{-a(-0.5+x5)}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+x5)})} + \frac{ae^{-a(-0.5+x5)}(-e^{a/2}+e^{-a(-0.5+x5)})}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+x5)})^2} \\
 f_5 &= -\frac{ae^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])} \frac{\partial y6}{\partial x5}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])})} + \frac{ae^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])}(-e^{a/2}+e^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])}) \frac{\partial y6}{\partial x5}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])})^2} \\
 f_6 &= -1 - \frac{ae^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])} \frac{\partial y6}{\partial x6}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])})} + \frac{ae^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])}(-e^{a/2}+e^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])}) \frac{\partial y6}{\partial x6}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])})^2} \\
 f_7 &= -\frac{ae^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])} \frac{\partial y6}{\partial x7}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])})} + \frac{ae^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])}(-e^{a/2}+e^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])}) \frac{\partial y6}{\partial x7}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])})^2} \\
 f_8 &= -\frac{ae^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])} \frac{\partial y6}{\partial x8}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])})} + \frac{ae^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])}(-e^{a/2}+e^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])}) \frac{\partial y6}{\partial x8}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y6[x5,x6,x7,x8])})^2} \\
 f_9 &= -\frac{ae^{-a(-0.5+y7[x5,x6])} \frac{\partial y7}{\partial x5}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y7[x5,x6])})} + \frac{ae^{-a(-0.5+y7[x5,x6])}(-e^{a/2}+e^{-a(-0.5+y7[x5,x6])}) \frac{\partial y7}{\partial x5}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y7[x5,x6])})^2} \\
 f_{10} &= -\frac{ae^{-a(-0.5+y7[x5,x6])} \frac{\partial y7}{\partial x6}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y7[x5,x6])})} + \frac{ae^{-a(-0.5+y7[x5,x6])}(-e^{a/2}+e^{-a(-0.5+y7[x5,x6])}) \frac{\partial y7}{\partial x6}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y7[x5,x6])})^2} \\
 f_{11} &= -\frac{ae^{-a(-0.5+y8[x5,x6,x9])} \frac{\partial y8}{\partial x5}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y8[x5,x6,x9])})} + \frac{ae^{-a(-0.5+y8[x5,x6,x9])}(-e^{a/2}+e^{-a(-0.5+y8[x5,x6,x9])}) \frac{\partial y8}{\partial x5}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y8[x5,x6,x9])})^2} \\
 f_{12} &= -\frac{ae^{-a(-0.5+y8[x5,x6,x9])} \frac{\partial y8}{\partial x6}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y8[x5,x6,x9])})} + \frac{ae^{-a(-0.5+y8[x5,x6,x9])}(-e^{a/2}+e^{-a(-0.5+y8[x5,x6,x9])}) \frac{\partial y8}{\partial x6}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y8[x5,x6,x9])})^2} \\
 f_{13} &= -\frac{ae^{-a(-0.5+y8[x5,x6,x9])} \frac{\partial y8}{\partial x9}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y8[x5,x6,x9])})} + \frac{ae^{-a(-0.5+y8[x5,x6,x9])}(-e^{a/2}+e^{-a(-0.5+y8[x5,x6,x9])}) \frac{\partial y8}{\partial x9}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y8[x5,x6,x9])})^2} \\
 f_{14} &= -\frac{ae^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])} \frac{\partial y9}{\partial x3}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])})} + \frac{ae^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])}(-e^{a/2}+e^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])}) \frac{\partial y9}{\partial x3}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])})^2} \\
 f_{15} &= -\frac{ae^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])} \frac{\partial y9}{\partial x5}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])})} + \frac{ae^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])}(-e^{a/2}+e^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])}) \frac{\partial y9}{\partial x5}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])})^2} \\
 f_{16} &= -\frac{ae^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])} \frac{\partial y9}{\partial x6}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])})} + \frac{ae^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])}(-e^{a/2}+e^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])}) \frac{\partial y9}{\partial x6}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])})^2} \\
 f_{17} &= -\frac{ae^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])} \frac{\partial y9}{\partial x8}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])})} + \frac{ae^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])}(-e^{a/2}+e^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])}) \frac{\partial y9}{\partial x8}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])})^2} \\
 f_{18} &= -1 - \frac{ae^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])} \frac{\partial y9}{\partial x9}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])})} + \frac{ae^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])}(-e^{a/2}+e^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])}) \frac{\partial y9}{\partial x9}}{(1-e^{a/2})(1+e^{-a(-0.5+y9[x3,x5,x6,x8,x9])})^2}
 \end{aligned} \tag{8.0}$$

Glosario

Ácido nucleico: macromolécula formada por nucleótidos.

Almidón: carbohidrato insoluble con subunidades de glucosa.

Angiosperma: *filum* formado por plantas con flores y semillas en frutos.

Aromático, anillo: hidrocarburo cíclico cuya fórmula general es $(CH)_n$.

Aromático, hidrocarburo: hidrocarburo que tiene al menos un anillo aromático además de otros tipos de enlaces.

Auxinas: grupo de hormonas que regulan el crecimiento de las plantas por medio del alargamiento celular. Una de las auxinas más importantes es el ácido indolacético (IAA).

Azúcar: sacarosa cuya fórmula química empírica, o sintetizada, es $C_{12}H_{22}O_{11}$. Algunas veces se usa esta palabra de forma indistinta para nombrar monosacáridos y disacáridos, algunas otras se usa para referirse a carbohidratos en general.

Base nitrogenada: compuesto orgánico cíclico, que incluye más de un átomo de nitrógeno.

Carbohidrato: molécula orgánica compuesta por carbono, hidrógeno y oxígeno.

Células fundadoras: grupo mínimo de células que contribuyen exclusivamente a la formación de un órgano completo.

Citocininas: sustancias que inducen la división y la diferenciación celular, transformando células jóvenes en células maduras especializadas. Interactúan con auxinas en la formación de raíces y tallos, y en el control de la dominancia apical. Promueven el crecimiento de yemas laterales y retardan la senescencia o envejecimiento celular.

Centro Organizador de Microtúbulos (MTOC): región de la célula de donde radian los microtúbulos del huso mitótico. En células vegetales superiores el MTOC consta de material fibrilar denso con poca estructura, mientras que en animales hay un centriolo rodeado de una nube de material pericentriolar a la mitad de cada MTOC.

Centrómero: región de las cromátides hermanas que tiene una estructura llamada cinetocoro, al cual pueden unirse los microtúbulos.

Cíclico, hidrocarburo: hidrocarburos de cadena cerrada.

Dicotiledónea: angiosperma que tienen dos valvas embrionarias, o cotiledones.

Disacárido: carbohidrato formado por dos monosacáridos.

Distal: sitio que está lejos del centro, o punto de referencia, de un cuerpo.

Estado estacionario: valores de un conjunto de variables en el que se cumple con la igualdad $\frac{dx_i}{dt} = 0$, es decir que no cambian en el tiempo.

Etileno: hormona gaseosa que inhibe el alargamiento celular, promueve la germinación, controla la senescencia, y en combinación con auxinas induce la abscisión foliar.

Eucariota: célula con organelos, que almacena su material genético en el núcleo celular. Protistas, plantas, hongos y animales están formados por este tipo de células.

Fenotipo: características morfológicas, fisiológicas y rasgos bioquímicos de un organismo, modificables por el ambiente.

Fructosa: monosacárido naturalmente encontrado en frutas y miel, con la misma fórmula empírica que la glucosa pero con diferente estructura.

Genotipo: conjunto de genes, o genoma, que junto con la acción ambiental codifican el fenotipo de un organismo.

Glucosa: monosacárido de seis carbonos.

Heterocíclico, compuesto: compuesto en el que hay al menos un átomo distinto al carbono dentro de la estructura cíclica.

Hidrocarburo: compuesto orgánicos formados por una cadena de átomos de carbono a la que se unen átomos de hidrógeno. Se dividen en aromáticos y alifáticos.

Huso mitótico: estructura celular formada básicamente por microtúbulos, que separa los cromosomas durante la anafase. Las células animales y vegetales son diferentes en la formación del huso pues tienen diferencias estructurales en el Centro Organizador de Microtúbulos.

Meristemo: conjunto de células que permanecen mitóticamente activas.

Monocotiledónea: angiosperma que tienen un sólo cotiledón o valva embrionaria.

Monómero: molécula de masa molecular pequeña.

Monosacárido: carbohidrato más sencillo que no se descompone para formar otros compuestos. Su fórmula empírica es CH_2O_n , con n mayor o igual a tres.

Nucleótido: molécula orgánica formada por una pentosa (ribosa o desoxirribosa), una base nitrogenada (purinas o pirimidinas) y un grupo fosfato.

Órgano: Complejos formados por combinaciones de tejidos.

Pentosa: monosacárido de cinco carbonos.

Pirimidina: base nitrogenada similar al benceno, pero con un anillo aromático en el que dos átomos de carbono son sustituidos por nitrógeno, en las posiciones 1 y 3.

Primordium: células precursoras de un órgano, desde que forman un grupo separado hasta el cese de la división celular en un subconjunto de células maduras diferenciadas.

Polímero: macromolécula formada por la unión de monómeros.

Procariota: células sin organelos, que tienen su material genético libre en el citoplasma. Bacterias y *archaea* se forman por este tipo de células.

Promeristemo: grupo mínimo de células iniciales capaz de formar todos los tejidos por medio de múltiples divisiones celulares (Clowes, 1954).

Purina: tipo de base nitrogenada cuya estructura está compuesta por dos hidrocarburos aromáticos fusionados, uno de seis átomos y el otro de cinco.

Sacarosa: disacárido formado por una molécula de glucosa y una de fructosa.

Sistema: red de componentes que interactúan entre sí, formando un objeto completo. También se llama así a un complejo formado de tejidos y órganos.

Tejido: conjunto de células que forman una unidad estructural y funcional. Los tejidos son simples cuando tienen un sólo tipo de célula y complejos cuando tienen dos o más tipos de células diferentes.

Uracilo: pirimidina complementaria a la adenina, con la que forma dos enlaces de hidrógeno.

Bibliografía

- [1] D. Kaplan y L. Glass, **Understanding Nonlinear Dynamics**, Springer-Verlag, 1995, USA.
- [2] C. Kühn; Master thesis. **Mathematical modeling of a Sea Urchin Gene Regulatory Network**, Max-Planck Institute for Molecular Genetics; 20/12/2006, Alemania.
- [3] S. Lang, **Introduction to Linear Algebra**, Springer-Verlag, 2000, USA.
- [4] B. Lewin; **Genes VIII**, Pearson Prentice Hall, 2004, USA.
- [5] S. H. Strogatz; **Nonlinear dynamics and chaos**, Perseus books, 1994, USA.
- [6] L. Taiz y E. Zeiger; **Plant Physiology** (Tercera edición), Sinauer Associates, 2006, USA.
- [7] C. Ville, D.W. Martin, L.R. Berg, E. P. Solomon; **Biología** (Cuarta edición), McGraw-Hill Interamericana, 1998, México.
- [8] M. Aida, D. Beis, R. Heidstra, V. Willemsen, I. Blilou, C. Galinha, L. Nussaume, Y.S. Noh, R. Amasino, B. Scheres; *The PLETHORA genes mediate patterning of the Arabidopsis root stem cell niche*; Cell **119** (1) 109-120 (2004)
- [9] R. Albert; *Network Inference, Analysis, and Modeling in Systems Biology*; The Plant Cell **19** 3327-3338 (2007)
- [10] E. R. Alvarez-Buylla, B. Garcia-Ponce, A. Garay-Arroyo; *Unique and redundant functional domains of APETALA1 and CAULIFLOWER, two recently duplicated Arabidopsis thaliana floral MADS-box genes*; J Exp Bot., **57** (12): 3099-3107 (2006)
- [11] E. R. Alvarez-Buylla, S. J. Liljegren, S. Pelaz, S. E. Gold, C. Burgeff, G. S. Ditta, F. Vergara-Silva, M. F. Yanofsky; *MADS-box gene evolution beyond flowers: expression in pollen, endosperm, guard cells, roots and trichomes*; Plant J. **24** 457-466 (2000)
- [12] E. Azpeitia, M. Benítez, I. Vega, C. Villarreal, E.R. Alvarez-Buylla; *Single-cell and coupled GRN models of cell patterning in the Arabidopsis thaliana root stem-cell niche*. Artículo en vías de publicación.
- [13] J. Barrios-González, J. G. Baños, A. Covarrubias, A. Garay-Arroyo; *Lovastatin biosynthetic genes of Aspergillus terreus are expressed differentially in solid-state and in liquid submerged fermentation*; Applied Microbiology and Biotechnology (2008)
- [14] M. Benítez, E. Balleza-Davila, A. Chaos, C. Espinosa-Soto, P. Padilla-Longoria, E.R. Alvarez-Buylla; *Gene regulatory network models for plant development*; Current Opinion in Plant Biology **10** (1) 83-91 (2007) doi: 10.1016/j.pbi.2006.11.008

- [15] I. Blilou, J. Xu, M. Wildwater, V. Willemsen, I. Paponov, I.J. Frim, R. Heidstra, M. Aida, K. Palme, B. Scheres; *The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in Arabidopsis roots*; Nature **433** (7021) 39-44 (2005)
- [16] E. Casamitjana-Martinez, H. F. Hofhuis, J. Xu, C. M. Liu, R. Heidstra, B. Scheres; *Root-specific CLE19 overexpression and the sol1/2 suppressors implicate a CLV-like pathway in the control of Arabidopsis root meristem maintenance*; Current Biology **13** 1435-1441 (2003)
- [17] A. Chaos, M. Aldana, C. Espinosa-Soto, B. Garcia-Ponce de León, A. Garay-Arroyo, E. R. Alvarez-Buylla; *From genes to flower patterns and evolution: dynamic models of gene regulatory networks*; J Plant Growth and Regulation, **25** (4): 278-289 (2006)
- [18] M. Couchman, J. Higgins, N. Tsesmetzis; *Arabidopsis Reactome: A Foundation Knowledgebase for Plant Systems Biology*; The Plant Cell **20** 1426-1436 (2008)
- [19] H. Cui, M. P. Levesque, T. Vernoux, J. W. Jung, A. J. Paquette, K. L. Gallagher, J. Y. Wang, I. Blilou, B. Scheres, P. N. Benfey; *An evolutionarily conserved mechanism delimiting SHR movement defines a single layer of endodermis in plants*; Science **316** (4823) 421-425 (2007)
- [20] L. Di Laurenzio, J. Wysocka-Diller, J. E. Malamy, L. Pysh, Y. Helariutta, G. Freshour, M. G. Hahn, K. A. Feldmann, P. N. Benfey; *The SCARECROW gene regulates an asymmetric cell division that is essential for generating the radial organization of the Arabidopsis root.*; Cell **86** (3) 423-33 (1996)
- [21] J. R. Dinneny, P. N. Benfey; *Plant Stem Cell Niches: Standing the Test of Time*; Cell **132** 553-557 (2008) doi: 10.1016/j.cell.2008.02.001
- [22] A. N. Eckardt (Senior Features Editor); *A High-Resolution Map of Auxin Distribution in the Arabidopsis Root Apex*; The Plant Cell **21** 1621(2009) www.plantcell.org/cgi/doi/10.1105/tpc.109.210610
- [23] C. Espinosa-Soto, P. Padilla-Longoria, J. Díaz, E.R. Alvarez-Buylla, M. Benítez; *Equivalent genetic regulatory networks in different contexts recover contrasting spatial cell patterns that resemble those in Arabidopsis root and leaf epidermis: a dynamic model*; Int. J. Dev. Biol. **51** 139-155 (2007) doi: 10.1387/ijdb.062183mb
- [24] C. Espinosa-Soto, P. Padilla-Longoria, E.R. Alvarez-Buylla; *A gene regulatory network model for cell-fate determination during Arabidopsis thaliana flower development that is robust and recovers experimental gene expression profiles*; The Plant Cell **16** 2923-2939 (2004)
- [25] M. Fiers, E. Golemic, J. Xu, L. van der Geest, R. Heidstra, W. Stiekema, C. M. Liu; *The 14-amino acid CLV3, CLE19, and CLE40 peptides trigger consumption of the root meristem in Arabidopsis through a CLAVATA2-dependent pathway*; Plant Cell **17** 2542-2553 (2005)
- [26] A. Garg, G. De Micheli, I. Xenarios, A. Di Cara, L. Mendoza; *Dynamic simulation of regulatory networks using SQUAD*; BMC Bioinformatics **8** (462) (2007) (<http://www.biomedcentral.com/1471-2105/8/462>) doi: 10.1186/1471-2105-8-462
- [27] T. J. Guilfoyle, G. Hagen; *Auxin response factors*; Curr Opin Plant Biol **10** (5) 453-460 (2007)
- [28] H. Hassan, I. Blilou, R. Immink, R. Heidstra, B. Scheres, D. Welch; *Arabidopsis JACKDAW and MAGPIE zinc finger proteins delimit asymmetric cell division and stabilize tissue boundaries by restricting SHORT-ROOT action*; Genes Develpment **21** (17) 2196-2204 (2007)

- [29] Y. Helariutta, H. Fukaki, J. Wysocka-Diller, K. Nakajima, J. Jung, G. Sena, M. T. Hauser, P. N. Benfey; *The SHORT-ROOT gene controls radial patterning of the Arabidopsis root through radial signaling*; Cell **101** (5) 555-567 (2000)
- [30] A. D. Hershey, M. Chase; *Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage*; The Journal of General Physiology, **36**: 39-56 (1952)
- [31] Y. Hirakawa, H. Shinohara, Y. Kondo, A. Inoue, I. Nakanomyo, M. Ogawa, S. Sawa, K. Ohashi-Ito, Y. Matsubayashi, H. Fukuda; *Non-cell-autonomous control of vascular stem cell fate by a CLE peptide/receptor system*; PNAS **105** 15208-15213 (2008)
- [32] M. Hobe, R. Müller, M. Grünewald, U. Brand, R. Simon; *Loss of CLE40, a protein functionally equivalent to the stem cell restricting signal CLV3, enhances root waving in Arabidopsis*; Dev. Genes Evol. **213** 371-381 (2003)
- [33] H. Hofhuis, M. Luijten, V. Willemsen, I. Blilou, R. Heidstra, B. Scheres, C. Galinha; *PLETHORA proteins as dose-dependent master regulators of Arabidopsis root development*; Nature **449** (7165) 1053-1057 (2007)
- [34] Y. Ito, I. Nakanomyo, H. Motose, K. Iwamoto, S. Sawa, N. Dohmae, H. Fukuda; *Dodeca-CLE peptides as suppressors of plant stem cell differentiation*; Science **313** 842-845 (2006)
- [35] F. Jacob y J. Monod; *Genetic Regulatory Mechanisms in the Synthesis of Proteins*; Journal of Molecular Biology, **3**: 318-356 (1961)
- [36] S.A. Kauffman y L. Glass; *The Logical Analysis of Continuous, Non-linear Biochemical Control Networks*; J. theor. Biol **39** 103-129 (1973)
- [37] S.A. Kauffman y L. Glass; *Co-operative Components, Spatial Localization and Oscillatory Cellular Dynamics*; J. theor. Biol **34** 219-237 (1972)
- [38] S.A. Kauffman; *Metabolic Stability and Epigenesis in Randomly Constructed Genetic Nets*; J. Theoret. Biol. **22**, 437-467 (1969)
- [39] S.A. Kauffman; *Homeostasis and Differentiation in Random Genetic Control Networks*; Nature **224**, 177-178 (1969) doi:10.1038/224177a0
- [40] S. Lau, G. Jürgens, I. De Smet; *The evolving complexity of the auxin pathway*; Plant Cell **20** (7) 1738-1746 (2008)
- [41] M. P. Levesque, T. Vernoux, W. Busch, H. Cui, J. Y. Wang, I. Blilou, H. Hassan, K. Nakajima, N. Matsumoto, J. U. Lohmann, B. Scheres, P. N. Benfey; *Whole-genome analysis of the SHORT-ROOT developmental pathway in Arabidopsis*; PLoS Biol **4** (5) 143 (2006)
- [42] F. S. Linares, E. Scacchi, E. Casamitjana-Martinez, R. Heidstra, D. Constantino, S. Sabatini, R. Dello Ioio; *Cytokinins determine Arabidopsis root-meristem size by controlling cell differentiation*; Current Biology **17** (8) 678-682 (2007)
- [43] A.P. Mahonen, M. Bonke, L. Kauppinen, M. Riikonen, P.N. Benfey, Y. Helariutta; *A novel two-component hybrid molecule regulates vascular morphogenesis of the Arabidopsis root*; Genes and Development **14** 2938-2943 (2000)

- [44] L. Mendoza, I. Xenarios; *A method for the generation of standardized qualitative dynamical system of regulatory networks*; Theoretical Biology and Medical Modelling **3** (13) (2006) (<http://www.tbiomed.com/content/3/1/13>) doi: 10.1186/1742-4682-3-13
- [45] L. Mendoza y E. R. Alvarez-Buylla; *Dynamics of the genetic regulatory network for Arabidopsis thaliana flower morphogenesis*; J Theor Biol. **193** (2): 307-319 (1998)
- [46] K. Mockaitis, M. Estelle; *Auxin receptors and plant development: a new signaling paradigm*; Annu Rev Cell Dev Biol **24** 55-88 (2008)
- [47] K. Nakajima, G. Sena, T. Nawy, P. N. Benfey; *Intercellular movement of the putative transcription factor SHR in root patterning*; Nature **413** (6853) 307-311 (2001)
- [48] B. Scheres; *Cell signaling in root development*; Current Opinion in Genetics & Development **7** 501-506 (1997) (<http://biomednet.com/elecref/0959437X00700501>)
- [49] B. Scheres, Heather I. McKhann y C. van den Berg; *Roots Redefined: Anatomical and Genetic Analysis of Root Development*; Plant Physiol, **111** 959-964 (1996).
- [50] S. Sabatini, R. Heidstra, M. Wildwater, B. Scheres; *SCARECROW is involved in positioning the stem cell niche in the Arabidopsis root meristem*; Genes Dev **17** (3) 354-358 (2003)
- [51] A. K. Sarkar *et al.*; *Conserved factors regulate signalling in Arabidopsis thaliana shoot and root stem cell organizers*; Nature **446** 811-814 (2007) doi:10.1038/nature05703
- [52] Y. Stahl, R. H. Wink, G. C. Ingram, R. Simon; *A Signaling Module Controlling the Stem Cell Niche in Arabidopsis Root Meristems*; Curr Biol. **19** 909-914 (2009)
- [53] Y. Stahl, R. Simon; *Plant stem cell niches*; Int. J. Dev. Biol. **49** 479-489 (2005)
- [54] T. Suzaki, A. Yoshida, H. Hirano; *Functional Diversification of CLAVATA3-Related CLE Proteins in Meristem MAintenance in Rice*; Plant Cell **20** (8) 2049-2058 (2008)
- [55] R. Tapia-López, B. García-Ponce, J. G. Dubrovsky, A. Garay-Arroyo, R. V. Pérez-Ruiz, Sun-Hyung Kim, F. Acevedo, S. Pelaz, E. R. Alvarez-Buylla; *An AGAMOUS-related MADS-box gene, XAL1 (AGL12), regulates root meristem cell proliferation and flowering transition in Arabidopsis thaliana*; Plant Physiol, **146** (3): 1182-1192 (2008)
- [56] S. B. Tiwari, G. Hagen, T. J. Guilfoyle; *Aux/IAA proteins contain a potent transcriptional repression domain.*; Plant Cell **16** (2) 533-543 (2004)
- [57] S. B. Tiwari, X. J. Wang, G. Hagen, T. J. Guilfoyle; *AUX/IAA proteins are active repressors, and their stability and activity are modulated by auxin*; Plant Cell **13** (12) 2809-2822 (2001)
- [58] A. Trewavas; *A Brief History of Systems Biology (Historical Perspective Essay)*; The Plant Cell **18** 2420-2430 (2006)
- [59] M. Ueda, Y. Koshino-Kimura, K. Okada; *Stepwise understanding of root development*; Current Opinion in Plant Biology **8** 71-76 (2005) doi: 10.1016/j.pbi.2004.11.014
- [60] A. W. Woodward, B. Bartel; *Auxin: regulation, action, and interaction.*; Ann Bot (Lond) **95** (5) 707-735 (2005)
- [61] The Gene Ontology <http://www.geneontology.org/>
- [62] TAIR; The Arabidopsis Information Resource <http://www.arabidopsis.org/>