

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE CIENCIAS

MODELO DE DIFERENCIACIÓN ESPACIAL EN AGREGADOS
MULTICELULARES GENERADOS POR LA INTERACCIÓN DE CÉLULAS CON
DIFERENTES PROPIEDADES DE ADHESIÓN Y DE COMUNICACIÓN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA:

EMILIO MORA VAN CAUWELAERT

DIRECTOR DE TESIS:

EUGENIO MARTÍN AZPEITIA ESPINOSA



MÉXICO, CIUDAD UNIVERSITARIA

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**Modelo de diferenciación espacial en agregados multicelulares
generados por la interacción de células con diferentes propiedades de
adhesión y de comunicación**

por

Emilio Mora Van Cauwelaert

Tesis presentada para obtener el título de

Biólogo

en la

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

México, Ciudad Universitaria, 2014

Hoja de datos del jurado

1. Datos del alumno

Mora
Van Cauwelaert
Emilio
55 54 36 25 29
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
410057481

2. Datos del tutor

Doctor
Eugenio Martín
Azpeitia
Espinosa

3. Datos del sinodal 1

Doctora
María Elena
Álvarez-Buylla
Roces

4. Datos del sinodal 2

Doctor
Carlos
Villarreal
Luján

5. Datos del sinodal 3

Doctora
Mariana
Benítez
Keinrad

6. Datos del sinodal 4

Doctora
Ana Elena
Escalante
Hernández

7. Datos del trabajo escrito.

Modelo de diferenciación espacial en agregados multicelulares generados por la interacción de células con diferentes propiedades de adhesión y de comunicación
149 p.

2014

Agradecimientos

Quiero, en primer lugar, dar las gracias a Eugenio y a Mariana, quienes se tomaron el tiempo de revisar, comentar y mejorar mi trabajo durante todo su desarrollo. Además, les quiero agradecer por sus consejos, en el ámbito académico y no académico, que me han motivado cuando más lo necesitaba; por su amistad y por su valentía.

A Elena, por su invaluable apoyo y guía en los últimos años de la carrera que me han servido para tomar decisiones importantes.

Agradezco también a los estudiantes del C3 y a los del seminario de ecoevodevo por el bonito grupo formado y por los trabajos futuros; en especial a Checo, por todas las veces en las que me sacó de un pozo computacional; a Juan, por todas las interesantes discusiones.

Por otro lado, a Fabián por todas las dudas que me resolvió en la parte matemática, por sus sabios consejos, su gran amistad y por lo que viene; gracias.

A Mauricio, Adrián, María, Polo, Eto, Ceci, Gaby, Satya y Alfredo; por cruzarse en mi camino, por el sinfín de cosas que he aprendido de cada uno de ustedes y sobre todo por el proyecto que nos espera.

A Santiago, con quien nos estuvimos jalando y empujando durante todo el año anterior para poder darle mate a nuestras tesis. Qué bueno que reconectamos caminos; sé que será para largo.

A mi madre, de quien he aprendido montones. A Marleen, Zoé, Natasha, Oliver y Victor, por ser parte tan importante de mi vida. A Flor y a Mathilde, que han hecho la vida en casa muy amena y crearon las condiciones idóneas para trabajar. A mi padre, por lo pasado y por lo que falta construir.

Gracias también a Nayarit 47 y a mis queridos vecinos que propiciaron la perfecta vida comunal.

A mis amigos de la facultad, Jero, Alonso, Vanessa, Esteban, Emilio, Valeria, José Luis, Alex y otros muchos, con quienes compartí buenas clases y a quienes estimo y respeto.

Finalmente, agradezco a todas las personas que, sabiéndolo o no, me han enseñado mucho y han forjado mi manera de ser, pensar y actuar; *pot parlar més a poc a poc?, a tu.*

A la multicelularidad.

A mi mamá.

Modelo de diferenciación espacial en agregados multicelulares generados por la interacción de células con diferentes propiedades de adhesión y de comunicación

Resumen

Una de las transiciones más importantes en la historia de la evolución es el origen de la multicelularidad. Este evento, llevado a cabo en varios linajes evolutivamente distantes, permitió la estructuración de formas biológicas en la escala macroscópica y marcó el inicio del desarrollo biológico. Por lo tanto, estudiar el origen de la multicelularidad es una manera de buscar los principios fundamentales y generales del desarrollo y de su evolución. Muchos estudios sobre esta transición se han centrado en la búsqueda de las ventajas evolutivas que confiere la multicelularidad. Sin embargo, lo que interesó aquí fueron los mecanismos por los cuales se pudieron haber generado los primeros organismos multicelulares –con cierto de diferenciación celular espacial– a partir de entes unicelulares. Con respecto a ello, algunos autores han resaltado la importancia de la interacción de propiedades locales unicelulares (adhesión, comunicación, redes de expresión celular interna, entre otros) y del acoplamiento metabólico, en la formación de los primeros patrones de diferenciación espacial.

En este trabajo se hizo un análisis teórico y sistemático del efecto de algunas de estas propiedades –adhesión y comunicación– en la formación de los primeros patrones de diferenciación espacial en agregados multicelulares. Específicamente, se estudió la influencia de la fuerza de adhesión (alta, media y baja) y del tipo de comunicación (directa, indirecta y mixta). Para ello, se construyó un modelo matemático –implementado computacionalmente en un interfaz multiescala de Potts– que simulaba la interacción de entes unicelulares con una red interna de diferenciación celular –con dos estados, Rojo y Azul– con las diferentes propiedades de adhesión y de comunicación celular.

Los patrones de diferenciación espacial obtenidos dependieron del tipo de comunicación entre las células –se obtuvieron patrones en anillo (comunicación indirecta), en ajedrez (comunicación directa) y una combinación de ambos (comunicación mixta). A su vez, la disminución de la adhesión afectó la estabilidad del patrón en anillo y mixto, pero no alteró el patrón en ajedrez.

Los resultados resaltaron la importancia de la polaridad (dada por la comunicación indirecta), el acoplamiento celular (a través de la comunicación directa) y de los gradientes internos (consecuencia de la combinación de ambos procesos) en la regionalización de la expresión celular y por lo tanto en la generación de patrones de diferenciación espacial. A su vez, la adhesión fungió como estabilizadora de los patrones y no como proceso morfogenético como en otros trabajos.

Los mecanismos resultantes de los tipos de comunicación y adhesión se asemejaron a algunos procesos de desarrollo de organismos simples como el de los dictiostélidos y o el de las myxobacterias. Esto deja pensar que ciertos procesos de diferenciación celular en los primeros organismos multicelulares no necesitan de algunos supuestos de altruismo y egoísmo y pueden ser consecuencia del acoplamiento dinámico entre las células, a nivel fenotípico. Finalmente, las perspectivas importantes del modelo son agregar elementos cruciales como la división y la muerte celular, pero sobre todo un escenario evolutivo en donde se seleccionara el patrón de diferenciación y se pudiera dar cuenta de otros procesos como la asimilación genética. Esto con el fin de completar el cuadro evolutivo del origen de la multicelularidad.

Índice general

1. Introducción	1
1.1. El origen de la multicelularidad	1
1.1.1. Una transición importante en la evolución	1
1.1.2. Definición de la multicelularidad	2
1.1.3. El cuándo y dónde del origen de la multicelularidad	3
1.1.4. Formación de masas multicelulares: la división incompleta y la agregación	7
1.2. El mantenimiento de la multicelularidad	9
1.2.1. El beneficio de ser grande	10
1.2.2. Aislamiento de traidores	11
1.2.3. La división del trabajo	12
1.3. El cómo de la multicelularidad: Cooptación de elementos clave	13
1.3.1. Presencia de las herramientas esenciales para el origen de la multicelularidad en organismos unicelulares: adhesión, comunicación y expresión diferencial.	14
1.3.2. Cooptación de los mecanismos	17
1.4. Origen de los primeros patrones de organización espacial a través de la interacción intercelular	17
1.4.1. Origen de los patrones de organización en el origen de la multicelularidad desde una visión adaptativa; crítica y nueva propuesta.	18
1.4.2. La morfogénesis como una consecuencia de las interacciones fisicoquímicas	19
1.5. Tipos de comunicación y fuerza de adhesión en la generación de patrones; planteamiento del trabajo	25
1.5.1. Tipos de comunicación: directa o indirecta	25
1.5.2. Fuerza de la adhesión celular	27

1.5.3.	Planteamiento del trabajo	28
1.6.	Modelar de la naturaleza	29
1.6.1.	Los modelos matemáticos y computacionales en biología	30
1.6.2.	Modelos matemáticos del origen de la multicelularidad	32
2.	Objetivos e Hipótesis	34
3.	Métodos	35
3.1.	Construcción del modelo	35
3.1.1.	Red interna de expresión diferencial	35
3.1.2.	Comunicación entre células	39
3.1.3.	Adhesión, movimiento, volumen y superficie celular	43
3.2.	Implementación computacional: CC3D	45
3.2.1.	Modelos Celulares de Potts: antecedentes	45
3.2.2.	Explicación del CC3D e implementación del modelo	46
3.2.3.	Dinámica del CC3D y algoritmo completo	50
3.3.	Diseño experimental de las simulaciones	54
3.4.	Modelo específico: <i>Steppables</i> , Parámetros y Pseudocódigo.	57
3.4.1.	<i>Steppables</i> de inicio y parámetros	57
3.4.2.	<i>Steppables</i> Intermediarios y parámetros	59
4.	Resultados	61
4.1.	Pruebas control	61
4.1.1.	Células solitarias	61
4.1.2.	Poblaciones celulares sin adhesión	62
4.1.3.	Nuevos estados estables, regreso al análisis de la red simple	65
4.2.	Agregación	66
4.3.	Patrones en agregado según los tipos de comunicación y niveles de adhesión	67
4.3.1.	Efecto del tipo de comunicación en el patrón en el equilibrio	67
4.3.2.	Efecto de la fuerza de adhesión en el patrón en el equilibrio	68

4.4.	Dinámica intracelular relativa y absoluta	72
4.4.1.	Adhesión alta	72
4.4.2.	Adhesión media	78
4.5.	Pruebas de robustez	85
4.5.1.	Perturbación química	85
4.5.2.	Tamaño	86
4.5.3.	Forma	86
5.	Discusión	93
5.1.	Resultados importantes del modelo	94
5.1.1.	Comunicación intercelular y acoplamiento de funciones	94
5.1.2.	Influencia del tipo de comunicación y patrones posibles	96
5.1.3.	Adhesión celular, movilidad y morfogénesis	102
5.2.	Comparación de los patrones con procesos del desarrollo	104
5.2.1.	El desarrollo de los Dictiostélidos	105
5.2.2.	Diferenciación de esporas en Myxobacterias	109
5.3.	Supuestos de cooperación, la muerte y la división celular y el escenario evolutivo pro- puesto por el modelo	112
5.3.1.	Supuestos de cooperación y traición para la diferenciación celular	113
5.3.2.	Muerte y división celular y forma : ¿qué posibles efectos?	115
5.3.3.	Importancia evolutiva: variación fenotípica y asimilación genética	116
5.4.	Comentarios finales y conclusiones	119
6.	Anexo: Análisis cualitativo de la red simple.	131
6.1.	Punto de equilibrio y linealización alrededor del mismo	131
6.2.	Naturaleza del punto de equilibrio: signo de los valores propios	133
6.2.1.	Cálculo de los valores propios	133
6.2.2.	Determinación del signo de los valores propios	133
6.3.	Parámetros usados en el modelo	139

1. Introducción

1.1. El origen de la multicelularidad

1.1.1. Una transición importante en la evolución

La enorme diversidad actual de los organismos se explica por un largo camino evolutivo que ha durado más de 3500 millones de años (Maynard-Smith y Szathmáry, 2000). Durante este trayecto, algunas transiciones fueron fundamentales y revolucionaron la morfología, hábito y formas de vida de los organismos (Grosberg y Strathmann, 2007; Maynard-Smith y Szathmáry, 2000; Buss, 1987). Maynard-Smith y Szathmáry (2000) dan como ejemplos: *(a) la formación de compartimentos celulares y subcelulares, (b) el origen del DNA como molécula hereditaria y la formación de cromosomas, (c) el origen de los organelos a través de la endosimbiosis, (d) el desarrollo de la fotosíntesis y la producción de oxígeno y (e) la evolución de los organismos multicelulares a partir de organismos unicelulares.*

Este trabajo está inserto dentro del cuadro general de esta última transición, es decir, en la evolución de la multicelularidad. Entendida como un cambio fundamental de la escala microscópica a la escala macroscópica, el desarrollo de organismos multicelulares revolucionó la vida sobre la tierra, permitiendo la estructuración de formas de vida con una alta diferenciación y especialización celular (Niklas y Newman, 2013).

La multicelularidad corresponde igualmente al origen del desarrollo (Bonner, 2000). El desarrollo de los organismos multicelulares es un proceso sumamente complejo, en donde muchos factores entran en juego, entre ellos la regulación transcripcional, la información posicional, los gradientes hormonales, las fuerzas físicas y las restricciones estructurales (Webster y Goodwin, 1996; Gilbert, 2003). No obstante, se piensa que en los primeros organismos multicelulares, los sistemas de desarrollo estaban menos regulados que los actuales y seguían principios más básicos y generales tales como principios físicos y químicos (Bonner, 2000; Newman *et al.*, 2006). Entender los mecanismos básicos que subyacen

a la formación de los primeros organismos multicelulares puede arrojar luz sobre los procesos de desarrollo actuales y sobre la evolución de los organismos; por lo que, la evolución de la multicelularidad constituye uno de los temas centrales de la Biología Evolutiva del Desarrollo (Evo-Devo por sus siglas en inglés) (Kirk, 2005; Gilbert, 2003).

1.1.2. Definición de la multicelularidad

La multicelularidad ha sido definida de diferentes maneras. Algunos autores sugieren una definición estructural y funcional, en la que un organismo multicelular es un agregado de células adheridas, en constante comunicación, con diferenciación celular, un proceso de desarrollo robusto, la emergencia de una línea germinal y una adecuación a nivel de grupo (Niklas y Newman, 2013; Furusawa y Kaneko, 2002). Esto restringe a los organismos multicelulares a un número reducido de eucariotas (plantas, animales y hongos; Knoll (2011)).

Por otro lado, algunos autores afirman que un organismo multicelular puede ser mucho más simple de definir y no requiere de tantas condiciones; el único requisito sería que se responda selectivamente como grupo agregado y no como células individuales (M. Travisano, com.pers.). Es decir, que emerjan propiedades a nivel del colectivo y que constituyan un nuevo nivel de selección (Simon *et al.*, 2013). Bajo esta definición, cualquier organismo de más de una célula cuyas propiedades colectivas sean seleccionadas, sería multicelular. Un ejemplo de multicelularidad mínima bajo esta definición es ilustrado por *Caulobacter crescentus*, compuesto por dos células diferenciadas. Otra definición laxa es la que ofrece Shapiro (1998). Según él, la clave de la multicelularidad reside en la capacidad de recibir, interpretar y modificar un comportamiento de acuerdo a los vecinos cercanos (Shapiro, 1998), una definición que agrupa a cualquier organismo con dinámicas grupales.

De manera más general, Knoll (2011) y Butterfield (2000) distinguen entre multicelularidad simple y compleja. Los multicelulares simples son masas celulares o filamentos con un bajo nivel de diferenciación celular, poca comunicación intercelular y en donde todas las células están en contacto con el medio. En cambio, los multicelulares complejos tienen varios tipos celulares, comunicación intercelular alta y una geometría que hace que algunas células del agregado no estén en contacto con el medio (por ejemplo, una esfera) (Knoll, 2011; Butterfield, 2000). Esta última diferencia es bastante relevante

ya que, al tener células aisladas del medio, se generan zonas fisicoquímicas muy distintas que podrían impulsar la diferenciación celular (Furusawa y Kaneko, 2002; Bonner, 2003, 2004; Knoll, 2011). Con esta clasificación, muchos agregados y filamentos bastante simples como bacterias (*Nostoc sp*, *Anabaena sp*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas crescens*), algunos ciliados (*Zoothamnium*, *Sorogena*) o algunos grupos de diatomeas y algas pardas son considerados como multicelulares simples (Bonner, 1998; Shapiro, 1998). Los organismos como plantas, animales u hongos serían entonces, multicelulares complejos (Knoll, 2011).

Sin embargo, como explica Shapiro (1998), cualquier esfuerzo por dibujar una barrera formal entre unicelulares y multicelulares resulta contraproducente. Y en efecto, si se busca entender los procesos de morfogénesis de los primeros agregados celulares, resulta irrelevante si estos organismos todavía no son considerados como multicelulares (*sensu* Furusawa y Kaneko, 2002) o si son multicelulares simples (*sensu* Knoll, 2011). Por lo que, operativamente, en este trabajo se dirá que un organismo multicelular es aquel compuesto por células adheridas y con cierto grado de diferenciación espacial. Para esto, las células que lo conforman deben de tener algún mecanismo de adhesión, comunicación y de expresión diferencial¹ (Maynard-Smith y Szathmáry, 2000).

1.1.3. El cuándo y dónde del origen de la multicelularidad

Existen muchas preguntas interesantes acerca de la transición hacia la multicelularidad. Una de ellas es cuándo y dónde (en qué ambientes y en qué grupos) surgieron las primeras formas multicelulares. Para ello se han realizado un sin fin de estudios filogenéticos y moleculares que tienen como objetivo encontrar el último ancestro común a los organismos multicelulares y unicelulares actuales (Knoll, 2011) o estudiar la evolución de componentes moleculares necesarios para el desarrollo de la multicelularidad (Maynard-Smith y Szathmáry, 2000; Knoll, 2011; Rokas, 2008a). Las dificultades de este tipo de estudios consisten en que muchos de los sistemas moleculares necesarios para la multicelularidad se encontraban ya en los organismos unicelulares (Maynard-Smith y Szathmáry, 2000) lo que complica la determinación del origen de la multicelularidad a través del seguimiento de marcadores moleculares. Por lo mismo, el

¹En este trabajo «expresión diferencial» se refiere a la capacidad que tiene una célula de realizar diferentes funciones dependiendo de sus condiciones internas y externas. Agrupa mecanismos de regulación transcripcional genéticos y epigenéticos.

enfoque filogenético y molecular ha sido complementado por trabajos paleobiológicos y paleoclimáticos, que intentan relacionar las primeras estructuras multicelulares del registro fosilífero con cambios en el paleoambiente (Knoll, 2011; Xiao *et al.*, 1998). Sin embargo, estos estudios también tienen dificultades como la falta de información debida a la escasa conservación de los organismos multicelulares antiguos. Aunado a esto, muchos de los primeros organismos multicelulares eran microscópicos lo que complica la búsqueda de los mismos (Xiao *et al.*, 1998). A continuación se presentan unos de los cuantos avances con respecto al cuándo y el dónde del origen de la multicelularidad, resultado de la combinación de los enfoques previamente presentados.

Una de las razones por las que la multicelularidad se considera un evento muy interesante es el hecho de que haya ocurrido múltiples veces de manera independiente en linajes evolutivamente distantes (Niklas y Newman, 2013; Rokas, 2008a). En efecto, siguiendo la definición de Knoll (2011), la multicelularidad simple evolucionó alrededor de 25 veces y la multicelularidad compleja se desarrolló en al menos 10 linajes eucariotas; una vez en Animalia, tres veces en Fungi (Chytridiomycota, Ascomycota y Basidiomycota) y seis veces en los tres clados principales de plantas (Rhodophyta, Stramenopila y Chlorobionta) (Grosberg y Strathmann, 2007) (Fig. 1-1).

La primera marca de organismos multicelulares (presente en el registro fosilífero) es la formación de cianobacterias filamentosas (Cyanobacteria) hace 3500 millones de años (Ma). Los primeros signos de diferenciación celular en estas bacterias fotosintéticas aparecieron hace 2500 Ma, en el género *Archaeoellipsoides*. En dichos individuos se registraron marcas de acinetos (células que pueden resistir estrés ambiental) (Rokas, 2008b). *Archaeoellipsoides* (Fig. 1-2.a) es una versión con menos tipos celulares que las cianobacterias multicelulares actuales (*Nostoc*, *Anabaena*) que llegan a poseer hasta cuatro tipos celulares (células vegetativas que se dividen, heterocistos que fijan nitrógeno, acinetos resistentes al frío o a la desecación y hormogonios, filamentos móviles para la dispersión (Meeks *et al.*, 2002)). Los dos otros grupos de bacterias multicelulares, Actinobacteria (Fig. 1-2.b.) y Myxobacteria, aparecen, según estimaciones del reloj molecular de DNA ribosomal 16S, hace 2000 Ma y 1000 Ma, respectivamente (Douzery *et al.*, 2004) por lo que su evolución es relativamente reciente en comparación con las cianobacterias.

Dentro de los eucariontes, los primeros protistas multicelulares presentes en el registro fosilífero

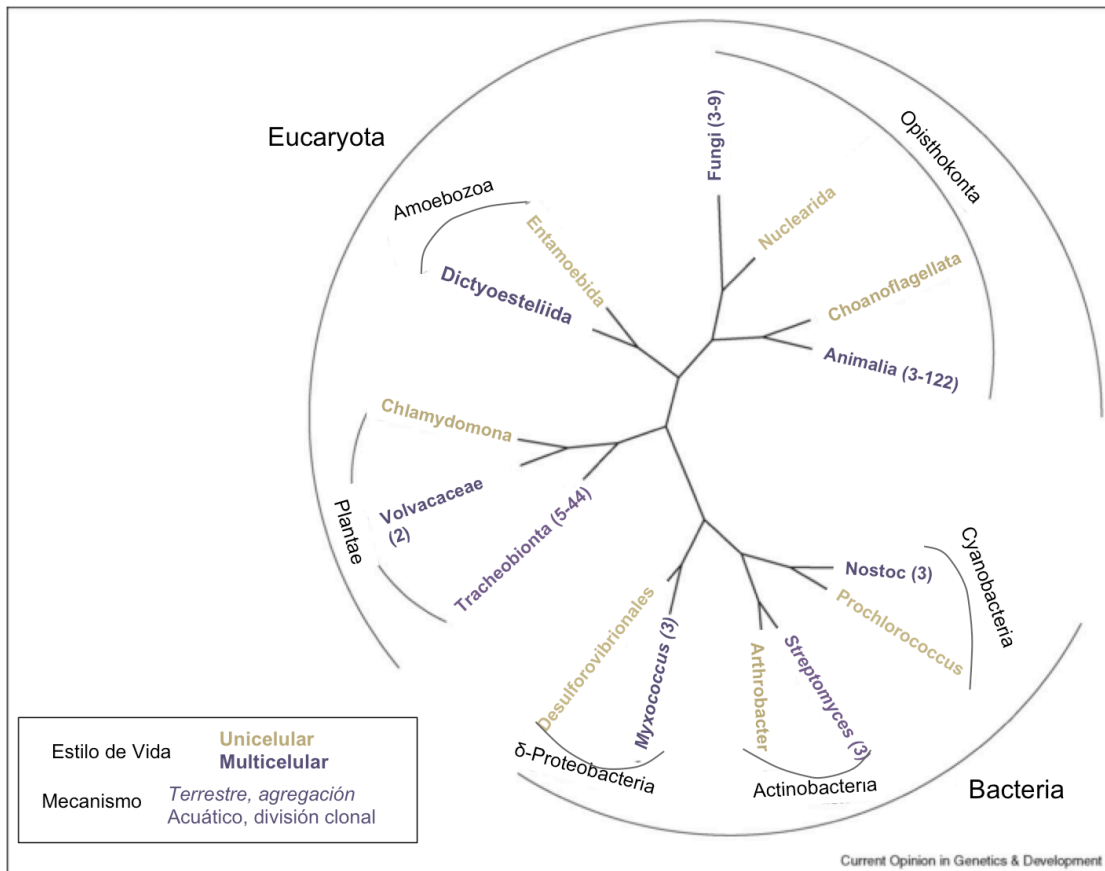


Figura 1-1. Árbol filogenético que muestra los múltiples orígenes de la multicelularidad. Se presentan grupo selectos de bacterias y eucariotas multicelulares (en morado) junto a sus parientes unicelulares (amarillo). Los organismos formados por agregación se muestran en itálicas, los organismos formados por división incompleta en letra normal. Modificado de (Rokas, 2008a).

ro datan de hace 1200 Ma (género *Bangiomorpha*) (Butterfield, 2000). Estas algas Rojas fósiles, filamentosas, presentan al menos tres tipos celulares diferentes (Butterfield, 2000). Mucho más reciente es la aparición de las algas multicelulares del género *Volvox* (fig 1-2.d.), hace 500 Ma (Kirk, 2005).

Por otro lado, Xiao *et al.* (1998) localizaron animales microscópicos análogos a los embriones holoblásticos actuales –embriones cuya segmentación es total, como por ejemplo en el desarrollo de equinodermos– datados de hace 570 ± 20 Ma, en el Lagerstätte de Doushantuo² (Fig. 1-2.c). Los primeros organismos multicelulares macroscópicos (plantas, animales y hongos) observados en el registro fosilífero datan desde 600 hasta 400 Ma (Rokas, 2008a). No obstante, el reloj molecular estima que la multicelularidad debió haber evolucionado entre 1000-400 Ma antes del presente (Rokas, 2008a). La

²Un Lagerstätte es un yacimiento paleontológico que por su tipo de sedimento e historia geológica tiene un muy buen estado de conservación y posee una gran diversidad de fósiles.

distinción radica en que muchos mecanismos moleculares definidos como «exclusivos» de la multicelularidad (tipos de comunicación, adhesión entre células) pudieron haber surgido en organismos microscópicos unicelulares bastante tiempo antes de la aparición de los primeros organismos multicelulares visibles en el registro fosilífero (Knoll, 2011).

Ahora bien, el primer ecosistema registrado con organismos multicelulares es el de la fauna de Ediacara (en el sur de Australia), con individuos relativamente simples, aplanados y sin cavidades, de hace 600-543 Ma (Seilacher *et al.*, 2003). Finalmente, el evento más drástico de radiación de organismos multicelulares ocurrió hace 540 Ma: la *Explosión Cámbrica*, en donde están registrados todos los planes de organización de organismos actuales³ (Morris y Morris, 1998).

Los primeros organismos multicelulares simples aparecieron millones de años antes que los organismos multicelulares complejos macroscópicos (Knoll *et al.*, 2006). Esto parece estar relacionado con el desarrollo tardío de la depredación (Stanley, 1973) y sobre todo con el incremento del oxígeno atmosférico a los niveles actuales hace apenas 850 Ma (Holland, 2006). En efecto, algunos autores sugieren que antes de que existiera una alta concentración de O_2 los sistemas energéticos anóxicos como la fermentación no eran lo suficientemente efectivos para mantener un organismo multicelular complejo macroscópico *sensu* Knoll (2011); para que este tipo de organismo sobreviva, las células en contacto con el medio debían de producir la energía química suficiente para todo el organismo (incluyendo a las células aisladas por el medio) (revisado en Rokas, 2008a). Por lo tanto, los organismos multicelulares complejos sólo se podrían desarrollar en presencia de oxígeno y con una comunicación alta entre las células.

En resumen, las primeras formas multicelulares varían mucho y surgen en tiempos muy diferentes, incluso hoy en día, y en diferentes sitios. Organismos unicelulares se están ensamblando y desensamblando constantemente de manera más o menos duradera (Ratcliff *et al.*, 2012, 2013). El múltiple surgimiento de estos eventos ha hecho pensar a algunos autores que existe cierta predisposición de los organismos unicelulares para formar organismos multicelulares (Niklas y Newman, 2013; West-Eberhard, 2005) y que la transición de la multicelularidad no fue muy complicada (Grosberg y Strathmann, 2007).

³Para ilustrar lo extraordinario de la explosión cámbrica, Holmes (1997) explicaba que el evento era equivalente a si *todos* los estilos arquitectónicos ingenieros por el ser humano (coliseos romanos, catedrales góticas, pirámides prehispanicas, etc.) hubieran surgido en un *mismo* periodo de 35 años, a la mitad del siglo XV.

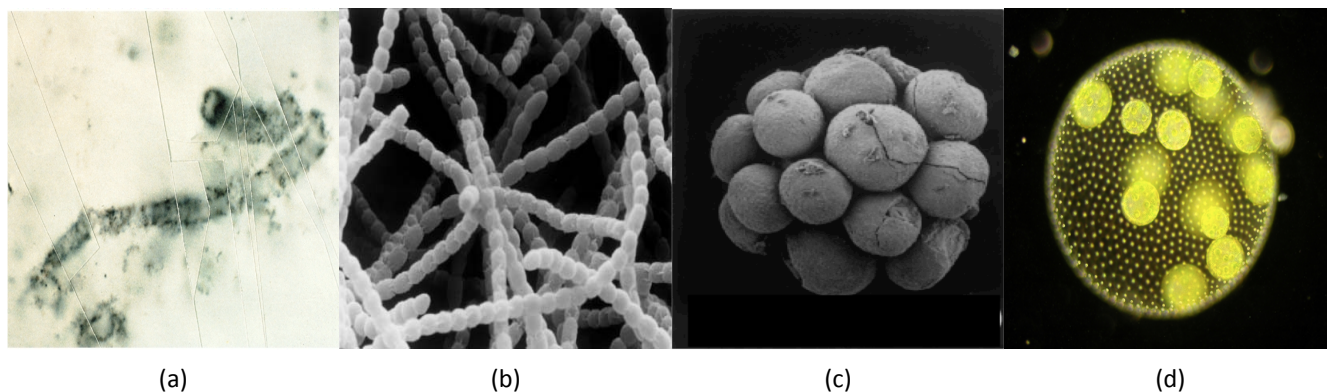


Figura 1-2. Imágenes de organismos multicelulares simples. a. La cianobacteria del género *Archaeoellipsoides*, b. una actinobacteria actual, c. embrión holoblástico fósil, d. *Volvox carterii*. a, b y c son imágenes de dominio público. d. es modificadas de Xiao *et al.* (1998).

1.1.4. Formación de masas multicelulares: la división incompleta y la agregación

La formación de las masas multicelulares puede llevarse a cabo por dos fenómenos distintos (independientemente de los mecanismos moleculares). Por un lado, al dividirse, las células pueden quedar juntas y no separarse. Es el caso de la división incompleta. Por otro lado, células individuales de poblaciones celulares pueden agregarse a través de alguna señal química (o de otra naturaleza). Es el caso de la agregación (Bonner, 1998; Tarnita *et al.*, 2013).

División incompleta

La *división incompleta* (también conocida como división clonal) sucede cuando una célula, al dividirse, no se separa completamente de la célula hija y genera una masa celular genéticamente homogénea⁴. En cada nuevo ciclo de desarrollo, es decir, cuando se forman los propágulos unicelulares, la masa se vuelve a «homogeneizar» (Fig. 1-3) (Grosberg y Strathmann, 2007). La división incompleta ocurre en todos los organismos acuáticos multicelulares y en casi todos los terrestres (Bonner, 1998) al igual que la gran mayoría de organismos multicelulares complejos (*sensu* Knoll (2011)) (Grosberg y Strathmann, 2007). Diversos mecanismos moleculares pueden llevar a la división incompleta, como la citocinesis incompleta (en el caso de los plasmodesmos en plantas), proteínas de membrana (en el desarrollo animal) o la secreción de una matriz extracelular (en las algas multicelulares) (Alberts *et al.*, 2002;

⁴ «Genéticamente homogénea» significa que las diferencias entre célula y célula en la masa celular son causadas sólo por mutaciones al momento de la división.

Kirk, 2005). Los mecanismos moleculares se revisarán posteriormente.

Agregación

En la *agregación*, algunas células separadas (clonales o no) se agregan para formar una masa genéticamente heterogénea⁵ (Fig. 1-3; Grosberg y Strathmann (2007)). Este mecanismo de formación de agregados sólo ha sido reportado en ambientes terrestres (Bonner, 1998).

Aquí, en cada nuevo ciclo de formación de propágulos, la heterogeneidad genética se mantiene (Grosberg y Strathmann, 2007). Algunos organismos formados a través de la agregación son los grupos de bacterias multicelulares (*Myxobacteria*, *Pseudomonas* o *Escherichia coli* (Shapiro, 1998)), algunos protistas (*Dictyostelium*) y mohos mucilaginosos (Bonner, 1998). Los mecanismos que llevan a cabo la agregación incluyen el acercamiento de los organismos por alguna señal química o por una heterogeneidad en la distribución de los nutrientes y la adhesión a través de proteínas membranales o matriz extracelular (Ratcliff *et al.*, 2013; Shapiro, 1998; Bonner, 1998).

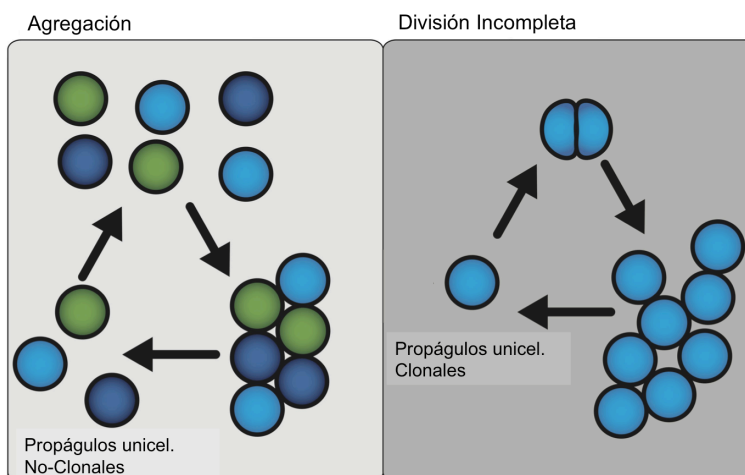


Figura 1-3. Esquema de los dos mecanismos de generación de masas celulares, la agregación y la división incompleta. Modificado de (Sebé-Pedrós *et al.*, 2013).

Diferencias entre la agregación y la división incompleta

Los organismos multicelulares formados por agregación sólo han sido registrados en ambientes terrestres. En cambio, los organismos formados por división incompleta han sido registrados tanto en

⁵«Genéticamente heterogénea» se refiere a que las células pueden ser de diferente origen, aunque bien puede ser que las células que conforman la masa provengan de la misma célula madre.

ambientes acuáticos como en terrestres (Bonner, 1998). Un factor que podría influir en el tipo de mecanismo de generación de las masas celulares es la probabilidad de encuentro entre las células (dependiente de la densidad poblacional) esencial para la agregación (Sozinova *et al.*, 2005). En los ambientes acuáticos, las poblaciones están poco concentradas (menos individuos por unidad de área) ya sea por la disponibilidad de espacio o por las corrientes marinas. Esto hace que la probabilidad de encuentro entre células disminuya considerablemente; el mecanismo de agregación es poco frecuente. En cambio, en la tierra, algunas amebas y bacterias se encuentran altamente concentradas en las zonas húmedas del suelo y películas (Bonner, 1998), por lo que su probabilidad de encuentro aumenta considerablemente y permite el desarrollo de un sistema de agregación. La división incompleta, en cambio, no depende de la densidad poblacional, por lo que se puede desarrollar en los medios acuáticos y terrestres. Por otro lado, como se dijo anteriormente, la gran mayoría de los organismos multicelulares complejos (*sensu* Knoll (2011)) se forman por división incompleta y no por agregación. Según algunos autores esto parece estar relacionado con la homogeneidad genética alcanzada en la división incompleta que evita el conflicto genético entre las células de las masas celulares y permite el desarrollo de mayor complejidad (Michod y Roze, 2001; Niklas y Newman, 2013). Esto se revisará en la siguiente sección, en donde se estudian las posibles ventajas que permitieron que algunos organismos multicelulares permanezcan en el curso de la evolución.

1.2. El mantenimiento de la multicelularidad

La evolución de la multicelularidad conlleva otras dos preguntas importantes. Por un lado saber cómo se originó (qué mecanismos fueron los generadores) y por otro lado saber cómo se mantuvo a lo largo del tiempo (qué ventajas o contingencias evolutivas tuvo). Muchos de los trabajos sobre el origen de la multicelularidad se han centrado en la segunda pregunta. Es decir, sobre las posibles razones que hacen que, una vez formado, un organismo multicelular tenga ventajas evolutivas sobre un organismo unicelular. De manera resumida, un organismo multicelular puede ser beneficiado tan solo por adquirir un mayor tamaño, ya que éste puede evitarle ser depredado o puede permitirle la exploración nuevos nichos (Boraas *et al.*, 1998). Por otro lado, formar un grupo adherido y fijo puede ser un mecanismo que permita restringir espacialmente a ciertas células dañinas para una población (como por ejemplo

células que explotan los recursos de manera ineficiente). Esto se conoce como el aislamiento de traidores (ver detalles abajo) (Pfeiffer y Bonhoeffer, 2003). Finalmente, un agregado multicelular puede tener una ventaja adaptativa por tener una división del trabajo que le permita realizar varias funciones metabólicas simultáneamente (Ispolatov *et al.*, 2012). Existen muchas otras ventajas posteriores de los organismos multicelulares como la adquisición de la movilidad y el mejoramiento de los mecanismos de dispersión y de depredación que no serán consideradas para el proceso mismo de origen de la multicelularidad (Bonner, 1998; Shapiro, 1998).

1.2.1. El beneficio de ser grande

El beneficio por tener un mayor tamaño queda perfectamente ilustrado por el experimento de Boraas y colaboradores (1998). En este experimento, se pone en un medio rico en nutrientes un alga unicelular *Chlorella vulgaris* y su depredador *Ocromonas vallescia* durante varios días. Al cabo de 20 días, se encuentran individuos de *C. vulgaris* con ocho células unidas por una matriz extracelular –éstos pertenecen al rango de individuos que no son depredados por *Ocromonas vallescia* y que, al mismo tiempo, tienen un peso que les permite alcanzar los nutrientes superficiales (Boraas *et al.*, 1998). El organismo multicelular se mantiene ya que, por su tamaño, no puede ser depredado.

Aunado a esto, Niklas y Newman (2013) explican que, en organismos fotosintéticos o sésiles, el aumento del tamaño incrementa la superficie de exposición al sol y/o a las corrientes acuáticas lo que permite la generación y adquisición de una mayor cantidad de nutrientes (siempre y cuando el organismo guarde una forma aplanada o filamentosa que mantenga su relación superficie/volumen) (Niklas y Newman, 2013). Ejemplos de este tipo de organismos son los de la fauna de Ediacara (Seilacher *et al.*, 2003).

Finalmente, el incremento del tamaño puede conllevar la generación de un nuevo nicho ecológico (por ejemplo por hundimiento del agregado). Al formar un nuevo nicho, el organismo multicelular ya no compite con organismos unicelulares, por lo que, si su tamaño no es perjudicial, es probable que se mantenga⁶ (Tarnita *et al.*, 2013).

⁶La creación de nuevos nichos y nuevos métodos de alimentación pudo haber contribuido –junto con la aparición de la depredación– a la Explosión Cámbrica (Laland *et al.*, 2008; Stanley, 1973).

1.2.2. Aislamiento de traidores

En las poblaciones celulares existen ciertos comportamientos de los individuos que pueden ser equiparados a lo que en teoría de juegos se conoce como *cooperación* y *traición*. De manera simplificada, cuando las células cooperan, generan un bien común para la población, que les implica cierto costo (Nowak, 2006). Un traidor es aquél que se beneficia del bien común y no contribuye al mismo por lo que no tiene ningún costo (Nowak, 2006). Un buen ejemplo son las bacterias generadoras de agentes quelantes. Ante la insuficiencia de hierro, las bacterias «cooperadoras» generan pyoverdina (agente quelante) que desprende el hierro de compuestos externos y permite la absorción del mismo (Kümmerli y Brown, 2010). Los agentes quelantes son utilizados por todos, por lo que una «traidora» se puede beneficiar de los agentes y no producir ninguno. El punto importante de la teoría de juegos es que una población de cooperadores tiene una mayor adecuación que una población de traidores. Sin embargo, a nivel individual, los traidores tienen mayor adecuación que los cooperadores, por lo que el surgimiento de una población de cooperadores a partir de una población mixta (cooperadores y traidores) bien mezclada (en donde todos interactúan con todos) es improbable (Nowak, 2006).

El problema de la invasión de traidores puede ser resuelto, en parte, por la multicelularidad. Al formarse un agregado multicelular bien adherido (sin movimiento celular), las células sólo interactúan con sus vecinos cercanos (se vuelve una población estructurada). De esta manera, los traidores quedan restringidos a una parte del agregado y no se dispersan por toda la población⁷ (Pfeiffer y Bonhoeffer, 2003; Nowak, 2006). Así pues, se genera una población celular adherida con una mayor adecuación (por su porcentaje de cooperadores) que las poblaciones no adheridas (con menor porcentaje de cooperadores); lo que permite la persistencia del agregado multicelular en la escala evolutiva.

Esta hipótesis es comprobada por Pfeiffer y Bonhoeffer (2003) en un modelo computacional muy sencillo con organismos unicelulares respiradores (cooperadores) y fermentadores (traidores)⁸, en donde los agregados compuestos de respiradores desplazan a los unicelulares fermentadores a zonas restringidas del espacio (Pfeiffer y Bonhoeffer, 2003).

⁷En algunos casos, las poblaciones de traidores colapsan. Si los traidores se mantienen en zonas específicas del agregado el colapso es local, por lo que, el agregado se puede mantener.

⁸En su modelo, los respiradores son cooperadores ya que utilizan los recursos de manera efectiva. Es decir, con poco recurso generan mucha energía, dejando cantidades altas de recursos para el resto de la población. Por otro lado, los fermentadores son pensados como traidores ya que utilizan de manera ineficiente los recursos, acabándolos rápidamente.

1.2.3. La división del trabajo

Los organismos unicelulares son capaces de diferenciarse y realizar diferentes funciones en el tiempo, es decir, de producir diferentes fenotipos celulares en respuesta a un estímulo genético o ambiental (Grosberg y Strathmann, 2007). Algunas de estas diversas funciones no se pueden dar simultáneamente, ya sea por incompatibilidades metabólicas o moleculares. Por ejemplo, en las cianobacterias unicelulares, la fotosíntesis interfiere con la fijación de nitrógeno ya que la nitrogenasa no es efectiva en presencia de oxígeno (Meeks *et al.*, 2002); en las Volvaceales unicelulares (*Chlamydomona*), la división celular es incompatible con la movilidad: los flagelos están fijos a la pared celular, por lo que los cuerpos basales no pueden fungir como centriolos en la mitosis mientras se está moviendo la célula (Solari *et al.*, 2006; Kirk, 2005).

La multicelularidad permite que estas funciones preexistentes en organismos unicelulares puedan realizarse de manera simultánea; es decir, que puedan coexistir espaciotemporalmente (Niklas y Newman, 2013; Grosberg y Strathmann, 2007). Por ejemplo, en el caso de *Nostoc* (cianobacteria filamentosa), ciertas células (los heterocistos) engrosan su pared evitando con ello la entrada de O_2 y se especializan en la fijación de N_2 mientras que el resto de las células siguen fotosintetizando (Meeks *et al.*, 2002). En el caso de las Volvaceales multicelulares (*Pleodorina*, *Eudorina* o *Volvox*), las células externas se dedican a la movilidad y las internas a la división celular⁹ (Kirk, 2005). Poder realizar varias funciones metabólicas al mismo tiempo confiere al agregado una mayor adecuación en ambientes heterogéneos, lo que podría explicar la permanencia de la multicelularidad (Grosberg y Strathmann, 2007; Ispolatov *et al.*, 2012)¹⁰. La agregación de muchas células puede ser vista como un fenómeno análogo a la duplicación génica; desarrolla la redundancia y permite por lo tanto la especialización.

Ahora bien, todas estas ventajas ayudan a entender, cómo, bajo ciertas condiciones ambientales, la multicelularidad ha podido mantenerse evolutivamente. Sin embargo no explican los mecanismos por los cuales se pudieron haber *originado* agregados multicelulares con las características ventajosas

⁹Un caso equivalente se puede ver en metazoarios, en donde las células externas de la blástula tienen cilios y las internas siguen dividiéndose (Buss, 1987).

¹⁰A través de un modelo matemático, Ispolatov y colaboradores explican que en organismos unicelulares, los picos máximos adaptativos corresponden a una producción media de metabolitos incompatibles. Cuando dos células se juntan y comunican entre sí generan nuevos máximos adaptativos que corresponden a la especialización de funciones, es decir, a la división de trabajo. (Ispolatov *et al.*, 2012).

como el tamaño superior o la diferenciación celular –por lo tanto, no responden la primera pregunta del *cómo* de la formación de los primeros organismos multicelulares. Por ejemplo, no explican qué requerimientos de adhesión permitirían el incremento de tamaño. Tampoco sugieren qué mecanismos podrían llevar a cabo el aislamiento de los traidores (esto implicaría cierta independencia entre las células). Finalmente, en el caso de la división de trabajo, no hacen énfasis sobre el tipo de comunicación entre las células que determina el acoplamiento celular y la concomitante diferenciación de células o regiones celulares. Además, los elementos básicos para el origen de los primeros agregados (adhesión, comunicación) pueden tener consecuencias mecánicas distintas. Por lo tanto, en la siguiente sección se va a argumentar, por un lado, la existencia previa al origen de la multicelularidad de estos elementos y, por otro, se explicará cómo su combinación puede ser causante en primera instancia del origen de los primeros tipos de patrones espaciales en agregados multicelulares.

1.3. El cómo de la multicelularidad: Cooptación de elementos clave

Bajo la definición operativa que se dio anteriormente, se puntualizaron tres características esenciales para la evolución de la multicelularidad: la adhesión celular, la comunicación celular y la presencia de un mecanismo de expresión diferencial (Maynard-Smith y Szathmáry, 2000). En esta sección se revisarán los mecanismos moleculares generales por los cuales pueden darse estas condiciones celulares esenciales y se mostrará su presencia en organismos unicelulares actuales. Los resultados presentados sugieren que las características citadas preceden a la evolución de la multicelularidad y fueron más bien cooptadas o reutilizadas durante la transición (Maynard-Smith y Szathmáry, 2000; Newman *et al.*, 2006; Grosberg y Strathmann, 2007; Rokas, 2008b).

1.3.1. Presencia de las herramientas esenciales para el origen de la multicelularidad en organismos unicelulares: adhesión, comunicación y expresión diferencial.

La adhesión celular

La adhesión da pie a la formación de masas multicelulares, ya sea evitando que las células se alejen al dividirse o permitiendo que células individuales se agreguen posteriormente (Bonner, 1998). En los organismos multicelulares actuales, la adhesión se puede dar por dos fenómenos principales: por contacto directo entre célula y célula o a través de una matriz extracelular (MEC). La adhesión directa entre células puede ser mediada por proteínas específicas transmembranales (*e.g.* caderinas) o por uniones de oclusión (Alberts *et al.*, 2002). La adhesión directa también puede ser consecuencia de una citocinesis (separación física del citoplasma) incompleta como por ejemplo los septos en animales y los plasmosdesmos en las plantas; en el último caso, los canales creados sirven también como comunicadores intercelulares (Bloemendal y Kück, 2013). Por otro lado, en el caso de la adhesión extracelular, la matriz extracelular –secretada por las mismas células– puede tener una composición de colágenos y hialuronanos en animales, de peptidoglicanos y celulosa en plantas y algas (pared celular) (Alberts *et al.*, 2002) o de material citoplásmico en algunos pseudo hongos como *Labyrinthula* (Preston y King, 2005). Finalmente, existen proteínas de unión MEC-célula como los hemidesmosomas y las integrinas de unión (Alberts *et al.*, 2002).

Cada uno de los mecanismos de adhesión va a permitir diferentes grados de movimiento entre las células. En el caso de los *Labyrinthula*, las células pueden moverse libremente a todo lo largo de la secreción tubular. Las proteínas de unión (uniones gap) en animales tienen una tasa de recambio bastante elevada (Bloemendal y Kück, 2013), lo que permite un alto movimiento intercelular (Alberts *et al.*, 2002). Finalmente, en el caso de las proteínas de oclusión, la pared vegetal o las proteínas de oclusión, el movimiento va a estar completamente restringido.

Los múltiples mecanismos moleculares que confieren adhesión se han especializado y regulado durante la evolución de los organismos multicelulares; sin embargo, muchos de los componentes básicos para estas estructuras de adhesión han sido localizados en organismos unicelulares actuales. Para

empezar, al examinar el proteoma de los coanoflagelados unicelulares (grupo hermano de los metazoarios multicelulares) se observa la presencia de varios grupos de proteínas de adhesión celular tales como caderinas, lectinas tipo-C, inmunoglobulinas y α -integrinas (Rokas, 2008b). En los coanoflagelados, estas proteínas parecen estar asociadas al collar, estructura especializada para la captura de alimento. Igualmente, se ha identificado la presencia de colágena, proteína adhesiva, en coanoflagelados y en hongos unicelulares, el grupo más cercano a los animales (Rokas, 2008a; King *et al.*, 2008; Abedin y King, 2008). Por otro lado, en la familia de las Volvaceales, algunos organismos unicelulares como *Chlamydomonas reinhardtii* poseen una pared celular con los mismos componentes que la matriz extracelular de algas multicelulares como *Volvox*, por lo que la generación de la matriz es vista como una extensión de la pared celular (Kirk, 2005). Por lo que, la formación de una matriz extracelular puede ser la consecuencia de secreciones de componentes internos de cada célula –como la pared celular.

La comunicación intercelular

La comunicación celular tiene un grado de complejidad altísimo; cualquier proceso de comunicación necesita proteínas especializadas como canales de unión entre las células, receptores de sustancias y transportadores de señales (Alberts *et al.*, 2002). Como en el caso de la adhesión podemos agrupar a los tipos de comunicación en dos categorías operacionales.

La primera categoría es la comunicación directa entre células. Aquí, para poder comunicarse, las células deben estar en contacto (comunicación yuxtacrina). Como se explicó anteriormente, esta comunicación está directamente relacionada con la adhesión intercelular. Puede ser mediada por uniones citoplasmáticas que son formadas por proteínas transmembranales (uniones gap) o que son simple consecuencia de una citocinesis incompleta (plasmodesmos y septos) (Bloemendal y Kück, 2013). La comunicación directa también puede ser de contacto membranal a través de proteínas de señalización y recepción como el caso del sistema *Delta-Notch* (Alberts *et al.*, 2002). La segunda categoría es la comunicación indirecta dada a través de la secreción y recepción de sustancias al medio. Las células no deben de estar necesariamente en contacto (comunicación paracrina). Ejemplos de este tipo de comunicación son las moléculas autoinductoras –tales como las N-acil homoserina lactonas (AHL por sus siglas en inglés), las γ -butyrolactonas o las bacteriocinas– en grupos bacterianos (Shapiro, 1998) o las múltiples rutas de

señalización en animales –Wnt, Hedgehog, FGF, TGF- β , citocinas (Alberts *et al.*, 2002; Youk y Lim, 2014).

Igualmente al caso de la adhesión, muchos elementos de las principales rutas de comunicación están presentes en organismos unicelulares. Es el caso de Notch, Hedgehog y MAPK identificados en coanoflagelados, aunque con funciones no totalmente descritas. Otros elementos como Wnt o TGF- β no han sido todavía descritos en unicelulares (Rokas, 2008a).

Expresión celular diferencial

El último elemento clave para la multicelularidad es la *expresión celular diferencial*, con cierto grado de *regulación*¹¹(Maynard-Smith y Szathmáry, 2000). La *expresión diferencial* es la capacidad de un grupo de células con el mismo genoma de expresar diferentes conjuntos de proteínas –y por lo tanto producir distintos fenotipos– como respuesta a señales internas (subcelulares) o externas (ambientales, intercelulares). Por otro lado, la *regulación* de la expresión puede estar mediada por factores de transcripción, genéticos y epigenéticos. Los principales factores de transcripción para la regulación espacial son los productos de los genes Hox en animales y de los genes de las cajas MADS en plantas¹²(Shore y Sharrocks, 1995; Pearson *et al.*, 2005; Niklas y Newman, 2013). Todo el conjunto de señales internas y externas que dictaminan la expresión diferencial puede ser visto como una red compleja con múltiples asas de retroalimentación, en donde los atractores alcanzados son los diferentes fenotipos expresados (Kauffman, 1969; Salazar-Ciudad *et al.*, 2000). Este último punto se explotará con mayor detalle posteriormente.

Al igual que la comunicación y la adhesión celular, la expresión celular diferencial y su concomitante regulación son elementos clave en los organismos unicelulares. Por poner un ejemplo, en el caso de algunas algas unicelulares como las *Chlamydomonas*, la presencia de luz activa el movimiento de los organismos hacia una zona fótica favorable en donde llevan a cabo la fotosíntesis; en cambio, la ausencia de luz impulsa la entrada de la célula hacia la mitosis. El alga tiene por lo tanto una expresión diferencial de acuerdo a una señal ambiental. Por otro lado, de los casos más estudiados es el de *Saccharomyces cerevisiae*, cuya red de regulación transcripcional, dependiente de factores internos y externos determina las diferentes funciones del organismo (Lee *et al.*, 2002). Finalmente, elementos de genes Hox han

¹¹Se hace énfasis en diferenciar *regulación* de *expresión* ya que una cosa es que las células respondan diferencialmente en función de los estímulos internos y externos y otra diferente es que esta expresión sea regulada genética o epigenéticamente.

¹²Aunque también se han localizado genes Hox en plantas, por lo que la separación no es absoluta.

sido encontrados en Coanoflagelados (Ruiz-Trillo *et al.*, 2007), al igual que elementos de las cajas MADS lo han sido en algas unicelulares, aunque con funciones no definidas todavía (Tanabe *et al.*, 2005).

1.3.2. Cooptación de los mecanismos

La presencia de muchos de los diferentes elementos moleculares esenciales para la generación de la multicelularidad (comunicación, adhesión y expresión diferencial) en organismos unicelulares deja pensar que estos elementos podrían haber ya existido de manera previa al origen de la multicelularidad. Por lo tanto, en el origen de la multicelularidad, estas herramientas no evolucionaron *de novo* sino que fueron más bien cooptadas, es decir, llevadas a cumplir una nueva función (Newman *et al.*, 2006; Rokas, 2008a; Niklas y Newman, 2013). Paralelamente, es probable que otros procesos como el intercambio de sustancias con el medio (como en bacterias) ya existiera en organismos unicelulares actuales y que tomaran sentido de comunicación como consecuencia del acercamiento de las células. Finalmente, los casos más sencillos de comunicación citoplasmática sólo requieren una deficiencia en la división, por lo que pudo haber sido un proceso simultáneo al origen de la multicelularidad. (La regulación del tamaño y de la permeabilidad de estos canales se piensa como un proceso genético posterior (Bloemendal y Kück, 2013)). El conjunto de genes presentes en todos los organismos multicelulares y en algunos organismos unicelulares es conocido como el *toolkit* genético (Newman *et al.*, 2006).

Por lo tanto, para estudiar los mecanismos que dieron origen a los primeros organismos multicelulares es factible empezar desde entes unicelulares con propiedades básicas de adhesión, comunicación y algún tipo de expresión diferencial. Ahora bien, la *combinación* de estos factores pudo haber llevado a la formación de masas celulares con ciertos niveles de diferenciación espacial en patrones específicos, lo que se revisará en la siguiente sección.

1.4. Origen de los primeros patrones de organización espacial a través de la interacción intercelular

El origen de la diferenciación espacial es uno de los procesos más importantes en la evolución de la multicelularidad. En efecto, los organismos multicelulares actuales presentan patrones de distri-

bución de tipos celulares muy específicos (Maynard-Smith y Szathmáry, 2000). Sin embargo, según unos cuantos autores (Furusawa y Kaneko, 2002; Newman *et al.*, 2006; Newman y Bhat, 2009), los primeros eventos de diferenciación espacial pudieron haber sido una consecuencia necesaria o inevitable de la interacción entre células con propiedades físicas y químicas (adhesión, comunicación y expresión diferencial) y no necesitaron cambios genéticos sustanciales, contrariamente a lo que postula la visión clásica de evolución adaptativa (Huxley *et al.*, 2010). En esta sección se revisará por un lado la postura clásica de evolución para después revisar la propuesta de Newman y colaboradores (2006, 2009) y la propuesta de Furusawa y Kaneko (2002).

1.4.1. Origen de los patrones de organización en el origen de la multicelularidad desde una visión adaptativa; crítica y nueva propuesta.

Bajo la visión clásica de evolución adaptativa, la complejificación de las formas y los tipos celulares es básicamente resultado de cambios graduales en el genotipo (mutaciones aleatorias) que se mantienen por medio de la selección natural o de la deriva génica¹³, y se traducen en cambios graduales en el fenotipo (Huxley *et al.*, 2010)¹⁴. En el desarrollo de los organismos multicelulares actuales, la expresión diferencial es mediada en parte por redes de factores de transcripción como los genes Hox, Dlx, Pbx (Pearson *et al.*, 2005; Newman y Bhat, 2009) y las cajas MADS (Shore y Sharrocks, 1995). Por lo tanto, siguiendo la visión de la evolución adaptativa, los diferentes tipos celulares y su organización en los primeros agregados multicelulares son resultado de la modificación gradual, en primera instancia, de los genes reguladores del desarrollo; estos alteran la expresión de cada célula al igual que su comunicación, llevando a patrones de organización multicelular que posteriormente se pueden seleccionar (Newman y Bhat, 2009).

En el contexto de la transición a la multicelularidad la visión clásica se ha visto confrontada con ciertas contradicciones o retos. Por ejemplo, la famosa explosión cámbrica (Morris y Morris, 1998) en

¹³Hay en principio otras fuerzas, como el flujo génico y la reproducción sexual.

¹⁴Este esquema de evolución adaptativa –resumido en la Teoría Sintética– ha sido criticado en algunos campos de la biología del desarrollo ya que asume una correspondencia directa y generalmente lineal entre el genotipo y el fenotipo; dejando de lado todos los procesos no lineales como la regulación genética, el papel del ambiente y las posibles restricciones estructurales en el desarrollo (Webster y Goodwin, 1996; Pigliucci *et al.*, 2006). Algunos autores han explicado que para tener una visión más integral del desarrollo es necesario tener un enfoque organizmístico y ver al proceso de morfogénesis como un proceso dinámico (Webster y Goodwin, 1996; Benítez, 2011)

la cual, durante un periodo de tiempo relativamente corto, surgieron todos los planes corporales de los metazoarios sin que haya habido por ello un cambio genético correspondiente. Aunado a esto, grupos de metazoarios actuales distanciados evolutivamente desarrollan estructuras con formas muy distintas pero con funciones análogas por medio de los mismos factores de transcripción (*e.g. Pax6/eyeless* en el desarrollo del ojo); es decir, utilizan el mismo *toolkit* genético (Newman *et al.*, 2006). Para poder explicar estos escenarios y proponer diferentes causas explicativas de los primeros patrones de organización espacial¹⁵, otros investigadores han utilizado un esquema en donde las interacciones físicas y químicas son los protagonistas de los primeros procesos morfogenéticos y de diferenciación espacial; en cambio, la regulación genética es posterior (Furusawa y Kaneko, 2002; Newman *et al.*, 2006).

1.4.2. La morfogénesis como una consecuencia de las interacciones fisicoquímicas

Clasificación del *toolkit* genético e implicación evolutiva

Newman y Bhat (2009) argumentan que el *toolkit* genético ancestral de los organismos –presente en muchos organismos unicelulares, como se revisó en la sección anterior– se puede clasificar en dos grupos: en reguladores transcripcionales del desarrollo (RTD) y en módulos formadores de patrones (MFP). El primer grupo corresponde a todos los mecanismos de *regulación* de la expresión diferencial de la célula, que evolucionaron en los miles de millones de años previos a la multicelularidad como por ejemplo *Pax6/eyeless* o *Hox* (Kaiser, 2001; Newman y Bhat, 2009). El segundo paquete corresponde a todos aquellos genes relacionados a la interacción intercelular como aquellos que codifican la adhesión celular o la comunicación (por ejemplo *Wnt*, caderinas, *Notch*). Para Newman y Bhat (2009), los RTD no tuvieron un papel protagónico en los primeros procesos morfogenéticos ya que no rebasan las fronteras celulares y son exclusivamente reguladores de una expresión diferencial ya se llevaba a cabo (*e.g.* las diferentes funciones en *Chlamydomonas*). En cambio, los MFP, acoplados a la expresión diferencial de cada célula, al estar directamente relacionados con la interacción física y química entre células dirigieron los primeros pasos del desarrollo. Dicho en otros términos, los primeros procesos de desarrollo y patrones de organización celular estaban menos regulados genéticamente y tuvieron que haber seguido reglas más generales dictadas por las interacciones físicas y químicas entre las células y con el ambiente

¹⁵Organización espacial se refiere en este trabajo a la regionalización de los tipos celulares en un organismo multicelular.

(Bonner, 2000). La regulación de los patrones por el conjunto RTD sería un proceso posterior (Newman y Bhat, 2009). A continuación, se revisan los posibles patrones resultantes de la interacción entre los MFP.

Módulos formadores de patrones

La idea fundamental de Newman y colaboradores (2006, 2009) es la siguiente. Los MFP (subconjunto del *toolkit* genético) de cada célula regulan la adhesión, la comunicación, la polaridad al igual que las oscilaciones químicas internas. Cuando las células entran en contacto en una masa celular, la interacción de los MFP va a generar dinámicas físicas y químicas emergentes, similares a las propiedades de materiales blandos y excitables (Fig. 1-4).

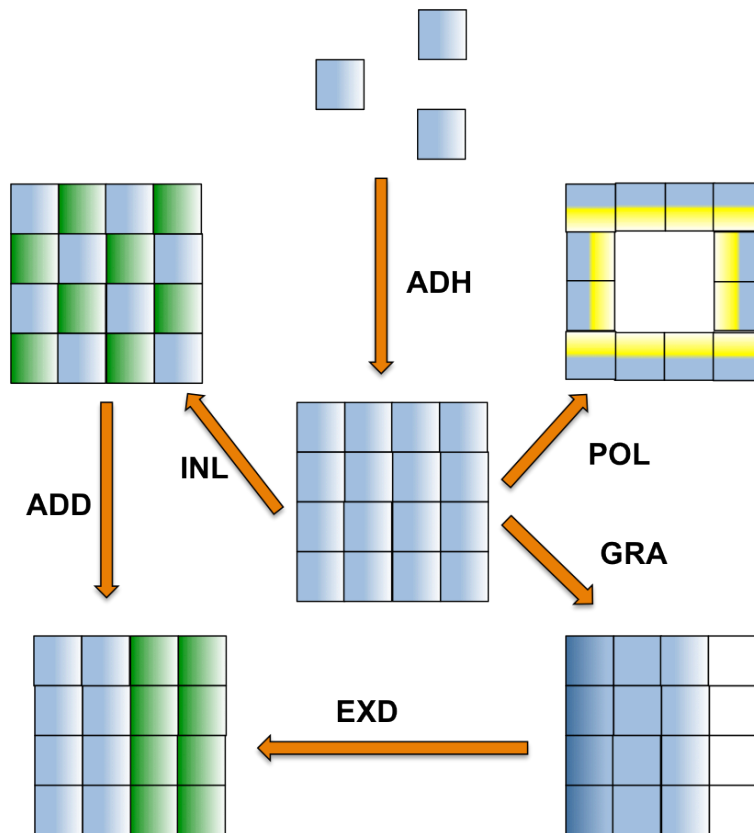


Figura 1-4. Esquema del efecto de la interacción entre los diferentes módulos formadores de patrones. Las células verdes y azules son pensadas como dos tipos de expresión celular –o tipos celulares– diferentes. Las bandas amarillas denotan zonas de la célula con baja adhesión celular. ADH: Adhesión, INL: Inhibición Lateral, ADD: Adhesión Diferencial, POL: Polaridad, GRA: Gradiente, EXD: Expresión Diferencial. Imagen construida a partir de los MFP propuestos por Newman y Bhat (2009).

Para empezar, el módulo de *adhesión* ADH es de los más importantes ya que un aumento en

el nivel de adhesión¹⁶ permite un acercamiento físico entre las células, condición *sine qua non* para la evolución de la multicelularidad (Bonner, 1998, 2000, 2003) (Figura 1-4).

Por otro lado, la acción conjunta de la *comunicación celular* (y difusión de sustancias) y la *reacción interna* de cada célula generan otros MFP. Por ejemplo, si ciertas células del agregado secretan una sustancia X, generarán un gradiente (GRA) a lo largo del agregado (Fig. 1-4). Ahora bien, si las células tienen una expresión diferencial (EXD) según la concentración de la sustancia X, esto conllevará a una regionalización de tipos celulares en el agregado (Fig. 1-4). Con un organismo sintético, Basu *et al.* (2005) ejemplifican este módulo (explicado en la Figura. 1-5).

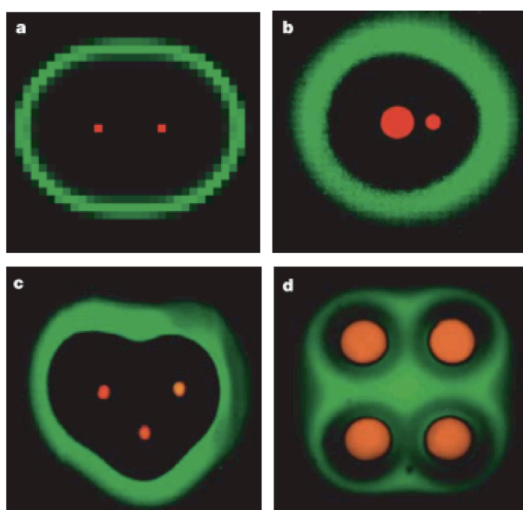


Figura 1-5. Organismo sintético formado por Basu y colaboradores (2005). Unas células fuente generan AHL (en rojo); otras células producen una proteína fluorescente GFP (en verde) a concentraciones *intermedias* de AHL. Se forman patrones de expresión celular que dependen de la localización de la fuente de AHL. a. Simulación computacional de la detección de GFP con dos células secretoras, b-d. diferentes patrones de expresión de GFP según la localización de las células secretoras. Modificado de (Basu *et al.*, 2005).

Aunado a ello, los sistemas de reacción interna como la inhibición lateral (INL) pueden generar patrones en puntos o en bandas según el dominio (Meinhardt y Gierer, 2000; Nijhout, 2003). Aquí, la expresión de un componente en una célula inhibe la producción del mismo en las células vecinas. Un ejemplo biológico es el de las cianobacterias filamentosas en donde la presencia de nitrógeno en las células impide la diferenciación en heterocistos. Las cianobacterias requieren de diferentes nutrientes

¹⁶El mecanismo molecular por el cual se dio este aumento puede variar mucho entre organismos. En efecto, un cambio genético o en el ambiente y en el criterio de selección pudo haber aumentado la adhesividad de las células (Grosberg y Strathmann, 2007), la tasa de secreción de matriz extracelular (Boraas *et al.*, 1998; Kirk, 2005) o simplemente forzado una citocinesis incompleta (Ratcliff *et al.*, 2012; Niklas y Newman, 2013)

como nitrógeno, fósforo y oxígeno para completar su ciclo de vida. Cuando el nitrógeno en su forma soluble escasea (NH_4^+ o amonio) en el medio, la concentración del mismo en algunas células llega a un umbral mínimo. Estas células se diferencian en heterocistos y fijan nitrógeno atmosférico (N_2) bajo forma de NH_4^+ . Al pasarle el amonio a las células vecinas, impiden que éstas lleguen al umbral mínimo y que se diferencien en heterocistos; generan así un patrón característico (Fig. 1-6) (Meeks *et al.*, 2002).

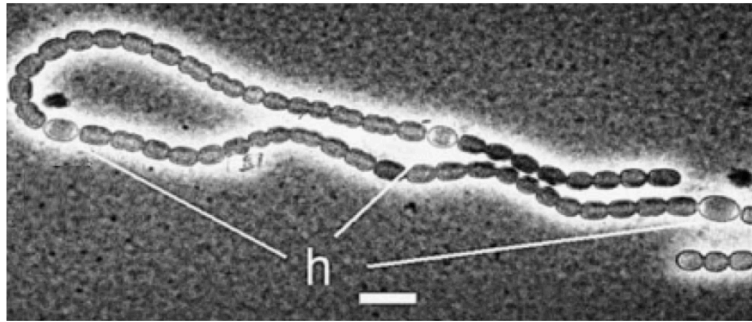


Figura 1-6. Fotomicrografía de contraste de fase de *Nostoc punctiforme* mostrando la disposición de los heterocistos a distancias bien definidas (8 % del filamento). La barra representa 10 μm . Modificado de (Meeks *et al.*, 2002)

Finalmente, si un agregado multicelular está compuesto por dos tipos de células cuya adhesión no es la misma (la adhesión es diferencial ADD), esto puede conducir necesariamente a una segregación y un ordenamiento celular (Fig. 1-4) (Müller, 2007). La segregación celular por ADD explica en parte el fenómeno de gastrulación (Gilbert, 2006). Bajo la misma lógica, si en un agregado con un tipo celular, las proteínas de adhesión no están uniformemente distribuidas, se genera una polaridad (POL) que puede llevar a la formación de una cavidad como el lumen (Fig. 1-4) (Müller, 2007).

Para Newman y colaboradores (2006, 2009), la combinación de estos diferentes módulos podría originar los diferentes planes corporales de los metazoarios y la regulación genética por factores de transcripción sería un evento posterior, mediado por la selección estabilizadora¹⁷. Además, la propuesta de Newman ha sido elegantemente ampliada por Hernández-Hernández *et al.* (2012) en plantas.

La diferenciación espacial como consecuencia de la comunicación celular en sistemas dinámicos

Una segunda propuesta –que resalta la importancia de las interacciones locales celulares en la formación de patrones– es la de Furusawa y Kaneko (2002). Según estos investigadores, la diferenciación

¹⁷Es notable que en sedimentos datados de 600 Ma, se han encontrado este tipo de formas, bastante tiempo antes de la explosión cámbrica en donde surgen las formas complejas de los metazoarios (Xiao *et al.*, 1998).

espacial en los agregados es una consecuencia directa del crecimiento de un agregado compuesto por células con una red dinámica y comunicación intercelular (revisar también Bonner (2004)).

En un modelo matemático espacial, Furusawa y Kaneko (2002) suponen que las células poseen un conjunto de propiedades locales, como la adhesión, la comunicación intercelular y una red interna que regula su ciclo celular, su tipo celular y su muerte. Los tipos celulares alcanzados son equivalentes a los atractores de la red interna¹⁸ (Kauffman, 1969; Huang y Ingber, 2000; Alvarez-Buylla *et al.*, 2007) y dependen del acoplamiento¹⁹ de la red con las redes de las otras células y con el medio. En estado unicelular, como las condiciones del medio son las mismas (y no hay células vecinas), se alcanza siempre el mismo atractor. Cuando crece el agregado, algunas células quedan aisladas del medio y otras quedan en contacto con el mismo, generando así condiciones diferentes para cada una de las células, según su localización. Del mismo modo y debido al acoplamiento de las redes, cada cambio en una célula afectará a las células vecinas modificando sus condiciones. Como resultado, las células alcanzan atractores (tipos celulares) distintos en regiones específicas. En efecto, en la simulación se generan patrones de diferenciación espacial en anillos y en bandas, según los planos de división (Fig. 1-7).

En el trabajo de Furusawa y Kaneko (2002), la adhesión entre las células es modelada como resortes intercelulares, por lo que es fija a lo largo de la simulación. Por lo tanto, la única variable que influye en su modelo es la comunicación entre células y la dinámica interna de cada célula. El resultado básico de su modelo es que el acoplamiento celular lleva necesariamente a la regionalización de la expresión celular. Un ejemplo de este proceso de acoplamiento celular y regionalización es visible en el patrón de determinación de los tipos celulares en *Dictyostelium* (Bonner, 2000).

Creación in vitro de nuevas masas celulares con cierto grado de diferenciación

Existen dos ejemplos de evolución de la multicelularidad *in vitro* que sustentan la importancia de la adhesión celular y la emergencia de la diferenciación celular en agregados formados *de novo* (Ratcliff *et al.*, 2012, 2013). Estos investigadores lograron recrear la multicelularidad en dos ocasiones a partir

¹⁸La idea de comparar los tipos celulares con los atractores de una red dinámica de regulación (que resume el conjunto de interacciones genéticas y ambientales) fue propuesta originalmente por Kauffman (1969). En los métodos se ahonda más en este enfoque.

¹⁹El acoplamiento se refiere a que los componentes de cada una de las redes, a través de la comunicación celular, afectan los componentes de las otras redes. De esta manera, la dinámica de una red influye directamente sobre la dinámica de las otras redes. Las redes están acopladas

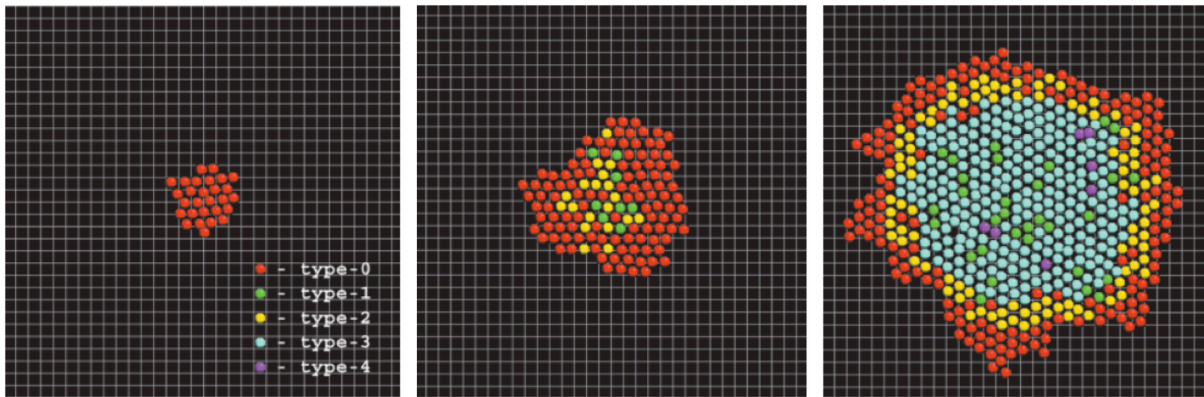


Figura 1-7. Resultados de las simulaciones de Furusawa y Kaneko (2002). Se muestra el desarrollo del agregado celular en anillo. Cada color representa un tipo celular particular determinado por la red de regulación interna. Modificado de (Furusawa y Kaneko, 2002).

de organismos unicelulares. En ambos trabajos, construyeron un experimento de selección artificial por gravedad. En una población unicelular seleccionaban aquellos organismos que, bajo una fuerza centrífuga, se asentaban más rápidamente. Cada escenario de selección se realizó múltiples veces. En pocas generaciones obtuvieron cúmulos multicelulares formados por división incompleta. En el primer trabajo, con *Saccharomyces cerevisiae*, la formación del cúmulo celular se dio por proteínas de membrana y en el segundo trabajo con *Chlamydomonas reinhardtii* la formación del cúmulo fue a través de la matriz extracelular (Fig. 1-8). Por último, pero no menos interesante, en los dos experimentos, los organismos desarrollaron sistemas estables de formación de propágulos unicelulares –sea a través de la muerte específica de algunos tipos celulares que al morir permitían la separación del cúmulo celular en fragmentos más pequeños o a través del desprendimiento de la matriz extracelular– que maximizaban su velocidad de crecimiento (Ratcliff *et al.*, 2013, 2012). Por lo tanto, la formación de las primeras masas celulares con cierto grado de diferenciación espacial no parece haber sido un evento muy complicado durante el curso de la evolución; además, parece posible que sea una consecuencia inevitable de la interacción física y química entre los organismos unicelulares. Esto va de acuerdo con la propuesta de cooptación de ciertos elementos clave de interacción (como los componentes básicos de adhesión y comunicación) durante la transición a la multicelularidad. Los módulos de adhesión y de comunicación son esenciales, pero parecen tener ciertas variables que no han sido estudiadas explícitamente, lo que se verá a continuación.

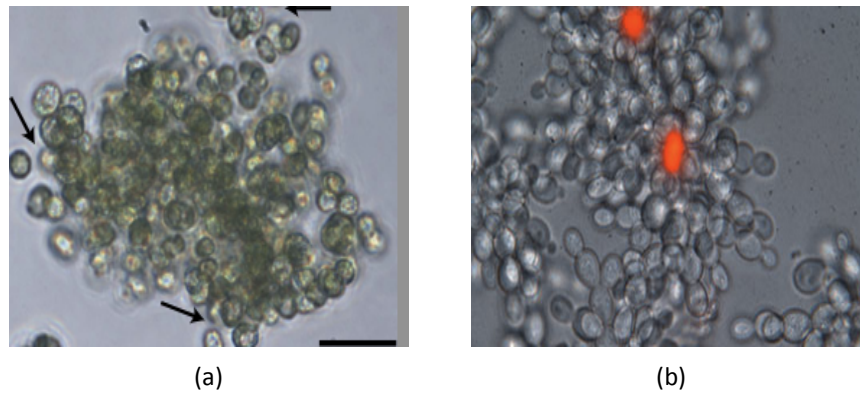


Figura 1-8. Resultados de los experimentos de evolución de la multicelularidad realizados con *Chlamydomonas reinhardtii* (a) y con *Saccharomyces cerevisiae* (b). a. Las flechas indican el punto de ruptura de la matriz extracelular. b. Las células Rojas son aquellas que entran en apoptosis para permitir el desprendimiento de propágulos de menor tamaño. Modificado de (Ratcliff *et al.*, 2012, 2013).

1.5. Tipos de comunicación y fuerza de adhesión en la generación de patrones; planteamiento del trabajo

La comunicación y la adhesión celular son características necesarias en los modelos de Newman *et al.* (2006) y Furusawa y Kaneko (2002) que definen la interacción entre células. Por lo tanto, en asociación con las redes de expresión internas, también determinan los primeros patrones de diferenciación espacial. No obstante, cada uno de los organismos que transitaron hacia la multicelularidad tuvieron diferentes mecanismos moleculares de comunicación y adhesión, asociados entre ellos o no. Por lo tanto, los *módulos de interacción* (adhesión, comunicación) y los patrones asociados a los mismos, varían (Nijhout, 2003; Niklas, 2014). En la siguiente sección se revisa por un lado qué diferencias importantes existen con respecto a la comunicación y a la adhesión para explicar finalmente la problemática del trabajo realizado.

1.5.1. Tipos de comunicación: directa o indirecta

La comunicación intercelular permite que se generen gradientes de moléculas al igual que un acoplamiento dinámico entre las células y con el medio (Kaneko, 2003; Newman *et al.*, 2006). Como se revisó anteriormente, la comunicación puede ser por contacto, por difusión, de manera directa o a través del medio (Alberts *et al.*, 2002). Algunos autores ya han trabajado sobre las diferencias que existen en la

generación de patrones de expresión de agregados formados a partir de células que se comunican por *contacto* directo (e.g. Delta-Notch) o por *difusión* de sustancias (e.g. septos o plasmodesmos)(Salazar-Ciudad *et al.*, 2000)²⁰. En efecto, la velocidad de transmisión entre estos dos tipos de comunicación lleva a patrones de expresión muy variados²¹. Además, otros autores han diferenciado el hecho de que algunas células sean secretoras y otras sólo receptoras en el tipo de comportamiento poblacional (Basu *et al.*, 2005; Youk y Lim, 2014)²².

No obstante, no se ha realizado un modelo que diferencie la comunicación *directa* (célula-célula) y la comunicación *indirecta* (célula-medio-célula), ambos por mecanismos de difusión. La distinción es relevante por dos razones principales. Para empezar, la comunicación indirecta presente en la agregación de algunos protistas (Bonner, 2000) o en el desarrollo de *Volvox* (Kirk, 2005) puede generar diferencias espaciales resultado de la localización de la célula con respecto al medio. En efecto, la información de una célula al interior del agregado que no puede comunicarse con el medio no será la misma que la de una célula periférica en contacto con el medio, acarreando posibles diferencias en la expresión²³. En cambio, si las células pueden comunicarse sólo de manera directa, no existirá esta diferencia posicional. Después, como explica Nijhout (2003), la forma de comunicación influirá directamente sobre las tasas de difusión y degradación de las moléculas y por lo tanto sobre los tipos de patrones que se pueden generar. Por ejemplo, en el caso de la comunicación directa, las tasas de difusión son altas y las tasas de degradación son las mismas en todas las células. En la comunicación indirecta, como la sustancia cambia de ambiente (pasa por el medio exterior), las tasas de difusión y de degradación pueden ser variables (en el modelo de Furusawa y Kaneko (2002), la comunicación es indirecta, pero las tasas de degradación en el medio y en las células es la misma). En efecto, la composición enzimática no es la misma al interior que al exterior de las células. Estas diferencias pueden influir sobre el grado de acoplamiento celular.

²⁰Vale la pena recordar que ambos mecanismos son considerados como comunicación directa, ya que necesitan un acercamiento físico entre las células.

²¹Salazar-Ciudad *et al.* (2000) hacen una comparación de los perfiles de expresión espaciales obtenidos a través de redes de expresión celular, bajo dos escenarios de comunicación: modelo de inducción directa de contacto (DCIM por sus siglas en inglés) y modelo de difusión (DM *ídem*). En la discusión se hace una comparación más detallada con este modelo.

²²En efecto, según Youk y Lim (2014), en poblaciones densas, tener algunas células que secretan y reciben y otras que sólo reciben permite generar comportamientos colectivos (como los autoinductores en bacterias). En cambio, los sistemas que favorecen específicamente la secreción de corto alcance y recepción de moléculas favorecen las conductas asociales y la generación de estados bimodales (como en el caso de la autoreplicación de linfocitos T) (Youk y Lim, 2014).

²³ En el caso en donde la comunicación es por difusión pasiva de moléculas que puedan atravesar libremente las membranas y que por lo tanto tienen comunicación directa como indirecta, tendrán aún así una diferencia posicional; no será lo mismo para una molécula atravesar dos o más membranas al interior del agregado, que una sólo membrana al exterior del mismo.

1.5.2. Fuerza de la adhesión celular

La adhesión celular es un factor fundamental para la formación de cúmulos celulares con diferenciación celular y para los procesos de segregación celular en los agregados (Newman *et al.*, 2006; Newman y Bhat, 2009; Garcia *et al.*, 2014) Específicamente, la adhesión toma dos papeles. Primero como módulo de adhesión ADH (Fig. 1-4) permite la unión entre las células (y por lo tanto abre la puerta al acoplamiento entre células). En segundo, cuando la adhesión está asociada a los tipos celulares y es diferencial ADD (Fig. 1-4) impulsa el proceso de segregación celular (Newman *et al.*, 2006; Newman y Bhat, 2009). Cuando la adhesión *no* está asociada a los tipos celulares (todas las células tienen la misma adhesión), se dirá que es **general**.

La adhesión **general** (alta, media o baja) de un agregado varía en función de la maquinaria molecular de las células y puede tener efectos importantes en el tipo de acoplamiento de los primeros agregados multicelulares. Tres razones motivan el hecho de diferenciar la intensidad en la adhesión.

En primer lugar, si en un agregado la fuerza de la adhesión celular disminuye, el movimiento celular aumenta. Este es el caso en el desarrollo actual de los animales en donde la elevada tasa de recambio de las proteínas disminuye la adhesión (Bloemendal y Kück, 2013) e incrementa el movimiento²⁴. En cambio, en otros organismos como las plantas, algas o bacterias en donde el mecanismo de adhesión es dado por la pared vegetal y/o una división incompleta (Scheres, 2001; Sebé-Pedrós *et al.*, 2013), la adhesión es alta y el movimiento celular es bajo (Niklas, 2014). La diferencia en la adhesión general (baja o alta) es importante ya que, en el caso de la adhesión baja, el movimiento hará que cada célula cambie su posición relativa a las otras células, lo que afecta el acoplamiento celular. En segundo lugar, la adhesión celular puede estar relacionada con la comunicación, según el mecanismo molecular que ocasiona cada uno (Niklas, 2014). Por lo tanto, la combinación de los tipos de comunicación con la fuerza de adhesión puede ejemplificar algunas de las diferencias en los procesos de desarrollo. Por ejemplo, en el caso de las plantas o los hongos con plasmodesmos y septos, la comunicación es directa y la adhesión es alta. En el caso del desarrollo animal, la comunicación es directa (uniones gap) y la adhesión es baja. Finalmente, en algunos procesos de desarrollo, la fuerza de adhesión puede ir cambiando en el tiempo. Es

²⁴En el desarrollo de los animales, la adhesión no es general, ya que está asociada a los tipos celulares y constituye un proceso morfogenético esencial (Gilbert, 2006). No obstante, es factible pensar que en algunos de los primeros agregados celulares, la adhesión habría sido *baja* sin estar asociada a los tipos celulares, siendo entonces *general*

el caso del desarrollo de bacterias multicelulares con una fase móvil unicelular y multicelular y una fase estática multicelular *Myxococcus xanthus* (Kaiser, 2001). Estudiar el cambio en la fuerza de adhesión en el tiempo puede arrojar pistas sobre los procesos de desarrollo de estos organismos.

Por todo lo anterior, es interesante evaluar el efecto de la fuerza de adhesión (y su cambio en el tiempo) en la generación de los primeros patrones de diferenciación celular, al igual que su conexión con la comunicación celular.

1.5.3. Planteamiento del trabajo

La división de funciones y la concomitante diferenciación celular en los primeros organismos multicelulares es una de las características clave en la transición a la multicelularidad (Maynard-Smith y Szathmáry, 2000). De manera específica, es interesante saber qué mecanismos subyacen a esta diferenciación (es decir el *cómo* de los primeros patrones de diferenciación celular en el agregado). Estudiar los mecanismos de formación de los primeros organismos multicelulares arroja luz sobre los principios generales del desarrollo actual, por lo que es extremadamente relevante (Bonner, 2000). Como se argumentó previamente, algunas hipótesis sustentan el hecho de que los patrones de diferenciación y organización espacial de los tipos celulares en los primeros organismos multicelulares se pueden entender como una consecuencia de la interacción de componentes de adhesión, comunicación, polaridad y la regulación de la expresión (Newman *et al.*, 2006) por un lado, y del acoplamiento de las redes de regulación por el otro (Furusawa y Kaneko, 2002). En efecto, combinando los módulos de adhesión, comunicación y el acoplamiento celular Furusawa y Kaneko (2002) y Newman *et al.* (2006) han generado diferentes tipos de patrones emergentes de diferenciación espacial en los primeros organismos multicelulares.

En este trabajo se quiso ampliar esta visión agregando ciertos factores que no habían sido evaluados sistemáticamente por los autores previos como los diferentes tipos de comunicación que pueden tener las células (directa e indirecta) y la fuerza de la adhesión (alta, media o baja). Se piensa que estos factores modifican el tipo de interacción entre las células y por lo tanto los patrones de diferenciación espacial generados en el origen de la multicelularidad. La importancia de diferenciar estas variables se explica en la sección anterior; no obstante, es importante resaltar que la diferencias en la comunicación

y la adhesión se encuentran ya en organismos unicelulares²⁵. Por lo tanto, tiene sentido, en el cuadro del origen de la multicelularidad, tomarlas en cuenta.

En consecuencia, lo que se realizó fue un análisis teórico de la influencia de los tipos de comunicación y fuerza de la adhesión, asociadas a una red de determinación celular (o de expresión diferencial) en la generación de patrones de diferenciación celular en los primeros organismos multicelulares. Para ello, se decidió construir un modelo matemático. Los modelos matemáticos permiten simplificar e integrar las diferentes variables (con múltiples escalas) para buscar su relación. Además, suponen un claro proceso de abstracción, por lo que los resultados obtenidos son principalmente cualitativos; es decir, permite la búsqueda de ciertos principios generales – lo que ve acorde a la búsqueda de principios básicos del desarrollo (Bonner, 2000). En la siguiente sección se ahonda más sobre los tipos de modelos matemáticos y el tipo de modelo usado.

1.6. Modelar de la naturaleza

Muchos procesos sociales y biológicos tienen una gran cantidad de variables relacionadas de manera no lineal; por lo tanto es esencial abordarlos desde un enfoque integral. Una manera de hacerlo es a través de la búsqueda de los elementos cualitativos, con la ayuda de modelos (Waddington, 1977; Levins, 2014).

Uno de los objetivos de modelar un fenómeno de la naturaleza o algún proceso social es distinguir los factores que tienen influencia en la explicación del proceso de los factores que no tienen. Para poder identificar estos factores es esencial realizar una simplificación del fenómeno; es decir aislar ciertas características de la naturaleza y ver qué tipo de relación tienen entre ellas. Esta simplificación es *necesaria y natural* en el proceso cognitivo del ser humano. Es necesaria ya que el grado de complejidad de los fenómenos naturales es muy alto y sólo simplificándolos podemos entenderlos; es natural ya que, en sentido amplio, realizamos lo mismo con toda la información que nos llega del medio exterior: lo interpretamos y modelamos según el tipo de información (Waddington, 1977). Por medio de este proceso se generan conceptos y se realiza la búsqueda de leyes de la naturaleza (Waddington, 1977). Un ejem-

²⁵Por ejemplo, la diferencia en la fuerza de adhesión va a depender del mecanismo molecular de adhesión (pared celular, integrinas, etc.) asociadas al tipo celular. A su vez, los tipos de comunicación (directa e indirecta) están determinadas por el tipo de división celular, el tipo celular y los diferentes mecanismos de secreción de sustancias

plo canónico es la utilización de mapas para ilustrar procesos demográficos, sociales o naturales en un territorio definido; se escogen ciertas variables con el fin de ver qué tipo de relación tienen entre ellas. Es decir, se sacrifica información para obtener conocimiento (Miramontes, 1998).

Incluso, aunque se pudiera realizar una representación sistemática y fidedigna de toda la realidad, sería inoperable, ya que como explica tan acertadamente Borges en *Historia universal de la infamia*, sería lo mismo que la realidad:

«En aquel imperio, el arte de la cartografía logró tal perfección que el mapa de una sola provincia ocupaba toda una ciudad, y el mapa del imperio toda una provincia. Con el tiempo, estos mapas desmesurados no satisficieron y los colegios de cartógrafos levantaron un mapa del imperio, que tenía el tamaño del imperio y coincidía puntualmente con él. Menos adictas al estudio de la cartografía, las generaciones siguientes entendieron que ese dilatado mapa era inútil y no sin impiedad lo entregaron a las inclemencias del sol y de los inviernos»

(Borges, 1954)

Por lo tanto modelar un fenómeno no se trata solamente de traducirlo en símbolos, sino más bien de escoger ciertas variables, entender su relación y conceptualizar los procesos. En la Biología se emplean una gran cantidad de modelos; sistemas modelos, organismos modelo, modelos conceptuales (e.g. genética de poblaciones) y modelos matemáticos (Laubichler, 2007). Cada uno de ellos tiene aplicaciones diferentes, pero todos nacen de la misma necesidad de un entendimiento de la naturaleza. Aquí nos enfocaremos en los modelos matemáticos y computacionales.

1.6.1. Los modelos matemáticos y computacionales en biología

Una primera aproximación al estudio de la complejidad se puede dar por medio de modelos estadísticos (Laubichler, 2007). En este caso, lo que se busca es una correlación entre variables; una democracia de factores (Levins, 2014). Si bien la aproximación estadística permite trabajar con una gran cantidad de datos y ha sido una herramienta fundamental para la biología, no intenta explicar los fenómenos. Bajo esta visión, se puede determinar qué factores están correlacionados, pero no si tienen una relación causal uno con el otro.

Otra gama de modelos son aquellos que establecen relaciones causales entre los factores que se estudian. Estos modelos se pueden dividir en modelos cuantitativos y cualitativos (Bonner, 2000), lo que se relaciona directamente con su uso. Otra división complementaria de los modelos puede hacerse en función de su grado de generalidad, precisión y realismo (Levins, 1966) (Fig. 1-9).

Los modelos cuantitativos están relacionados con la descripción de un sistema en específico. Su objetivo es cuantificar y realizar predicciones medibles sobre el sistema de estudio, con el fin de intervenirlos (Bonner, 2000). Un ejemplo son los modelos de pesquerías que ponen en interacción tasas de reproducción, temperatura, salinidad del agua y otros factores. Aquí, los modelos tienen mucha precisión y realismo, pero poca generalidad (Levins, 1966).

En el caso de los modelos cualitativos, el objetivo no es realizar predicciones de un sistema en específico, sino más bien construir cierto entendimiento e intuición más general sobre un fenómeno biológico en sentido amplio (Levins, 1966; Bonner, 2000). Aparte de generales, los modelos cualitativos pueden ser muy precisos (pero poco realistas) como algunos modelos físicos, por ejemplo el modelo de depredador-presa de Lotka-Volterra (Murray, 2002). En tales modelos, se omiten ciertos detalles que son fundamentales en las poblaciones como los retrasos temporales, los estados fisiológicos u otros, lo que conduce a conclusiones no específicas a algún sistema, por lo que han sido criticados de poco realistas (Levins, 1966)²⁶. Por último, ciertos modelos omiten la precisión para obtener generalidad y realismo. En estos modelos se comparan variables extraídas directamente desde el sistema de estudio, en términos relativos, con el fin de conocer el efecto de una sobre la otra y realizar ciertas conexiones causales. Un buen ejemplo es el desarrollado por Levins (1962) para determinar la influencia de la heterogeneidad espacial y temporal del ambiente sobre el polimorfismo. Independientemente de si son realistas o precisos, los modelos cualitativos intentan buscar los principios más generales y sencillos, por lo que parecen estar particularmente bien adaptados para estudiar el origen de la multicelularidad (es decir, para buscar los principios generales del desarrollo) (Bonner, 2000).

Las hipótesis generadas en los modelos cualitativos pueden y deben a su vez ser comparadas

²⁶No obstante, el modelo de depredador/presa de Lotka-Volterra cubre muchas limitantes de los modelos estadísticos. Por ejemplo, si estudiamos la relación ecológica –depredador/presa– desde un enfoque estadístico tenemos lo siguiente. Desde el punto de vista del depredador hay una correlación negativa con la presa: si aumenta el depredador, la presa disminuye. En cambio, desde el punto de vista de la presa, la correlación es positiva: si aumenta la presa, el depredador también (Levins, 2014). En cambio, los modelos de Lotka-Volterra agregan los componentes no lineales que ilustran de manera más completa la interacción.

con trabajos experimentales o *in vivo* (Laubichler, 2007).

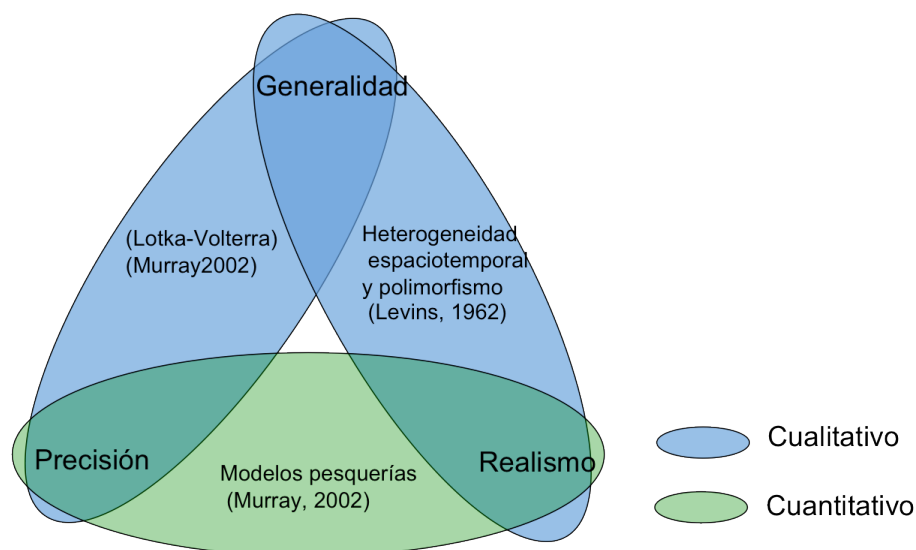


Figura 1-9. Clasificación de los tipos de modelos matemáticos según Levins (1966) y Bonner (2000). Los modelos pueden ser sea cualitativos o cuantitativos. Los modelos cuantitativos buscan precisión y realismo; por lo que sacrifican generalidad. Los modelos cualitativos, generales, sacrifican sea la precisión, sea el realismo. Los modelos citados se explican en el texto.

El desarrollo de los modelos matemáticos está relacionado directamente con las simulaciones computacionales. En efecto, en algunos modelos cualitativos bastante flexibles, la visualización de los resultados es crucial para entender la relación de los fenómenos. Por otro lado, en campos como la biología del desarrollo y biología teórica en donde el objetivo es entender la formación de patrones, los modelos matemáticos espaciales con cierta visualización gráfica son esenciales (Laubichler, 2007).

1.6.2. Modelos matemáticos del origen de la multicelularidad

El estudio de la biología del desarrollo tiene una gran brecha entre el exceso de información genética (por el auge de la secuenciación y otras tecnologías de alto rendimiento) y los patrones multicelulares y fenotípicos observados; es lo que se conoce como la caja negra del desarrollo (Murray, 2002). El uso de modelos matemáticos cualitativos –acompañados de simulaciones computacionales– permite postular y evaluar ciertos principios generales del desarrollo; su simple construcción obliga a preguntarse cuáles variables considerar y cuáles no (Laubichler, 2007)²⁷.

²⁷Unos ejemplos significativos son la modelación de asimetrías durante el desarrollo (Rasskin-Gutman y Izipisúa-Belmonte, 2004), del desarrollo de diferentes órganos o tejidos como la angiogénesis inducidas por tumores (Mantzaris *et al.*, 2004), del desarrollo de los huesos por mecanismos de reacción-difusión (Zhu *et al.*, 2010) o del control del ciclo celular en *Xenopus*

Aunado a esto, una manera de entender los principios generales del desarrollo es estudiando el origen del mismo, que en otras palabras, corresponde al origen de la multicelularidad (Bonner, 2000). En el estudio del origen de la multicelularidad han habido toda una serie de modelos matemáticos, con diferentes supuestos y herramientas –muchos de los cuales ya se revisaron anteriormente. Algunos de estos se han enfocado en entender el origen de la agregación, sea por adhesión por el contacto célula-célula (Sozinova *et al.*, 2005) o por diferencias en la movilidad (Beatrici y Brunnet, 2011). Otros han buscado más bien una relación entre el origen de la multicelularidad y el mantenimiento de la cooperación (Tarnita *et al.*, 2013; Pfeiffer y Bonhoeffer, 2003).

Por otro lado, y lo que más interesa para este trabajo, algunos modelos se han enfocado en estudiar la emergencia de patrones de diferenciación celular y formas multicelulares *a partir de la interacción de propiedades locales*. Muchas de las herramientas empleadas en estos trabajos se recuperaron para la construcción del modelo aquí realizado. Para empezar, ciertos estudios se han enfocado en la relación entre las redes de regulación en las células, la comunicación celular y el surgimiento de patrones de diferenciación espacial en el proceso del desarrollo (Meinhardt, 1983; Collier *et al.*, 1996; Salazar-Ciudad *et al.*, 2000; Benítez *et al.*, 2008; Azpeitia *et al.*, 2010) o específicamente en el origen de la multicelularidad (Furusawa y Kaneko, 2002).

Complementarios a estos trabajos, otros modelos toman en cuenta dinámicas celulares como la adhesión o el movimiento celular; estos elementos generan a nivel grupal procesos morfogenéticos variados (Newman, 2003). Aquí el enfoque que se quiere retomar es el de la modelación multiescala. En efecto, se deben tomar en cuenta procesos intracelulares (expresión de diferentes proteínas a nivel celular), intercelulares (difusión de sustancias) y tisulares (por la formación del agregado multicelular).

Muchas de estas herramientas fueron utilizadas en la construcción del modelo, lo que se explicará con más detalle en el método. Teniendo en cuenta el alcance de los modelos matemáticos se procede a continuación a explicar los objetivos claros del trabajo que buscan resolver la problemática expuesta en la sección anterior.

(Novak y Tyson, 1993). Estos modelos son multiescala, es decir, toman en cuenta escalas moleculares, celulares, tisulares y orgánicas (Glazier *et al.*, 2007). No obstante, no son tan útiles para este estudio ya que tienen supuestos no válidos para el origen de la multicelularidad, tales como dominios tisulares ya dados o redes de regulación genética específicas a un sistema.

2. Objetivos e Hipótesis

El **objetivo general** del trabajo es estudiar, por medio de un modelo computacional, la influencia del tipo de comunicación y de la fuerza de adhesión en la generación de patrones de diferenciación espacial en los primeros agregados multicelulares.

En tanto que los **objetivos particulares**, derivados del anterior, son los siguientes:

- Construir un modelo matemático dinámico de Potts¹ que simule la interacción de entes unicelulares con diferentes propiedades locales (red interna de regulación, volumen, superficie, comunicación y adhesión celular).

- A partir de este modelo, evaluar si las diferencias en los tipos comunicación –directa, indirecta o ambas– son suficientes para generar distintos patrones de organización en la formación de agregados multicelulares.

- Evaluar el papel de la fuerza de adhesión –alta, media alta, media y baja –, en combinación con el tipo de comunicación, en la generación de dichos patrones.

- Analizar la robustez y estabilidad de cada uno de los patrones de diferenciación celular recuperados, ante perturbaciones químicas y diferentes condiciones iniciales.

- Discutir los patrones obtenidos en función de las hipótesis de Newman y Bhat (2009) y Furusawa y Kaneko (2002) sobre el origen fisicoquímico de los primeros patrones de especialización celular y compararlos con algunos procesos de desarrollo de organismos multicelulares simples.

La **hipótesis** del trabajo es la siguiente:

Las diferencias en la fuerza de adhesión y/o en el tipo de comunicación entre células –con una red interna de expresión diferencial– llevarán a la generación de distintos patrones estables de organización espacial de los tipos celulares en nuevos agregados multicelulares. Estos a su vez serán comparables a algunos patrones de organización de organismos multicelulares simples.

¹Los modelos de Potts se explican con mayor detalle en los métodos.

3. Métodos

3.1. Construcción del modelo

Para estudiar el efecto de la comunicación y de la adhesión celular en la formación de patrones de diferenciación espacial –análogos a aquellos formados en el origen de la multicelularidad– se planteó un modelo computacional. En el modelo, las células poseen una red interna de expresión diferencial (que determina el tipo celular), movilidad, un volumen y una superficie celular. Por otro lado, cada célula tiene un tipo de comunicación; ya sea directa (célula-célula), indirecta (célula - medio exterior - célula) o una combinación de ambas (mixta). Las células también tienen alguna fuerza de adhesión (alta, media-alta, media o baja). La combinación de los diferentes tipos de comunicación y niveles de adhesión nos da los diferentes escenarios evaluados en el trabajo. Las características enunciadas (movilidad, adhesión, comunicación, red interna, volumen y superficie) se trabajaron sin detallar sus causas moleculares, solamente asumiendo que existen y estudiando sus efectos. Propiedades como la muerte y la división celular por un lado y un escenario evolutivo (*e.g.* adecuación, paisaje adaptativo) no son consideradas en este modelo; sin embargo, deberán ser agregados en trabajos posteriores.

3.1.1. Red interna de expresión diferencial

El primer elemento del modelo es la red interna de expresión de cada célula. Ésta esquematizará la dinámica interna de la células que determina el tipo celular. En vista de la enorme cantidad de interacciones –intracelulares, intercelulares y que además son dinámicas en el tiempo y en el espacio– que poseen los organismos unicelulares actuales, ciertos enfoques como la teoría de redes son de enorme ayuda (Kauffman, 1993; Salazar-Ciudad *et al.*, 2000; Huang y Ingber, 2000; Espinosa-Soto *et al.*, 2004; Benítez *et al.*, 2008).

En las redes de regulación, los genes, proteínas o factores ambientales se representan como

nodos y sus interacciones (activación, represión) como conexiones entre los mismos (Kauffman, 1993). A su vez, cada red va acompañada por un conjunto de reglas que determinan el estado de los nodos a todo momento; es decir, su dinámica. Eventualmente, la dinámica de la red llega a un conjunto de estados estables conocidos como atractores. Hace más de 50 años, Kauffman postuló que los estados estables de las redes podrían corresponder a los diferentes tipos celulares de los organismos (Kauffman, 1969). Esta hipótesis ha sido comprobada por algunos trabajos en donde los estados de los nodos en los atractores corresponden efectivamente a los perfiles de expresión de los tipos celulares (Huang y Ingber, 2000; Espinosa-Soto *et al.*, 2004; Benítez *et al.*, 2008).

Las redes de regulación pueden incorporar funciones discretas (por medio de reglas lógicas) o continuas (ecuaciones diferenciales) para describir las reglas que gobiernan su dinámica. A su vez, pueden incorporar un elemento estocástico por medio de perturbaciones, lo que evita que sean deterministas y permite tener una medida de la robustez de la dinámica (ver Figura 3-1) (Alvarez-Buylla *et al.*, 2007).

En este trabajo se utilizó un modelo de **activador- inhibidor**. Este modelo es un caso particular de los sistemas de reacción-difusión propuestos por Alan Turing en 1952, para explicar algunos procesos de morfogénesis (Turing, 1952). El sistema activador-inhibidor es ubicuo en los procesos regulación en la naturaleza. Muchos procesos de generación de patrones parecen estar regidos por este sistema (formación de pelos en raíz o de tricomas en las hojas de las Brassicáceas (Benítez *et al.*, 2007), generación de patrones en *Drosophila melanogaster* por los sistemas *delta-notch* de comunicación (Collier *et al.*, 1996) o distribución de los folículos pilosos en mamíferos (Sick *et al.*, 2006)).

En dicho sistema, un nodo *activador* activa un nodo *inhibidor* a una tasa r_{AI} y se activa a sí mismo a una tasa r_{AA} . A su vez, el nodo *inhibidor* reprime al nodo *activador* a una tasa r_{IA} (Fig. 3-2).

En el modelo el activador (A) es sintetizado a partir de un precursor (pA) y su síntesis es Activada por A . A activa la síntesis del inhibidor (I) a partir de un precursor pI y a su vez I inhibe la síntesis de A . Ni A ni I tienen síntesis constitutiva. Por otro lado, A e I tienen una tasa de degradación d_A y d_I respectivamente (Fig. 3-3).

Finalmente, se supone que pA y pI se encuentran en exceso, por lo que no limitarán la síntesis de A ni de I , cuya presencia sólo dependerá del conjunto de activaciones y represiones explicadas. Todo

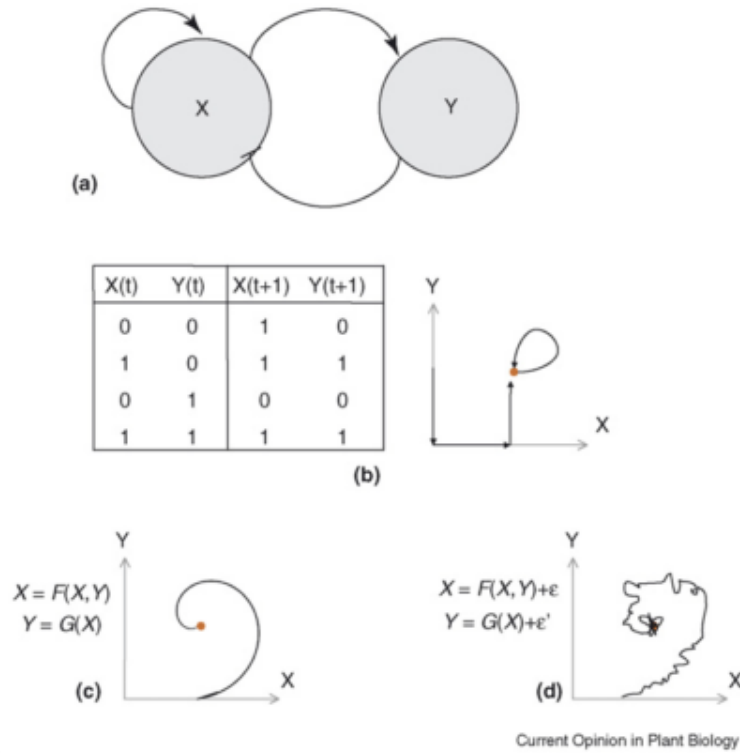


Figura 3-1. Ejemplo de una red de regulación con dos genes. (a). Red compuesta de dos elementos (X y Y) con interacciones positivas (punta en flecha) y negativas (punta plana). (b) Tabla de verdad de la red y representación gráfica de la trayectoria discreta resultante de aplicar la tabla de verdad. (c) Caso continuo determinista dado por ecuaciones diferenciales y la representación gráfica de la trayectoria (d) Caso estocástico con una dinámica similar. Imagen modificada de Alvarez-Buylla *et al.* (2007).

esto se puede resumir en el sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias 3.1.1 y 3.1.2.

$$\frac{dA_i}{dt} = \frac{r_{AA}A_i^2}{r_{IA}I_i} - d_A A_i \quad (3.1.1)$$

$$\frac{dI_i}{dt} = r_{AI}A_i^2 - d_I I_i \quad (3.1.2)$$

En donde: A_i = Concentración del activador en la célula i. I_i = Concentración del inhibidor en la célula i.

Para simplificar, se tomó $k_1 = r_{AA}/r_{IA}$, $k_2 = d_A$, $k_3 = r_{AI}$ y $k_4 = d_I$ para obtener el siguiente sistema:

$$\frac{dA_i}{dt} = \frac{k_1 A_i^2}{I_i} - k_2 A_i \quad (3.1.3)$$

$$\frac{dI_i}{dt} = k_3 A_i^2 - k_4 I_i \quad (3.1.4)$$

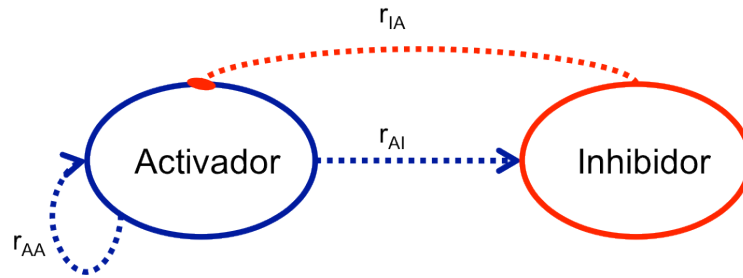


Figura 3-2. Modelo de regulación negativa y positiva colapsada. Las conexiones con terminación en flecha representan un activación, las conexiones con terminación en óvalo representan una inhibición.

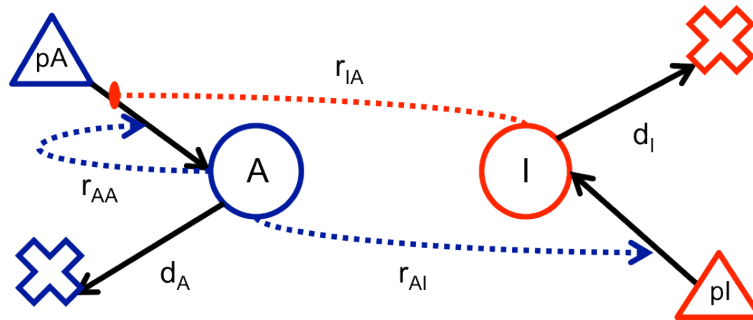


Figura 3-3. Esquema del modelo de activación-inhibición. Las flechas continuas representan transformaciones de los elementos y las flechas discontinuas representan las activaciones y las represiones. pA y pI son los precursores de A y de I . Las cruces representan la degradación de A y de I . La explicación del esquema está en el texto.

Cada una de las células posee esta red que simula las interacciones intracelulares. Los parámetros k_1 , k_2 , k_3 y k_4 fueron escogidos en un espacio en donde el estado estable de la red es un atractor no trivial de punto fijo, robusto a pequeños cambios en los parámetros (el análisis cualitativo se presenta en el Anexo). Específicamente, se escogieron los valores $k_1 = 0.004$, $k_2 = 0.005$, $k_3 = 0.005$, $k_4 = 0.008$ (Fig. 3-4).

Los estados estables alcanzados por la red son los tipos celulares. Si, en el punto estable, la concentración del activador es mayor a la concentración del inhibidor, el tipo celular es *Activada* o *Azul*. Si la concentración del activador es menor a la concentración del inhibidor, se dirá que el tipo celular es *Inhibida* o *Roja*. (Fig. 3-5).

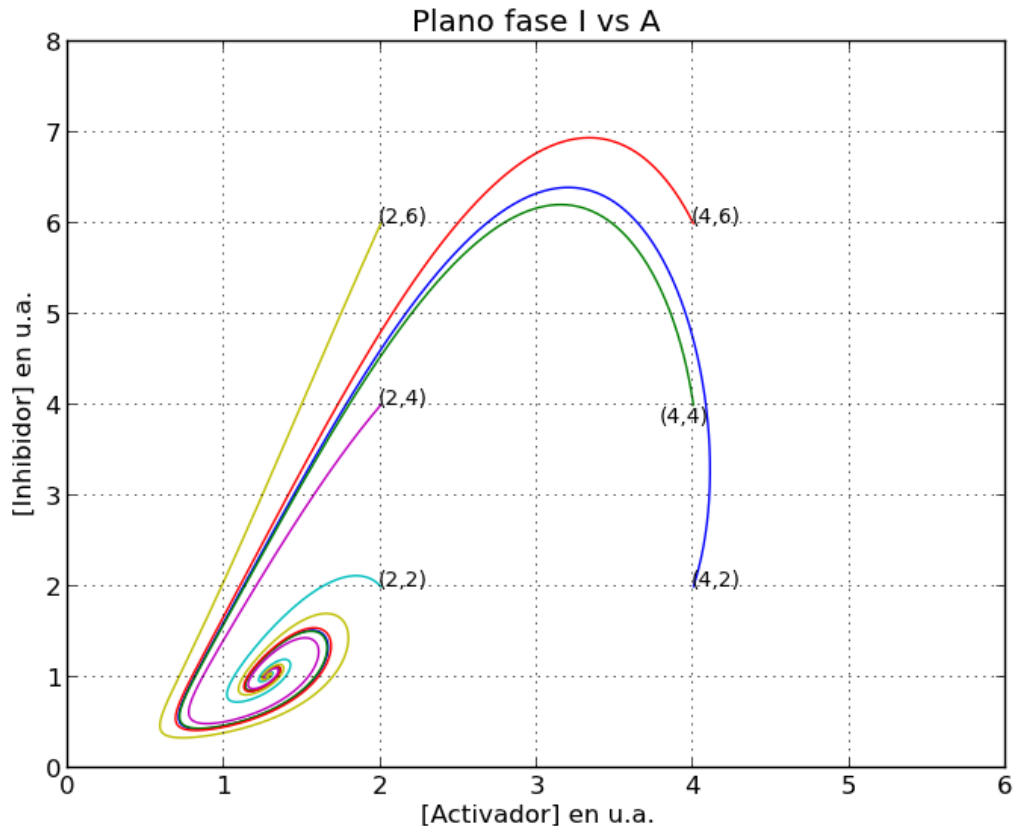


Figura 3-4. Plano Fase del inhibidor contra el activador. Vemos las diferentes soluciones del sistema de ecuaciones 3.1.3, 3.1.4, con diferentes condiciones iniciales marcadas en la gráfica. Todas las soluciones llegan a un atractor de coordenadas (1.280, 1.024).

3.1.2. Comunicación entre células

Las células pueden tener tres tipos de comunicación: directa, indirecta y mixta. Para este trabajo se asumió que existe una señal que se mueve y genera comunicación entre las células¹. El movimiento puede ser a través de las células (en la comunicación directa), a través del medio (comunicación indirecta) o ambas (comunicación mixta). La señal es parte de la red de interacción –específicamente, el inhibidor I es el elemento móvil– y no necesita receptores.

¹Esto es por supuesto una simplificación ya que, *in vivo*, las células son bombardeadas continuamente por combinaciones innumerables de señales químicas y responden a cada una de éstas de manera diferencial (Alberts *et al.*, 2002).

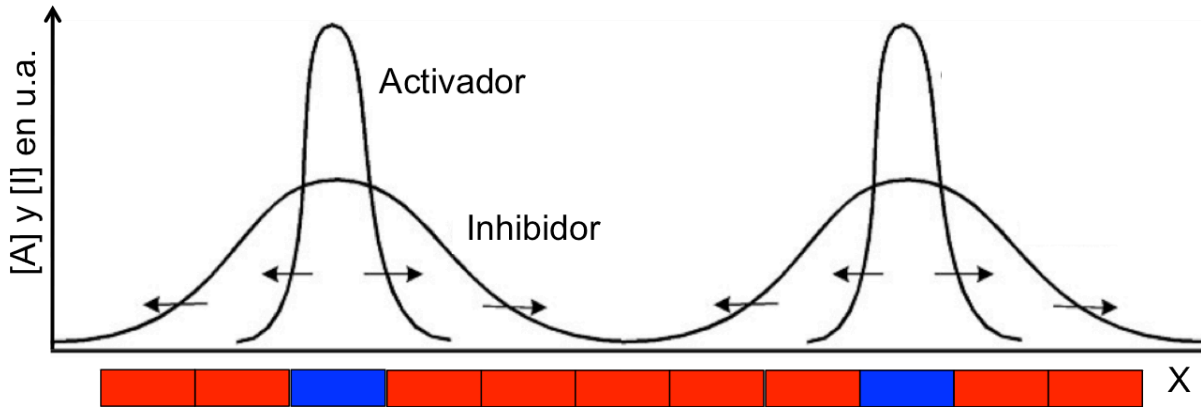
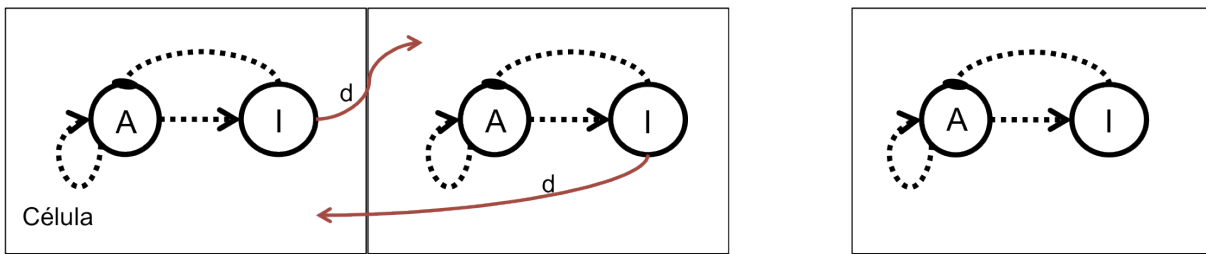


Figura 3-5. Tipos celulares según la concentración del activador y del inhibidor para el caso del filamento. Se representan las células en el eje horizontal y la concentración de inhibidor I y activador A , en unidades arbitrarias (u.a.) en cada una de estas células en el eje vertical. Si $I \leq A$, el tipo celular se torna Azul. si $I > A$, el tipo celular será Rojo.

Comunicación directa

En la comunicación directa, las células se pueden comunicar solamente si están en contacto una con la otra (Fig. 3-6). Se asume que el transporte es pasivo, es decir por difusión, a una tasa d^2 . Por lo tanto, la cantidad de movimiento de I va a depender únicamente del número de vecinos de cada célula.



Medio

Figura 3-6. Comunicación directa. Al estar en contacto dos células, se pasan una proporción d de inhibidor de una a la otra. El flujo total de I dependerá de la concentración de I de cada célula. Las degradaciones no son representadas. En dos dimensiones, la comunicación es definida de manera análoga.

Agregando el término de comunicación directa, el cambio en la concentración del inhibidor³ es representado por la ecuación 3.1.5. Ya que el número de vecinos es variable en el tiempo y depende de la simulación⁴, algunos términos de la ecuación son no explícitos. El sistema de ecuaciones así modificado

²El parámetro d fue escogido dentro del espacio de parámetros que generará patrones de Turing (Meinhardt y Gierer, 2000). Específicamente, se escogió $d = 0.009$.

³En el caso del activador, no hay diferencia con respecto a la ecuación 3.1.3 ya que éste no se mueve.

⁴Como se verá más adelante, las células tienen movimiento y cambios en el tamaño.

es análogo a los de reacción-difusión revisados por Meinhardt (Koch y Meinhardt, 1994).

$$\frac{dI_i}{dt} = k_3 A_i^2 - k_4 I_i + d(\sum I_j - \#(V_i)I_i), j \in V_i \quad (3.1.5)$$

En donde:

$\sum I_j$ = Suma de las concentraciones de inhibidor en las células pertenecientes al conjunto V_i de vecinos de la célula i . $V_i = V_i(t)$ es un término no explicitado y es calculado en la simulación de CC3D. $\#V_i$ = Cardinalidad del conjunto $V_i(t)$, es decir, número de vecinos de la célula i .

Comunicación indirecta

En la comunicación indirecta, las células envían y captan al inhibidor del medio. El intercambio se asume nuevamente como un transporte pasivo (a una tasa s). En el medio exterior, el inhibidor difunde a una tasa D y se degrada a un tasa k_5 . El intercambio de I con el medio se realiza en la frontera de la célula (Fig. 3-7).

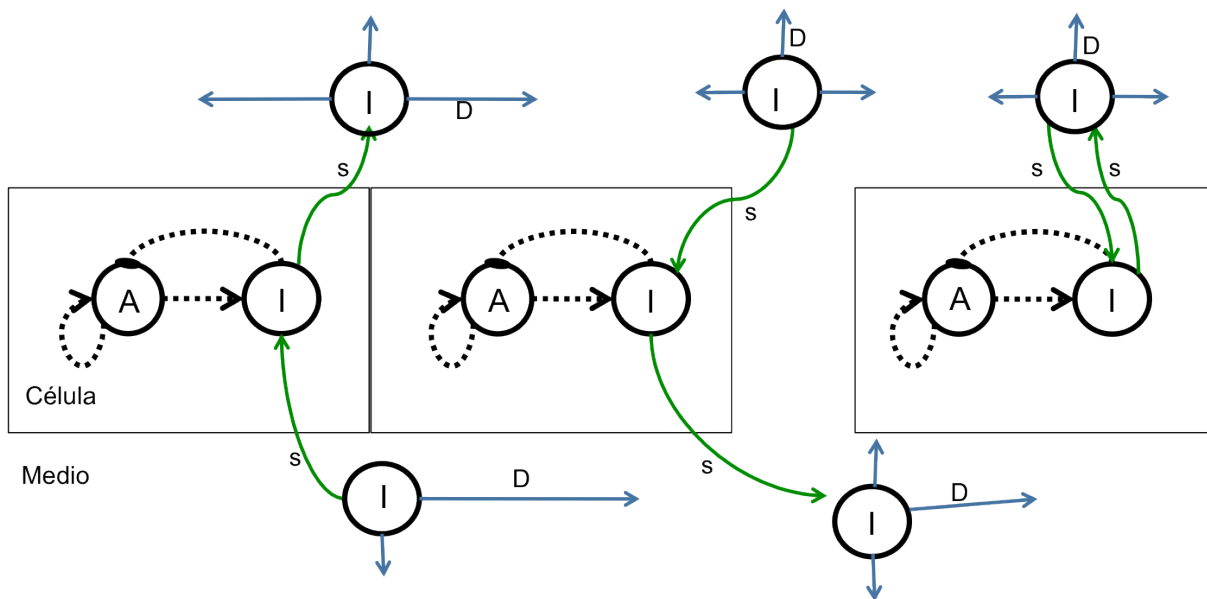


Figura 3-7. Comunicación indirecta. Cada una de las células intercambian con el medio una proporción s de inhibidor. El flujo total depende de la concentración al interior y al exterior de la célula. Al exterior de la célula, el inhibidor difunde con una tasa D . Las degradaciones no son representadas. La comunicación es independiente de si las células están en contacto o no.

En la ecuación 3.1.6 se representa el cambio en la concentración del inhibidor, nuevamente,

con términos no explícitos. Finalmente, la difusión exterior se define en la simulación por medio de la ecuación 3.1.7.

$$\frac{dI_i}{dt} = k_3 A_i^2 - k_4 I_i + s(I_{ext_i} - I_i) \quad (3.1.6)$$

$$\frac{\partial I_{ext}}{\partial t} = D \nabla^2 I_{ext} - k_5 I_{ext} \quad (3.1.7)$$

En donde: I_{ext_i} = Cantidad de inhibidor exterior en la superficie directa (con el medio) de la célula i .

I_{ext} = Cantidad de inhibidor en el medio exterior.

Condiciones de frontera

El cambio en la concentración del inhibidor en el medio adjacente a la célula i (I_{ext_i}) sigue la ecuación siguiente 3.1.8.

$$\frac{\partial I_{ext_i}}{\partial t} = D \nabla^2 I_{ext_i} - k_5 I_{ext_i} + s(I_i - I_{ext_i}) \quad (3.1.8)$$

Para este caso, los parámetros escogidos son $s = 0.009$ para que $d = s$ y que las diferencias entre los tipos de comunicación no sean resultado de las diferentes velocidades de difusión. A su vez, $D = 0.009^5$ y $k_5 = 0.001$. Como se podrá notar, la degradación al exterior del inhibidor es más baja que al interior de las células, *i.e.* $k_5 < k_4$. Este supuesto se hizo considerando el hecho de que al interior de las células, contrariamente al exterior, las moléculas están en constante degradación por una diversidad enorme de enzimas celulares. Es un supuesto importante a considerar para la interpretación de los resultados. Las condiciones de frontera en donde termina el medio son no periódicas y sí tienen flujo⁶.

Comunicación mixta

Finalmente, la comunicación mixta es una mezcla de los dos escenarios anteriores. Es decir, las células se pueden comunicar tanto por contacto directo como por secreción del inhibidor al medio. Este

⁵En la simulación, la difusión exterior es definida con el Laplaciano discreto sobre un conjunto de pixeles. Por otro lado, como se verá más adelante, cada célula tiene una longitud de 5 pixeles en promedio. Por lo tanto, para que la difusión de inhibidor entre célula y célula d sea equivalente a la difusión del inhibidor al exterior, en la simulación $D = 5 * d = 0.045$.

⁶Esto no tiene efecto alguno en los resultados de la simulación ya que por la tasa de degradación de I_{ext} , nunca llega a las fronteras.

escenario es simplemente una combinación de los dos anteriores (Fig. 3-8).

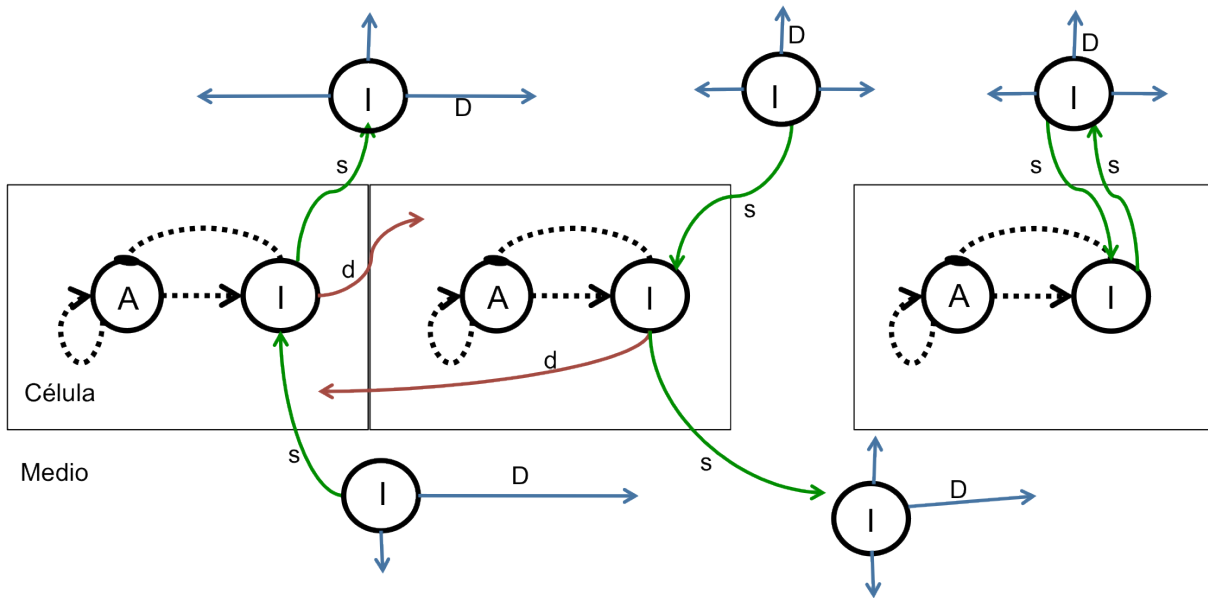


Figura 3-8. Comunicación mixta. Cada célula puede difundir una proporción d de inhibidor a las células vecinas. Por otro lado, cada célula intercambia una proporción s de inhibidor con el medio. El flujo del inhibidor dependerá de las diferencias de concentración en cada zona. Al exterior de la célula, el inhibidor difunde con una tasa D . Las degradaciones no son representadas.

Se usará la ecuación 3.1.9 para definir el cambio en la concentración del inhibidor. El cambio en la concentración del inhibidor en el medio exterior sigue las ecuaciones 3.1.7 y 3.1.8.

$$\frac{dI_i}{dt} = k_3 A_i^2 - k_4 I_i + s(I_{ext_i} - I_i) + d(\sum I_j - \#(V_i)I_i), j \in V_i \quad (3.1.9)$$

Los parámetros escogidos son los mismos que en los casos anteriores.

3.1.3. Adhesión, movimiento, volumen y superficie celular

Cada una de las células tiene a su vez un nivel de adhesión, elemento clave para el origen de la multicelularidad (Grosberg y Strathmann, 2007). Como se revisó en la introducción, ésta puede realizarse a través de diversos mecanismos que permiten más o menos movimiento, como la pared celular en plantas, la matrix extracelular en animales y varios grupos de algas, los peptidoglicanos en bacterias o la no citocinesis en los hongos (Grosberg y Strathmann, 2007; Shapiro, 1998). Se estudiaron 4 niveles de adhesión (alta, media alta, media, baja) y un control (adhesión nula). La adhesión **nula** es el grupo

control. No hay adhesión por lo que no se forman agregados multicelulares (por ejemplo en algunas poblaciones de bacterias). En segundo, cuando la adhesión es **alta**⁷, el movimiento celular es nulo. Después, en los niveles de adhesión más bajos (**media alta, media y baja**) el movimiento celular va a ser más elevado, generando un cambio constante de posición de las células⁸. Por otro lado las células tienen un movimiento aleatorio a través del medio. Finalmente, cada una de las células posee un volumen y una superficie óptimas, que determina la forma de la célula.

La adhesión, el movimiento, la superficie y el volumen de las células se implementaron a través del programa computacional CC3D (<https://www.compuCell3d.org>), en donde también se integraron todas las otras características de las células (red interna bioquímica y comunicación) bajo un mismo lenguaje. Este programa permite realizar una modelación multiescala y se presenta en la siguiente sección.

⁷Puede ser el caso de la pared celular en plantas o la matriz extracelular en algunos grupos de algas (Kirk, 2005).

⁸Este tipo de adhesión es muy común en el desarrollo de animales, pero también en la agregación de algunos grupos de bacterias (*Myxococcus*) y de protistas (*Dictyostelium*).

3.2. Implementación computacional: CC3D

Para poder implementar el modelo, se utilizaron los Modelos Celulares de Potts (MCP), que permiten la integración de fenómenos multiescala como las redes químicas internas con propiedades celulares como la adhesión o el movimiento. En esta sección se explican los antecedentes de los MCP para después explicar el funcionamiento del programa y la implementación del modelo.

3.2.1. Modelos Celulares de Potts: antecedentes

Los diferentes procesos celulares que se simularon en el trabajo (adhesión, comunicación, movimiento y red dinámica interna) tienen por sí mismos un grado de complicación altísimo con miles de interacciones, tiempos y escalas distintas. Por lo tanto, para poder realizar una simulación computacional se tiene que recurrir a algún tipo de simplificación.

Una primera manera de simplificar es ignorar los procesos celulares y subcelulares: si se ignoran las células, el tejido puede ser visto como un continuo con propiedades físicas y químicas generales. Este enfoque ha sido útil para representar tejidos densos o relativamente homogéneos como huesos, matriz extracelular (Bassingthwaighte, 2000), pero no ha servido para representar procesos en donde las propiedades individuales de las células determinan el comportamiento del conjunto (*e.g.* en el desarrollo embrionario o en los primeros agregados multicelulares, las células migran y se reorganizan según sus propiedades de adhesión y movilidad). Consecuentemente, ignorar a las células no es una buena suposición para simular el desarrollo o el origen de la multicelularidad⁹.

Otra opción es tratar a los procesos celulares fenomenológicamente. Es decir, asumir que el fenómeno existe, como por ejemplo la división celular, pero no explicar sus causas. De esa forma, se reducen millones de interacciones celulares y sólo se ven fenómenos; una célula se puede dividir, mover, morir, diferenciar, cambiar de forma, ejercer fuerzas o secretar sustancias (Swat *et al.*, 2012). Por lo tanto, no se estudian los procesos celulares, sino más bien, los efectos de cada uno de los fenómenos en una masa celular. Los modelos son en consecuencia puramente cualitativos. Un ejemplo de este enfoque de

⁹Aunque tiene más sentido que otro tipo de simulaciones que se quedan a la escala celular y sólo sirven para representar procesos intracelulares como el movimiento de microtúbulos o la cinemática enzimática en modelos cuantitativos (Slepchenko *et al.*, 2003). Ya que los múltiples fenómenos intracelulares son computacionalmente muy demandantes, sólo se pueden simular una o pocas células a la vez (Loew y Schaff, 2001).

modelación son los Modelos Celulares de Potts (MCP).

Los MCP, o también conocido como modelos Glazier-Graner-Hogeweg (GGH), están basados en los modelos físicos de Potts que simulan las transiciones de fase de la agregación, fusión y engrosamiento de granos metálicos o de burbujas de jabón. Glazier *et al.* (2007) modificaron estos modelos para poder simular ciertos procesos biológicos (*e.g.* la segmentación, la blastulación y la gastrulación (Drasdo y Forgacs, 2000), el desarrollo de un tumor (Drasdo y Höhme, 2003) o la agregación de las myxobacterias (Börner *et al.*, 2002)). A continuación se dará una explicación del funcionamiento de los modelos GGH y su interfaz CC3D para explicar cómo se implementó el modelo.

3.2.2. Explicación del CC3D e implementación del modelo

Objetos y condiciones iniciales

Los objetos en las simulaciones GGH son: 1. Células «generalizadas» (que pueden representar sea una célula, un tejido o un órgano, según con lo que se esté trabajando), 2. Medio exterior y 3. Campos de concentraciones. Las células, el medio extracelular y los campos de concentraciones se extienden sobre una rejilla de pixeles. Cada uno de estos pixeles es definido por un vector de enteros \vec{i} que representa sus coordenadas en la rejilla. Por ejemplo, $\vec{i} = (1, 5)$. Cada célula tiene un índice τ propio ($1, 2, 3, \dots, n$) y está formada por el conjunto de pixeles \vec{i} tal que $\tau(\vec{i}) = 1, 2, 3, \dots, n$ respectivamente (los pixeles tienen asignados el I.D. de la célula al cual pertenecen). Esto se puede ver en la Figura 3-9, en donde se tienen (haciendo caso omiso por ahora de los colores) cinco células diferentes. El medio exterior tiene un índice $\tau = 0$ y está formado por el conjunto de pixeles \vec{i} tales que $\tau(\vec{i}) = 0$.

Además, cada célula tiene un tipo celular asociado σ denotado por el nombre que le queramos dar. ($\sigma =$ Activada, Inhibida y Pared) al cual se le asoció un color (azul, rojo y verde respectivamente). El tipo celular del medio exterior es simplemente *Medio* y es de color negro. A diferencia del índice celular, varias células pueden tener el mismo tipo celular. Se puede decir que el conjunto de pixeles \vec{i} , pertenecientes a una célula τ tienen un tipo celular σ asociado, es decir, $\sigma(\tau(\vec{i})) =$ Activada, Inhibida, Pared o Medio (Fig. 3-9).

Por otro lado, cada una de las células tiene asociada una lista de atributos como su tipo celular, superficie o volumen (perímetro y área en el caso de las simulaciones bidimensionales, que correspon-

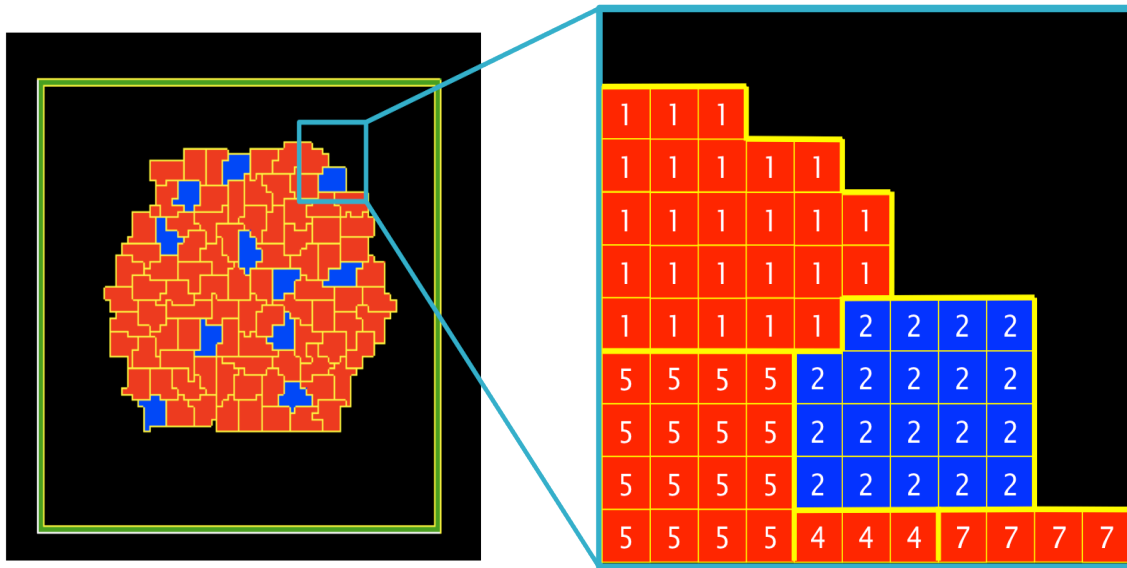


Figura 3-9. Detalle de las células y el medio exterior sobre la rejilla bidimensional. Se ven cinco células diferentes ($\tau = 1, 2, 4, 5, 7$) con dos tipos celulares (Rojo y Azul), una célula Pared (verde) y el medio extracelular (negro).

den al número de píxeles en el borde y en toda la célula respectivamente); pero también algunos más complicados como los estados de las redes químicas internas. Estos atributos pueden cambiar en el tiempo. La condición inicial del programa incluye los campos de concentración de sustancias externas (inhibidor externo), la disposición de las células (discoidal, filamento o dispersadas) y sus estados internos (concentración de sustancias como del inhibidor y del activador).

Pluggins, Energía Efectiva GGH y Steppables

Las interacciones entre células y las dinámicas celulares como la adhesión, el volumen, la superficie, la movilidad o el crecimiento, se agrupan todas en una función de energía efectiva H . Esta energía no es exactamente una energía física¹⁰, pero ayuda a traducir todas las características biológicas bajo una misma función y, por lo tanto, bajo un mismo lenguaje. La dinámica del programa se desarrolla con base en la disminución de la energía H . La idea es la siguiente: si alguna configuración de las células en la rejilla –por ejemplo, que todas las células estén en un agregado o separadas– hace que la H sea alta, será inestable y cambiará en el tiempo. En cambio, si la configuración hace que la H sea baja, será estable y es probable que permanezca igual.

¹⁰La H está inspirada en el hamiltoniano utilizado en termodinámica, pero no es equivalente.

Adhesión traducida en energía H

Para la adhesión, se define una energía de contacto J entre dos células que depende de su tipo celular. Por ejemplo $J(\tau = 1, \tau = 2) = 10$, significa que la energía de contacto entre el tipo celular 1 y el tipo celular 2 es igual a 10. Si esta energía es alta, se dice que la adhesión entre los tipos celulares es baja y *viceversa*. El cambio en la energía H ocasionado por la energía de contacto J dependerá del valor de la J entre los tipos celulares de dos células en específico y de la superficie de contacto entre ambas. Esto se traduce en la siguiente ecuación:

$$H_{\text{contacto}} = \sum_{\vec{i}, \vec{j} \text{ vecinos}} J((\tau(\sigma(\vec{i}))), (\tau(\sigma(\vec{j}))))(1 - \delta(\sigma(\vec{i}), \sigma(\vec{j}))) \quad (3.2.1)$$

En donde \vec{i} y \vec{j} son pixeles vecinos (o colindantes). J es la energía de contacto entre los tipos celulares de la células a las cuales pertenecen los pixeles. El segundo factor evita que se considere la energía de contacto entre pixeles de la misma célula. El término δ entre dos pixeles es igual a 1 si éstos pertenecen a la misma célula, lo que vuelve $H = 0$ para esos dos pixeles.

Por lo tanto, lo que hace la ecuación 3.2.1 es tomar dos pixeles vecinos, \vec{i} y \vec{j} , verificar a qué tipos celulares pertenecen $\tau(\sigma(\vec{i}))$ y $\tau(\sigma(\vec{j}))$ y agregar su energía de contacto J si y solo si pertenecen a células distintas. Después hace la suma de todas estas energías (de cada par de pixeles de la simulación) y eso da la energía H de contacto de todo el sistema. El programa tenderá a disminuir la H , por lo que si las células tienen poca energía de contacto, permanecerán juntas, si tienen una alta energía de contacto, se separarán. Las energías de contacto tomadas para este trabajo se resumen en el cuadro 3-1.

Superficie y volumen traducidas en energía H

Por otro lado, algunas características adicionales de las células, dígase el volumen o la superficie, se agregan como constricciones energéticas bajo una forma elástica (ecuación 3.2.2) conocidas como **Pluggins**.

$$H_{\text{constriccion}} = \lambda(\text{valor} - \text{valor}_{\text{objetivo}})^2 \quad (3.2.2)$$

En donde *valor* es igual al valor actual de la célula en una característica (por ejemplo volumen o superficie) y *valor_{objetivo}* es el valor que se quiere que alcance la célula en esa característica. La λ es un

factor que determina qué tanta importancia se le da a esa restricción. Por ejemplo, si la célula tiene un volumen alejado del valor objetivo, entonces $H_{constriccion}$ se eleva, por lo que la configuración no es estable. Conforme se acerca al valor objetivo, la diferencia disminuye, $H_{constriccion}$ disminuye y la configuración se vuelve más estable. En términos simples, para disminuir la energía de restricción, la célula va a tender a su valor objetivo.

Así pues, la fórmula general de la energía efectiva (que es la que se va a intentar disminuir) será la suma de las energías de restricción 3.2.2 y de la energía de contacto 3.2.1. Esta se resume en la ecuación 3.2.3.

$$H_{GGH} = \sum_{\vec{i}, \vec{j} \text{ vecinos}} J((\tau(\sigma(\vec{i}))), (\tau(\sigma(\vec{j}))))(1 - \delta(\sigma(\vec{i}), \sigma(\vec{j}))) + \sum_{\sigma} \lambda(v(\sigma) - v_o(\sigma))^2 \quad (3.2.3)$$

En donde $v(\sigma)$ y $v_o(\sigma)$ son el valor y el valor objetivo respectivamente de la célula de índice σ .

Red interna y comunicación celular en el CC3D

La red de regulación internas fue definida por un sistema de Ecuaciones Diferenciales Ordinarias (EDO). Estas EDO son traducidas al lenguaje SBML¹¹ (ver el archivo ComunicacionFinal.xml en la página <https://github.com/emiliomora92/CodigoAdhesionComunicacion>) y son leídas por el CC3D. Las EDO no están consideradas dentro de la ecuación de energía que permite la dinámica del modelo, sino, más bien, son calculadas cada cierto tiempo al interior de cada célula. Para no definir tantas ecuaciones diferentes, en el programa sólo se utilizaron las ecuaciones 3.1.3 y 3.1.9 ya que de la ecuación 3.1.9 se pueden derivar la 3.1.5 y la 3.1.6 haciendo $s = 0$ y $d = 0$ respectivamente.

La comunicación celular se integra en la red continua como parte de la EDO de cada célula. Los términos no explícitos de las ecuaciones, es decir: $I_{ext,i}$, $\sum I_j$, $\#(V_i)I_i$ ¹², son calculados por clases definidas en el programa que son llamadas cada cierto tiempo. En el programa toman las etiquetas **lext**, **lvec** e **lmul**.

El conjunto de funciones que no entran en la ecuación de la energía pero que son calculados

¹¹Systems Biology Markup Language.

¹²Como se recordará, estos tres términos simbolizan: la concentración de I al exterior de la célula i , la suma de las concentraciones de I en las células vecinas de la célula i y la concentración de I multiplicada por el número de vecinos de la célula i , respectivamente.

cada cierto tiempo, tales como el valor de **lvec**, **lmul**, **ltext**, la difusión de **ltext** en el medio (definida por la ecuación 3.1.7) o la iteración de las EDO en cada una de las células, son conocidas como **Steppables**.

3.2.3. Dinámica del CC3D y algoritmo completo

Cambios en la configuración: intentos de copias de pixel

Para disminuir la H , el algoritmo GGH selecciona configuraciones cada vez más estables. Lo último que se tiene que ver por lo tanto es cómo se generan las nuevas configuraciones. En el CC3D, plataforma de los modelos GGH, se generan nuevas configuraciones a través de intentos de copia de pixel agrupados en Pasos Montecarlo (PMC) (Swat *et al.*, 2012). En cada uno de estos intentos, se selecciona aleatoriamente un pixel (*pixel objetivo*) y después alguno de sus vecinos (*pixel fuente*). Si los dos pixeles pertenecen a la misma célula, no pasa nada y se busca otro vecino. Si no pertenecen a la misma célula, el *pixel fuente* hace un *intento* de copia de su índice al *pixel objetivo* (Fig. 3-10).

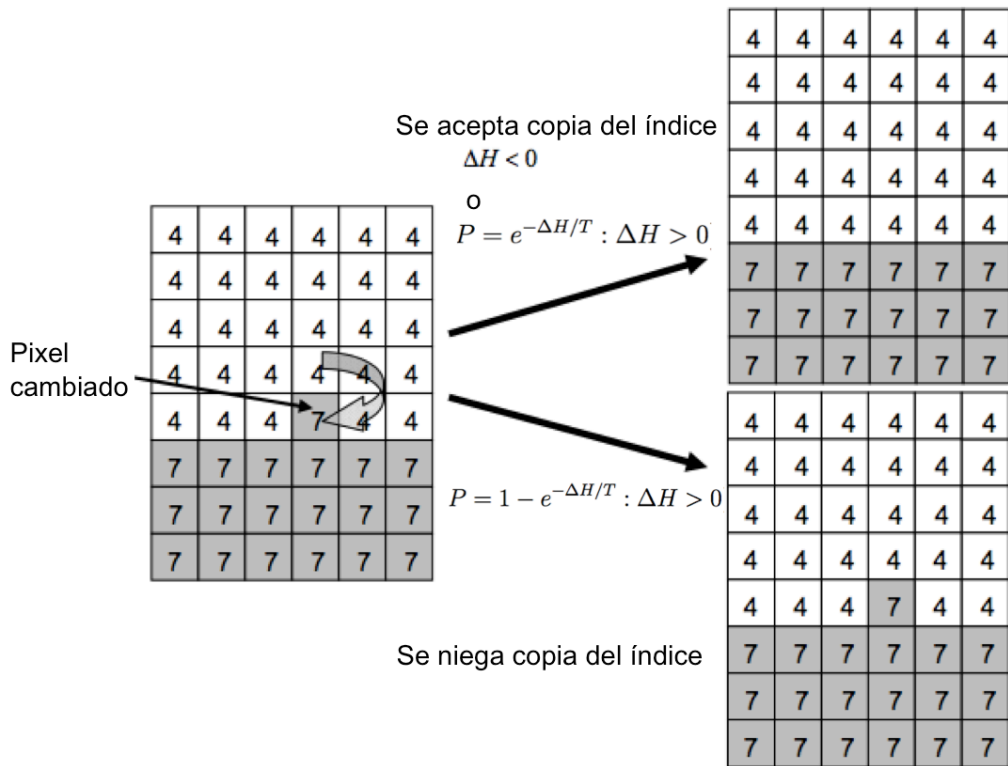


Figura 3-10. Representación de un intento de copia de pixel, para dos células en una rejilla de dos dimensiones. El pixel blanco (*pixel fuente*) intenta copiar su índice al pixel gris (*pixel objetivo*). La probabilidad de aceptación es dada por la ecuación 3.2.4. Tomado de (Swat *et al.*, 2012)

Para saber si la copia de índice se acepta, se calcula la energía efectiva H_{nueva} que tendría la nueva configuración si la copia se aceptase. Esta energía se compara con la energía de la configuración vieja (sin la copia) H_{vieja} , siendo $\Delta H = H_{nueva} - H_{vieja}$ ¹³. A partir de aquí se tienen las siguientes opciones:

1. Si $\Delta H < 0$ entonces se acepta la copia del pixel y la nueva configuración se mantiene. De esta manera van cambiando la forma y el tamaño de las células y se buscan las configuraciones más estables. Podemos pensar todas las configuraciones posibles como un embudo energético (Fig. 3-11) en donde la energía va decreciendo conforme nos acercamos al pozo.

2. Si $\Delta H > 0$, la copia de pixel se acepta con cierta probabilidad P. Aceptar con una probabilidad P la copia de pixel, aunque aumente la energía, permite salir de ciertos mínimos energéticos locales del embudo energético de las configuraciones. De esta manera, la configuración no se queda en un pozo energético local y puede alcanzar un mínimo energético global (Fig. 3-11).

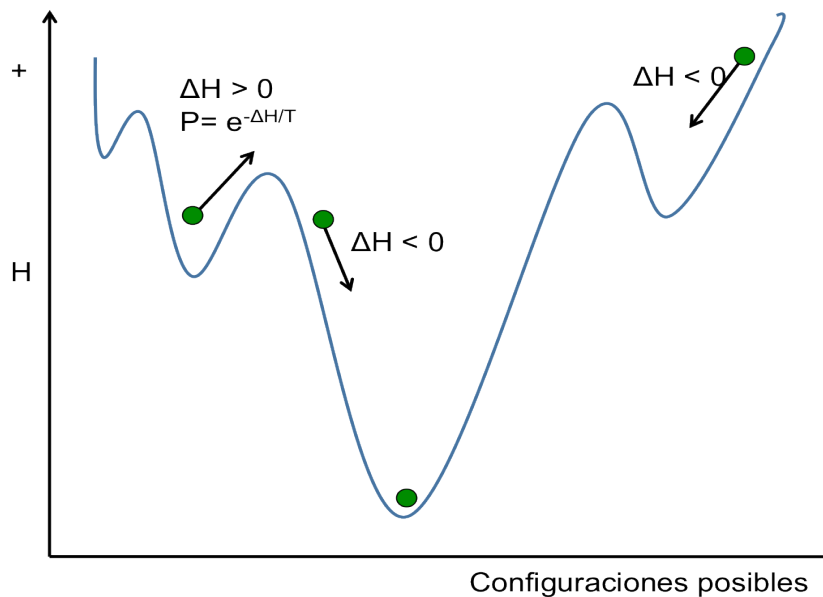


Figura 3-11. Embudo energético hipotético de todas las configuraciones posibles del programa. La simulación intenta llegar al mínimo H de energía. La probabilidad de aceptación de Boltzmann permite que las configuraciones no se queden atoradas en pozos energéticos y salgan con cierta probabilidad P.

En breve, la copia de índice de un pixel \vec{i} a un pixel \vec{j} se aceptará, entonces, con una probabilidad

¹³Un detalle importante aquí, es que el programa no calcula el cambio de la energía total de la configuración, sino más bien el cambio en la energía en una vecindad alrededor de los pixeles en cuestión. Esto no cambia el resultado final ya que en general el efecto del cambio de un pixel sólo afecta la zona aledaña. Por otro lado, sí aumenta sustancialmente la velocidad de la simulación.

P resumida en la ecuación 3.2.4 (Fig. 3-10).

$$P(\sigma(\vec{i}) \rightarrow \sigma(\vec{j})) = \{1 : \Delta H \leq 0, e^{-\Delta H/T} : \Delta H > 0\} \quad (3.2.4)$$

En donde T es el parámetro de fluctuación de la simulación (*i.e.* que tanto se permiten los cambios energéticamente no favorables) y permite acoplar la simulación a un sistema biológico en particular. En la Figura 3-12, se puede ver como cambia la probabilidad P en función de T para varios ΔH superiores a 0. Si la T es muy elevada, todas las copias de pixel son aceptadas y el sistema pierde sentido (ya no sirve de nada la ecuación de energía bajo la cual se definieron las diferentes propiedades biológicas). Si $T = 0$, $P = 0$ no se aceptan cambios de configuración no favorables energéticamente, por lo que la configuración se podría quedar en un mínimo local. Para tener sentido, T debe oscilar entre 1 y 10 (Swat *et al.*, 2012).

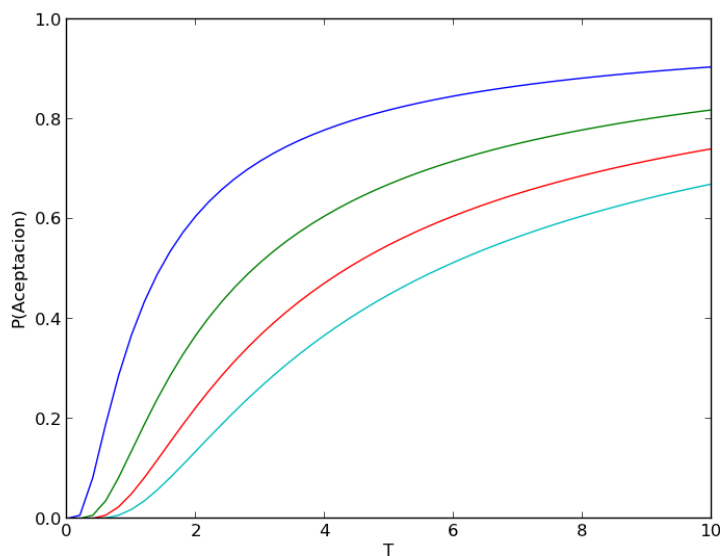


Figura 3-12. Probabilidad de aceptación de Boltzmann en función de la temperatura con diferentes valores de ΔH . Los colores de las curvas; azul, verde, rojo y turquesa representan valores de ΔH de 1, 2, 3 y 4 respectivamente.

En resumen, la configuración cambia de manera aleatoria a través de intentos de copia de pixel aceptados en función de la disminución del término de energía; llegando así a una configuración estable de mínima energía. Disminuir el término H , al cual fueron traducidas las propiedades biológicas (*pluggins*) y los *steppables* que resumen las propiedades intracelulares, permite integrar los diferentes

fenómenos un modelo multiescala (Swat *et al.*, 2012).

Algoritmo completo de la simulación

El diagrama del algoritmo completo se presenta en la Figura 3-13. Para empezar, se corren los **steppables de inicialización** (configuración inicial y condiciones iniciales). En ellos se define cuantas células se tienen al inicio, la concentración de activador/inhibidor de cada célula, el volumen y la superficie objetivos y la disposición celular (en discoide, en filamento o dispersadas). Después, se inicia un paso montecarlo (PMC) en donde se realizan n intentos de copia de pixel (n siendo el número de pixeles en la simulación)¹⁴. En los intentos de copia de pixel se encuentran integrados la adhesión, el volumen, el movimiento y la superficie celular (a través de la función H). Al finalizar el PMC, se corren los **steppables intermediarios**. En estos **steppables** se calculan los nuevos valores de I y de A al interior y al exterior de la célula (que dependen del tipo de comunicación y de la posición de cada célula) y se actualiza la red dinámica de cada célula. Finalmente, se **visualizan los resultados** en una interfaz visual de las células y en múltiples gráficas. Este procedimiento se repite un número arbitrario de veces determinado en las condiciones iniciales. Una vez que se tiene claro el algoritmo general del programa y la creación del modelo, se especifica en la siguiente sección el diseño experimental para ver después, de manera precisa el código generado.

¹⁴Los pixeles escogidos son aleatorios, lo que acelera considerablemente la velocidad de la simulación. No obstante, el número de intentos de copia es igual al número de pixeles de la rejilla, generando un tamaño de muestra significativo.

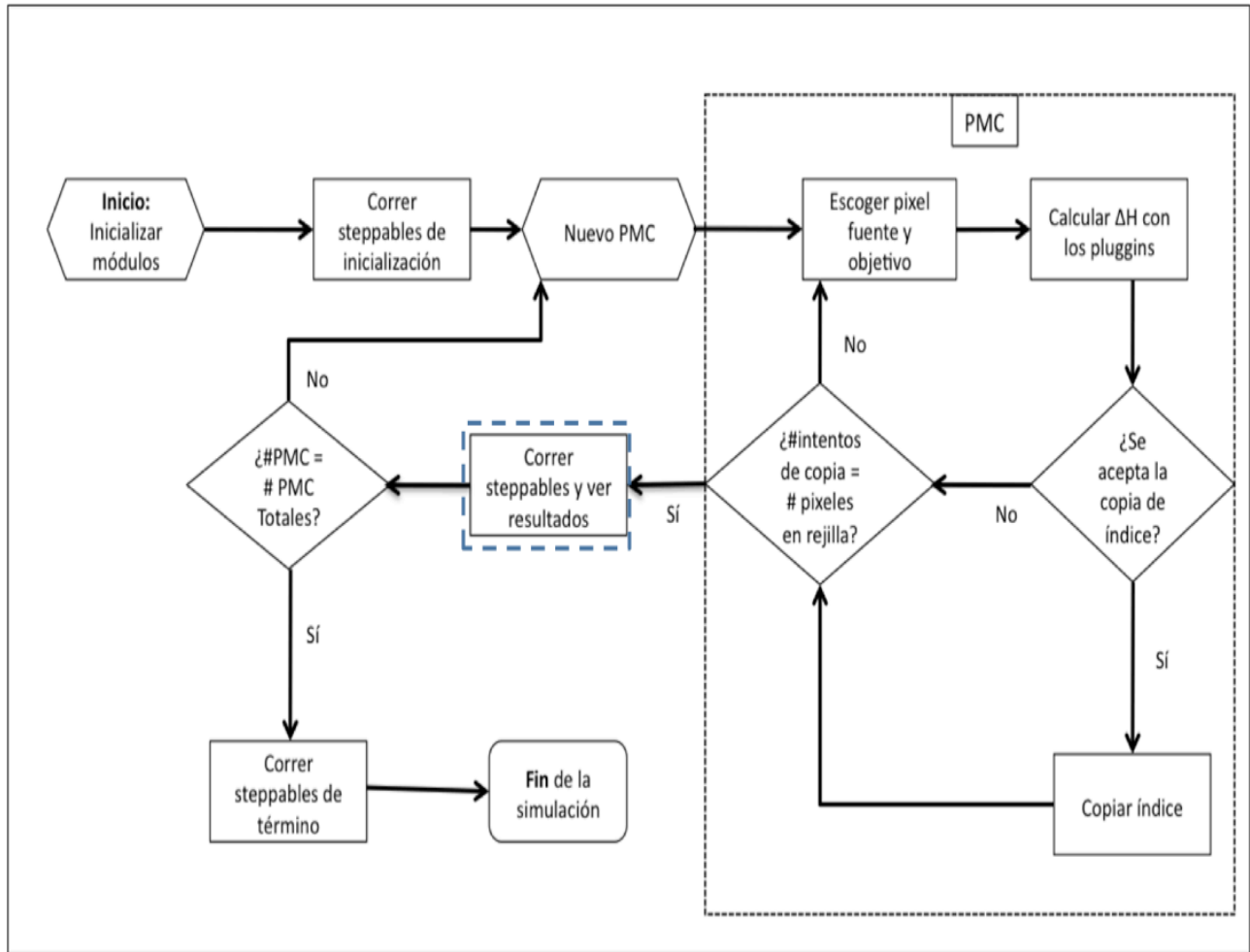


Figura 3-13. Diagrama de flujo del algoritmo de GGH implementado en CC3D. El cuadro punteado Azul es el mismo que el de la Figura 3-15 permitiendo así una relación entre los dos diagramas de flujo.

3.3. Diseño experimental de las simulaciones

a. Para empezar, se realizó una simulación control, en donde sólo hay una célula con los tres tipos de comunicación (directa, indirecta y mixta (D, I, M)). Aquí, la comunicación directa es equivalente a un escenario sin comunicación (ya que no hay células con las cuales comunicarse). De igual manera, la comunicación mixta es equivalente a la comunicación indirecta¹⁵ (3-14).

b. Se realizó un escenario control en poblaciones celulares sin adhesión celular, con dos niveles de densidad (15 % y 3 %¹⁶). Se evaluaron nuevamente los tres tipos de comunicación (D, I, M) (3-14).

¹⁵ Si en la ecuación 3.1.5, $V_i = 0$, es decir, el número de vecinos es igual a cero, entonces, $\sum I_j = \#(V_i)I_i = 0$ y se obtiene nuevamente la ecuación 3.1.4. De igual manera, i en la ecuación 3.1.9, $\sum I_j = \#(V_i)I_i = 0$ entonces 3.1.9 = 3.1.6

¹⁶ Los porcentajes denotan la cantidad de espacio ocupado por las células dividido entre el espacio total.

c. Se efectuó una prueba de condiciones iniciales (Agregación) con el fin de ver si comenzar desde un agregado o desde células dispersas modificaba el resultado. Es ésta se fijó la adhesión entre células como media alta en una población de células dispersadas y se dejó avanzar en el tiempo (con los tres tipos de comunicación). Los resultados obtenidos se compararon con los patrones recuperados comenzando la simulación con un agregado con adhesión media alta (**d, e**). Al ver que los patrones eran cualitativamente iguales se trabajó directamente desde el agregado (3-14).

d y e. A partir del agregado se estudiaron los 12 posibles escenarios¹⁷ para evaluar los efectos del tipos de comunicación modificando y de la fuerza de la adhesión en la generación de patrones de diferenciación celular. Después, se realizó una prueba de estabilidad *a posteriori*; una vez *generado* el patrón con adhesión alta, se disminuía la adhesión, para ver si éste se mantenía (3-14).

f. A partir del agregado con adhesión alta se realizaron pruebas de tamaño (agregado de menor tamaño) y de forma (filamento en lugar de bola) con el fin de evaluar si los patrones generados en la bola eran independientes del tamaño y de la forma del dominio (3-14).

g. Finalmente, a partir del agregado con adhesión alta (que se denominará como agregado fijo), se realizaron pruebas de robustez de los patrones generados, a través de perturbaciones locales (se generó un impulso de activador en algunas de las células del agregado y se evaluó el cambio en el patrón general, de manera únicamente cualitativa) (3-14).

¹⁷Son tres tipos de comunicación (D, I, M) y cuatro fuerzas de adhesión (alta, media alta, media y baja).

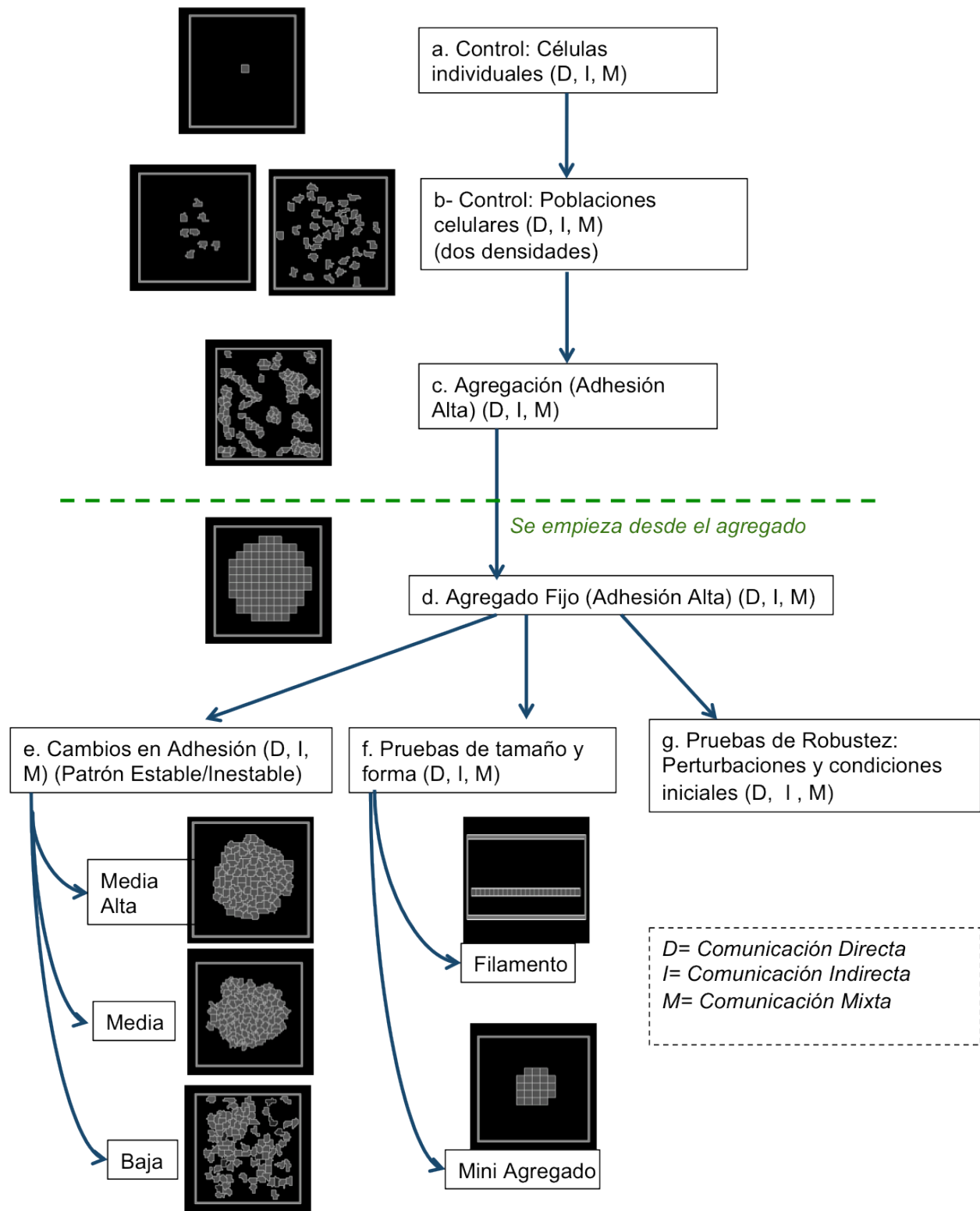


Figura 3-14. Diagrama de flujo del diseño experimental. Descripción en el texto.

3.4. Modelo específico: *Steppables*, Parámetros y Pseudocódigo.

Para poder realizar los diferentes escenarios explicados en la sección anterior, se implementó un código en CC3D, definiendo por una parte los *steppables* de inicio (que definen las condiciones iniciales) y por otro, los *steppables* intermediarios y la conexión entre ellos. A continuación se presenta un diagrama de flujo que explica qué hace cada uno de ellos y cómo se conectan. El código completo, comentado y funcional se encuentra en la página <https://github.com/emiliomora92/CodigoAdhesionComunicacion>.

3.4.1. *Steppables* de inicio y parámetros

En el *steppable* de inicio (**Condición Inicial** en la Figura 3-15) se cargan *las condiciones iniciales* de la simulación tales como las dimensiones (#píxeles x #píxeles) de la rejilla, el tiempo de la simulación (PMC), la temperatura, el rango de los vecinos (que define la distancia a la que pueden estar alejados los píxeles fuente y objetivo)¹⁸, las condiciones de frontera, los tipos celulares, el volumen y superficie objetivos y las tasas de difusión y degradación externas. Todas estas son las mismas en todos los escenarios y sus valores se resumen en el cuadro 3-1. El tipo celular Pared es un tipo definido para evitar que las células se queden pegadas en los bordes de la matriz. Estas células tienen una J muy alta con todos los otros tipos celulares, lo que evita que las células se acerquen a la frontera. Por otro lado, las tasas de degradación exterior son lo suficientemente altas para que las sustancias no se acumulen en las fronteras no periódicas y con flujo.

Por otro lado, en la configuración inicial se define la disposición de las células en la rejilla (discoide, filamento, dispersadas), el número de células y la energía de contacto entre los tipos celulares. Éstas dependen de cada uno de los escenarios y se muestran en el cuadro 3-2. En los escenarios en donde la adhesión es muy alta en el agregado, las células se fijaron (se congelaron) ya que se consideraba que su energía de contacto era casi nula (estaban siempre pegadas). Por lo que no se considera su J .

Finalmente, las condiciones iniciales de las EDO también son precisadas en las configuraciones

¹⁸Si el valor del rango es uno, entonces cada píxel está en contacto con sus primeros vecinos más cercanos (en una cuadrilla esto corresponde a los cuatro píxeles colindantes horizontal y verticalmente), si el rango es 2, se incluyen a los segundos vecinos más cercanos (lo que incluye a los cuatro píxeles que están en diagonal y que rodean al píxel). Y así con el 3, 4, ...n vecinos más cercanos.

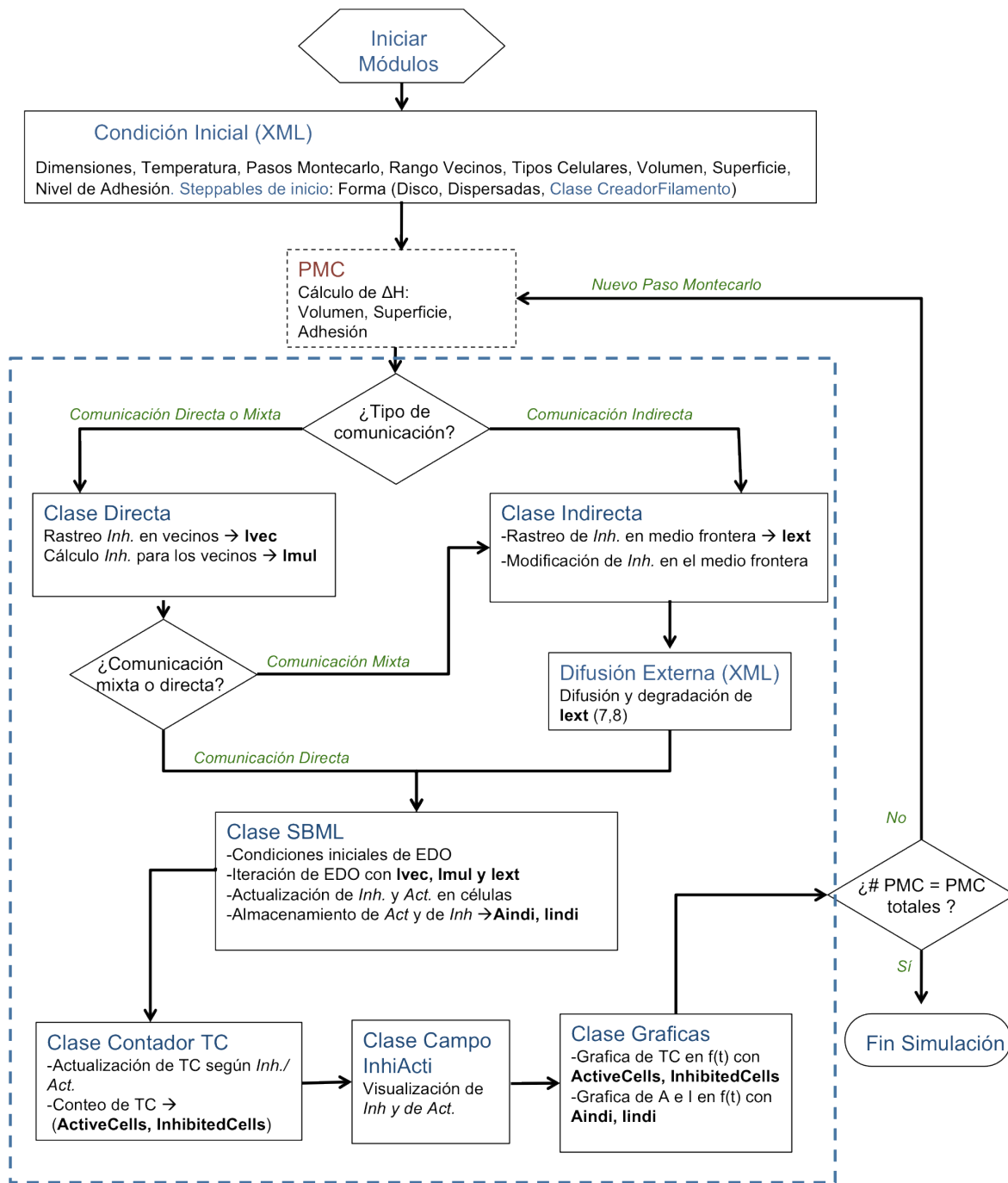


Figura 3-15. Diagrama de flujo del programa. Las flechas indican el orden en el que se llaman las clases. El cuadro punteado negro es el mismo que el de la Figura 3-13 permitiendo así una relación entre los dos diagramas de flujo.

iniciales. Para todos los casos $I_{vec_0} = I_{mul_0} = I_{ext_0} = 0$. Por otro lado, las concentraciones iniciales de A y de I son aleatorias. Para esto se tomó A_0 como aleatorio en un rango entre 5 y 9 y $I_0 = 7$ ¹⁹. Los valores de s y d (0 o 0.009) fueron definidos en función del escenario de comunicación²⁰.

Antes de los *steppables* intermediarios, se realiza un PMC (según la H que incluye las energías de contacto, el volumen y la superficie objetivos) (Fig. 3-15).

3.4.2. *Steppables* Intermediarios y parámetros

1. En el steppable **difusión externa** se calculan los valores de I en el medio (que dependen de la ecuación 3.1.7). Después, para cada una de las células:

1.a. Si el escenario es de comunicación directa o mixta, la **Clase Directa** calcula el valor de I en los vecinos (y guarda el valor como **lvec**) y el valor de I en la célula multiplicada por el número de vecinos (y guarda el valor como **lmul**).

1. b. Si el escenario es de comunicación indirecta (o de comunicación mixta, pero después de haber pasado por la **Clase Directa**), la **Clase Indirecta** calcula el valor de I en la frontera (guardado como **ltext**) y secreta una proporción s de I al medio.

2. En la **Clase SBML** se integran los nuevos valores de **lmul**, **lvec**, **ltext** y se itera la EDO con los parámetros s , d respectivos.

3. En la **Clase Contador TC** se actualiza el tipo celular de cada célula, dependiendo de su relación I/A (Si $I/A > 1$, la célula se vuelve del tipo Inhibida o Roja, si $I/A \leq 1$, la célula se vuelve del tipo Activada (o Azul)) y se cuenta el número de células de cada tipo.

4. La **Clase Campo Inhibidor** y la **Clase Graficas** permiten visualizar la concentración de inhibidor en las células y el número de células de cada tipo celular. Finalmente, inicia un nuevo PMC y el ciclo reinicia.

¹⁹Si A_0 es aleatorio y $I = f(A)$, I_0 también es aleatorio.

²⁰Se recuerda que sólo se utilizaron las ecuaciones 3.1.9 y la 3.1.3 en el archivo SBML.

Cuadro 3-1. Condiciones iniciales de la rejilla. El número de Pasos Montecarlo fue tomado *a posteriori*, cuando se veía que estabilizaba la configuración. La temperatura fue elegida para permitir el movimiento celular. El resto de los parámetros están explicados a lo largo de los métodos.

Parámetro	Valor
Dimensiones	82 x 82
Pasos Montecarlo	50 000
Temperatura	8
Rango Vecinos	1
Tipos Celulares	Activada, Inhibida, Medio y Pared
Condiciones de Frontera	No periódicas, sin flujo
Volumen y Superficie Objetivo	20
Lambda Volumen y Superficie	5
Tasa Difusión Externa	0.045
Tasa Degradación Externa	0.001

Cuadro 3-2. Condiciones iniciales dependientes del escenario especificado en la Figura. #Cél: Número de Células, Disp. Cel: Disposición Celular, D: Células Dispersas en la Rejilla, B: Células en Bola o Agregado, F: Células en filamento, J(X, Y): energía entre el tipo celular X y el tipo celular Y, M: Medio, IA: Inhibida o Activada, P: Pared, C: Célula Congelada, NA: No Aplica.

Escenario	# Cél.	Disp. Cel.	J(M, M)	J(M, IA)	J(IA, IA)	J(P, IA)	J(P, M)	J(P, P)
Célula Individual	1	NA	0	10	NA	50	0	C
Población Celular No Densa	8	D	0	4	20	50	0	C
Población Celular Densa	37	D	0	4	20	50	0	C
Agregación	97	D	0	10	8	50	0	C
Agregado Fijo (Adhesión Alta)	94	B	C	C	C	C	0	C
Adhesión Media Alta	94	B	0	10	8	50	0	C
Adhesión Media	94	B	0	4	4	50	0	C
Adhesión Baja	94	B	0	4	8	50	0	C
Mini Agregado (Fijo)	22	B	C	C	C	C	0	C
Filamento (Fijo)	24	F	C	C	C	C	0	C

4. Resultados

Se presentan los resultados de todos los escenarios explicados en los métodos. En vista de que todas las simulaciones, a excepción de los escenarios de adhesión alta, tienen un componente estocástico dado por los intentos de copia de pixel, se decidió correr cinco veces cada simulación¹. Por lo tanto, a menos que se indique lo contrario, $N = 5$. Todos los videos de las simulaciones están en la página <https://www.youtube.com/playlist?list=UUfQB48Zu4th-BZ2vX6zQHhw>.

4.1. Pruebas control

Se evaluaron los tres tipos de comunicación (directa D, indirecta I y mixta M) en dos escenarios control: células solas en el medio y poblaciones celulares no adhesivas.

4.1.1. Células solitarias

En el caso de las células solitarias, la comunicación directa (célula-célula) es equivalente a la no comunicación ya que no hay células con las cuales comunicarse (ver Métodos). Por lo tanto, los resultados esperados de esta simulación eran los mismos que se obtuvieron del análisis de la red –en el espacio de parámetros escogidos para el trabajo (ver Anexo). Y en efecto, en *el equilibrio*², la concentración de activador (A_{eq}) fue mayor a la concentración de inhibidor (I_{eq}) (Fig. 4-2. a) y por lo tanto el tipo celular alcanzado fue el Activado (o Azul) (Fig. 4-1. a). De la misma manera, la comunicación mixta es equivalente a la comunicación indirecta (Métodos). En este escenario, en donde la célula podía secretar y absorber sustancias del medio, se llegó a un punto estable, en donde $A_{eq} > I_{eq}$ (Fig. 4-2. b); por lo que el tipo celular alcanzado fue el Activado (Fig. 4-1. a).

¹El número parece pequeño, pero como en el trabajo sólo interesan los comportamientos cualitativos, este tamaño de muestra es suficiente.

²El equilibrio es determinado por el momento en donde las concentraciones de I y de A son estables al igual que el patrón generado.

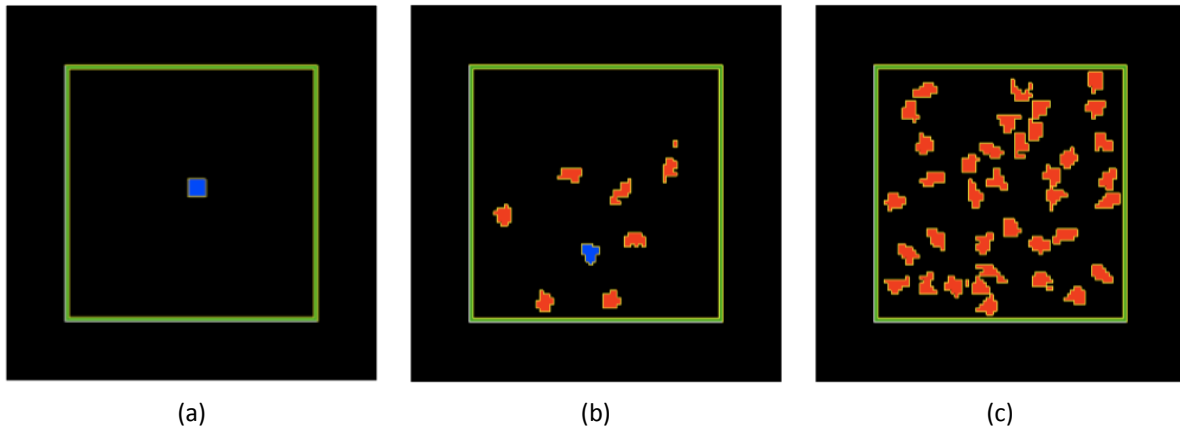


Figura 4-1. Tipos celulares en el equilibrio para las simulaciones control. a. Célula con comunicación directa. El punto estable es el Activado (o Azul) ($A_{eq} > I_{eq}$). Para la comunicación indirecta y mixta el resultado es el mismo. b. Población celular con densidad baja ($D = 3\%$); una de las células presenta, en el equilibrio, el tipo celular Activada ($A_{eq} > I_{eq}$); las otras siete tienen el tipo celular Inhibida (Roja) ($I_{eq} > A_{eq}$). c. Población celular con densidad alta ($D = 15\%$); todas las células presentan el tipo celular Inhibida (Rojo) ($I_{eq} > A_{eq}$).

Las dos dinámicas fueron similares, aunque con un número diferente de oscilaciones (Fig. 4-2). Los dos resultados muestran que, sin una dinámica grupal, independientemente del tipo de comunicación, el estado estable de la red intracelular es único; la célula se vuelve Azul o Activada.

4.1.2. Poblaciones celulares sin adhesión

Posteriormente se realizó una prueba de los diferentes tipos de comunicación, en una población celular sin adhesión y con dos densidades poblacionales (DP) diferentes ($DP = 3\%$ y 15%)³. La comunicación directa entre células es despreciable (ya que no hay vecinos adheridos) y por lo tanto el escenario de comunicación directa es equivalente al de no comunicación y el escenario de comunicación indirecta al de comunicación mixta. En el escenario de comunicación directa, todas las células se volvieron azules (Activadas). (A partir de aquí se utilizará la proporción AT que designa el número de células azules dividido entre el total de células⁴.) Para este caso $AT = 100\% (\pm 0)$. En el escenario de comunicación indirecta (y mixta) se observaron dos comportamientos dependientes de la densidad poblacional (DP).

-Cuando la DP fue baja (3%) las células alcanzaron dos estados estables (Azul y Rojo). La relación AT fue igual a $15.0\% \pm 10.46$ (fig 4-1.b). En la Figura 4-3 se presentan tres corridas independientes que

³DP: Porcentaje del medio ocupado por las células.

⁴El número de células Rojas es complementario.

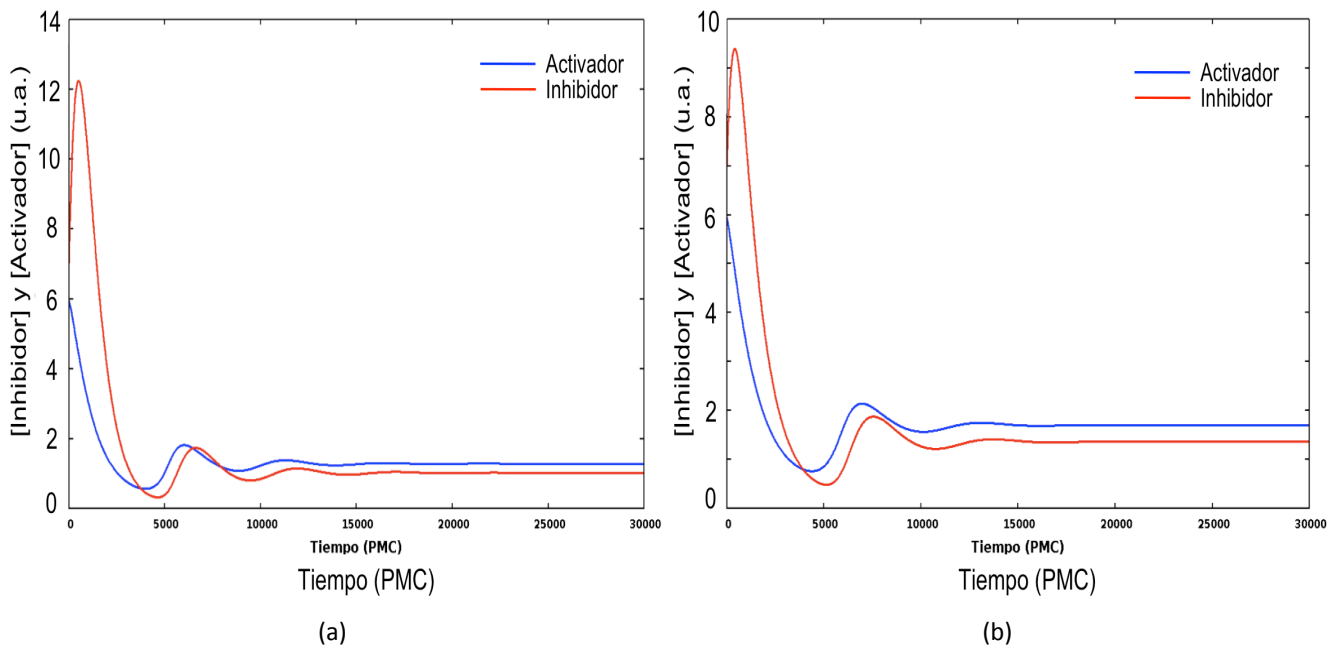


Figura 4-2. Concentraciones de inhibidor y activador con respecto al tiempo en las células solitarias. La línea azul representa a A y la Roja a I . a. célula con comunicación directa/sin comunicación ($A_{eq} = 1.28, I_{eq} = 1.02$) y b. célula con comunicación indirecta/mixta ($A_{eq} = 1.70, I_{eq} = 1.36$).

muestran el tipo celular (a), la concentración del inhibidor dentro de cada célula (b) y la concentración del inhibidor al exterior de las células (c). Por otro lado, se muestra la dinámica del inhibidor y el activador en una célula Activada (d) y en una célula Inhibida (e). Se puede ver que la dinámica del inhibidor y del activador antes de los 5,000 PMC, en ambas células, fue similar. Después, el activador en la célula Azul rebasó al inhibidor y se estabilizó; en cambio, en la célula Roja, el activador nunca rebasó al inhibidor y las dos concentraciones se mantuvieron casi nulas (fig 4-3. d y e). Que una célula alcance uno o el otro estado estable dependió de su localización con respecto a las vecinas. En efecto, en la Figura 4-3.(a, b y c) y en los videos [S0](#) y [S1](#) se observa cómo solamente las células que permanecieron más alejadas al resto de las células (indicadas por flechas blancas) y estuvieron expuestas a una menor concentración de inhibidor, llegaron al atractor Azul.

-Cuando la DP fue alta (15 %), todas las células se encontraron expuestas a un campo mayor de inhibidor por lo que llegaron al mismo atractor en donde el tipo celular es Rojo ($I_{eq} > A_{eq}$, AT= 0% \pm 0). La concentración de I siguió la misma dinámica que en las células Inhibidas en el escenario con densidad baja (Fig. 4-3.c). Es interesante notar que aún en células aisladas, la densidad ya puede definir la proporción y el arreglo espacial de diferentes estados celulares.

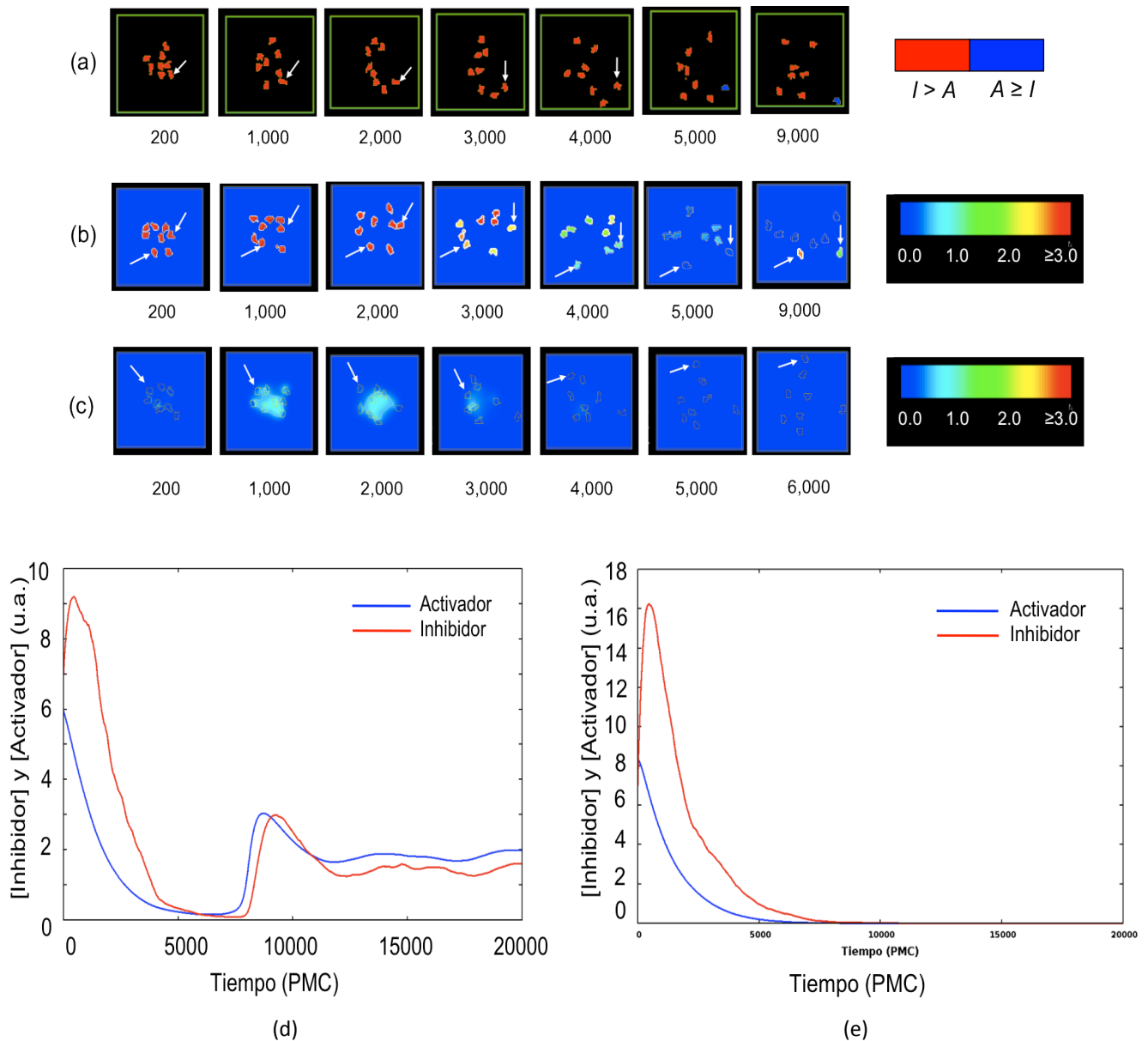


Figura 4-3. Población celular con densidad baja ($D = 3\%$). a. Tipos celulares alcanzados según la relación I/A en diferentes PMC. b. Concentración de inhibidor I en la población en diferentes PMC, en unidades arbitrarias (u.a.). c. Concentración del inhibidor en u.a. al exterior de las células en diferentes PMC. d y e. Concentración de inhibidor y activador (u.a.) con respecto al tiempo en una célula tipo Activada (d, $A_{eq} = 1.97$, $I_{eq} = 1.60$) y en una célula tipo Inhibida (e, $A_{eq} < 10^{-7}$, $I_{eq} = 3.26 \cdot 10^{-3}$) en el equilibrio. Las flechas blancas apuntan a células que en el equilibrio son Activadas o Azules. a, b y c son corridas independientes por lo que no tienen una equivalencia uno a uno.

4.1.3. Nuevos estados estables, regreso al análisis de la red simple

Para explicar la aparición de un nuevo estado estable es útil regresar al análisis de las ecuaciones diferenciales ordinarias de la red simple. De los parámetros empleados (ec. 3.1.3, 3.1.4), k_2 y k_4 determinan la naturaleza del punto de equilibrio (atractor, repulsor, punto silla). Si $k_2, k_4 > 0$ y $k_4 > k_2$, el punto de equilibrio es un atractor. Si $k_2 > k_4$, el punto de equilibrio es un repulsor (Anexo).

En el caso de la red simple, se tiene el segundo caso, el punto de equilibrio es atractor y el tipo Azul. No obstante, si el valor de k_4 disminuye de forma que $k_4 < 0.005 = k_2$, el punto de equilibrio se vuelve repulsor. En este último caso, se forman espirales abiertas que pasan cada vez más tiempo cercanas al cero (Fig. 6-3). Estadísticamente, el tiempo que pasa la trayectoria en la vecindad del punto (0,0) se vuelve infinito. Por lo que se puede considerar al punto (0,0) como un atractor. Además, en la vecindad de estabilidad del (0,0), $I_{eq} > A_{eq}$, por lo que la célula alcanza el tipo celular Rojo.

Este análisis de la red simple ayuda a entender cualitativamente casos más complicados. Sobre todo, los que implican una comunicación con el medio⁵. El intercambio con el medio es dado por el término $C_i = s(I_{ext_i} - I_i)$. Si la degradación en el medio es mucho más baja que al interior de la célula, el término C_i va a tender a ser positivo y va a haber una entrada constante de inhibidor. Esto será cualitativamente equivalente a decir que la tasa *neta* de degradación del inhibidor al interior de la célula será menor. Lo anterior descrito se puede resumir en la ecuación 4.1.1.

$$-k_4 I_i + s(I_{ext_i} - I_i) \sim -k_4^* I_i, \quad 0 < k_4^* < k_4 \quad (4.1.1)$$

En donde k_4^* es la tasa *neta* de degradación. Si $k_2 > k_4^*$, se llega al estado estable en (0, 0).

En el escenario de las poblaciones celulares sin adhesión, cuando la densidad poblacional es alta (15 %) y hay una gran cantidad de inhibidor en el medio, todas las células tienen una tasa neta de disminución de I (k_4^*) lo suficientemente baja para que el estado de equilibrio sea repulsor y el punto (0, 0) se vuelva atractor. En el caso de la densidad poblacional baja, las únicas células que permanecieron lejos del campo de inhibidor externo mantienen una k_4^* alta para alcanzar el atractor Azul.

⁵En el caso de la comunicación directa, las ecuaciones siguen más bien una dinámica de Turing, lo que se verá más adelante.

4.2. Agregación

A continuación se realizaron simulaciones en las cuales las poblaciones celulares podían agregarse y tenían alguno de los tres tipos de comunicación (D, I y M) para cada simulación (fig 4-4.a, b y c y videos S2, S3 y S4 respectivamente). Para este caso y los posteriores, las simulaciones se dejaron correr hasta que no hubiera un cambio en el patrón generado⁶. En todos los casos, las células separadas formaron agregados que contenían los diferentes tipos celulares. En la comunicación directa y mixta hubo una predominación de células Rojas (Inhibidas) (AT = 8.72 % \pm 1.17 , AT = 4.89 % \pm 1.42) y en la comunicación indirecta fue el caso inverso (AT =93.4 % \pm 3.31).

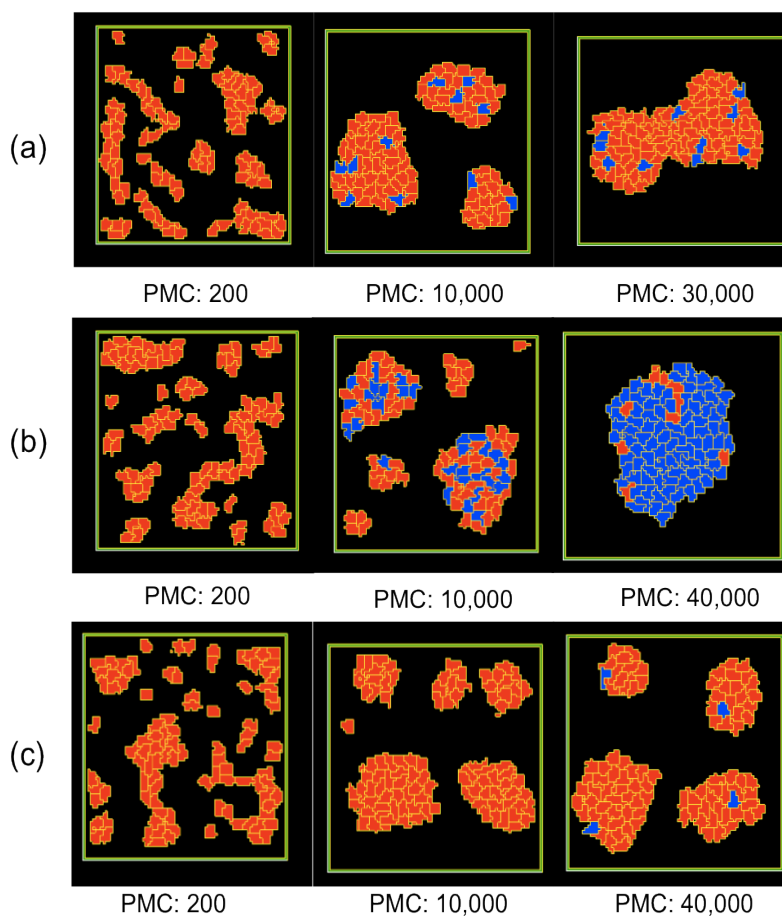


Figura 4-4. Prueba de agregación para los tres escenarios de comunicación (a. directa, b. indirecta y c. mixta) a diferentes tiempos. La adhesión de cada célula es media alta. En todos los casos los patrones obtenidos son similares a cuando se empieza directamente desde el agregado (con adhesión media alta) (fig 4-5). La velocidad a la que se forma un agregado depende de las condiciones iniciales y del movimiento aleatorio de cada célula.

⁶Lo que equivalía al equilibrio de las concentraciones de I y de A en las células.

Con el fin de evitar volver a correr las simulaciones desde células desagregadas se compararon los patrones obtenidos con aquellos generados empezando directamente desde un agregado con adhesión media-alta (Fig. 4-5). Como los patrones –la composición y el arreglo de los tipos celulares– eran cualitativamente iguales, todas las simulaciones y análisis posteriores se hicieron a partir de un agregado ya formado.

4.3. Patrones en agregado según los tipos de comunicación y niveles de adhesión

Se exploraron los patrones de organización de los tipos celulares en los agregados, dependiendo del tipo de comunicación (D, I y M) y los niveles de adhesión (alta, media-alta, media y baja). Cada simulación se dejó entre 30 000 y 40 000 PMC (Fig. 4-5 y en videos S5-16).

4.3.1. Efecto del tipo de comunicación en el patrón en el equilibrio

Patrones obtenidos

Cuando los agregados tienen adhesión alta, no tienen movimiento, por lo que sólo influye el tipo de comunicación en el patrón de organización celular en el equilibrio: En la comunicación directa, se obtuvo un patrón en ajedrez con una menor cantidad de células Azules que Rojas ($AT = 18.5 \% \pm 1.78$). En la comunicación indirecta, se formó un patrón en anillo con las células Rojas al exterior y Azules al interior ($AT = 55.0 \% \pm 0$). Finalmente, en la comunicación mixta, se formaron de tres a cuatro células Azules al centro del agregado; todo el resto fueron células Rojas ($AT = 3.62 \% \pm 1.61$) (Fig. 4-5). Este último escenario puede ser pensado como una distribución en ajedrez pero exclusiva de la parte interna del agregado.

Dinámica general del agregado

El número de tipos celulares con respecto al tiempo sigue una dinámica similar hasta los 6700 PMC para los tres tipos de comunicación (líneas lisas en la Figura 4-6 y videos [S5](#), [S6](#) y [S7](#)). En los tres

escenarios hay un aumento de células Rojas (en los primeros 1000 PMC) seguidos por una disminución de las mismas (5000 PMC) y un nuevo incremento hasta los 6700 PMC. A partir de los 6700 PMC, la dinámica de los agregados con comunicación directa y mixta son similares: la población de células Rojas se estabiliza (Fig. 4-6.a, b y e, f). En cambio, en el agregado con comunicación indirecta, la población de células Rojas vuelve a disminuir y se estabiliza (Fig. 4-6.c, d).

4.3.2. Efecto de la fuerza de adhesión en el patrón en el equilibrio

Patrones obtenidos

Por otro lado, los cambios en la fuerza de adhesión afectan diferentemente cada escenario de comunicación. En la comunicación directa, la disminución de la adhesión disminuye el número de células Azules *e.g.* la relación AT (media-alta: AT = 10 % \pm 2.2; media: AT = 8.9 % \pm 1.43; baja: AT = 7.23 % \pm 1.75) y la forma del agregado, sin cambiar el patrón de organización en puntos (Fig. 4-5 y videos [S8](#), [S11](#), [S14](#)). En el caso de la comunicación indirecta, la adhesión afecta la organización de los tipos celulares (y la forma del agregado). En efecto, en la adhesión media-alta, las células Rojas siguen en la periferia pero cambia la relación AT a 84.5 % \pm 3.7. Con la adhesión media, desaparecen todas las células Rojas (AT = 100 % \pm 0). Cuando la adhesión es baja, la forma del agregado cambia completamente y se llega a una relación AT = 55.7 % \pm 6.6, con un patrón no definido (Fig. 4-5 y videos [S9](#), [S12](#), [S15](#)). En el escenario de comunicación mixta, el número de células Azules aumenta con la adhesión media-alta (AT = 7.87 % \pm 1.61) y media (AT = 9.36 % \pm 1.39). Pero con adhesión baja, el patrón se pierde completamente; la relación AT se vuelve igual a 1.91 % \pm 0.89 (Fig. 4-5 y videos [S10](#), [S13](#), [S16](#)). Los mecanismos que explican el comportamiento según los tipos de comunicación y adhesión se revisarán en la siguiente sección.

Caso especial: la adhesión baja

Conforme disminuye la adhesión, la movilidad celular aumenta al igual que su efecto en la generación de los diferentes modos de organización de los tipos celulares. Sin embargo, cuando la adhesión es muy baja, no sólo se ve afectada la movilidad de cada célula, sino también la forma general del agregado. Cada célula se despega con cierta probabilidad, lo que genera cambios drásticos en el agregado que adquiere una forma no convexa y en algunos casos disconexa. El resultado de esto es que la información

de cada célula es muy diferente y cambiante. Dicho de otro modo, cuando los niveles de adhesión son muy bajos, se genera un nuevo paso cualitativo (Fig. 4-5 y videos [S14](#), [S15](#), [S16](#)). Por lo tanto, con el fin de acotar el análisis, no se considerará el escenario con adhesión baja.

Dinámica general

Cuando disminuye la adhesividad, se generan cambios constantes en la relación A/I de cada célula llevando a una inestabilidad del número de tipos celulares en el tiempo y del patrón final (Fig. 4-6). Para los escenarios de comunicación directa y mixta, esta inestabilidad de los tipos celulares no modificó la dinámica general de la simulación (Fig. 4-6.b y f; videos [S8](#), [S10](#), [S11](#), [S13](#)). En cambio, en el escenario de comunicación indirecta, las perturbaciones causadas por el movimiento celular llevaron a un cambio drástico en la dinámica general (Fig. 4-6.d; videos [S9](#) y [S12](#)). A partir de 8,000 PMC, el número de células Azules incrementa hasta llevar a la desaparición a las células Rojas.

En resumen, los patrones alcanzados están fuertemente influenciados por el tipo de comunicación y el nivel de adhesión. Cuando la adhesión es alta, la comunicación determina la distribución de los tipos celulares. No obstante, si la adhesión es baja esos patrones se desestabilizan y llevan a nuevos tipos de organización que en algunos casos no siguen ningún patrón (e.g. todas las células Azules). En la siguiente sección se procede a hacer un análisis más específico de estos diferentes escenarios en función de la dinámica interna de cada célula.

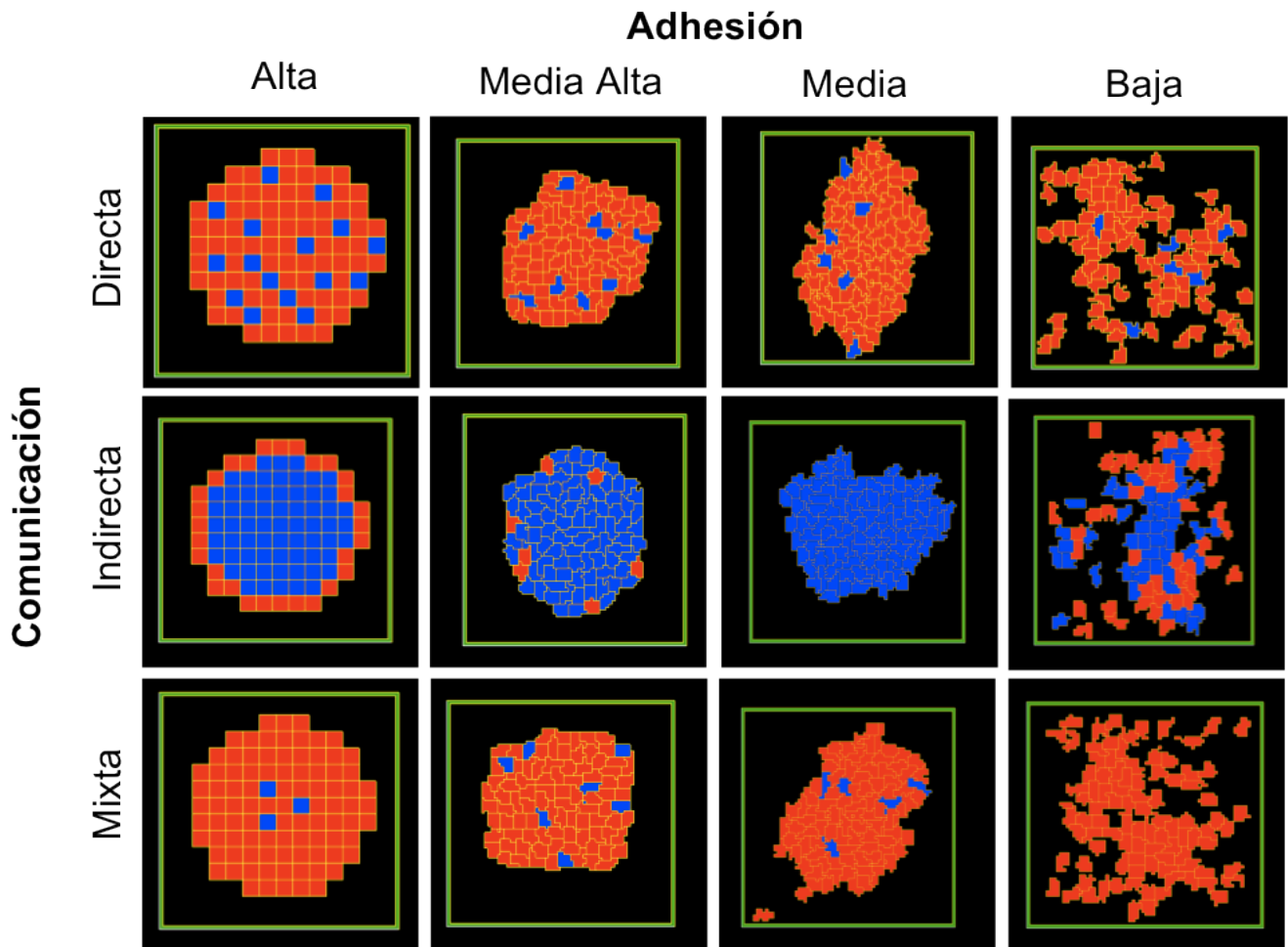


Figura 4-5. Patrones de organización espacial de los tipos celulares según los niveles de adhesión (alta, media alta, media y baja) y los tipos de comunicación (directa, indirecta y mixta). Las células Azules son las Activadas ($A_{eq} > I_{eq}$) y las Rojas, las Inhibidas ($I_{eq} > A_{eq}$). Todas las imágenes fueron tomadas en el equilibrio (cuando el número de tipos celulares era estable, ver Figura 4-6). Todas fueron tomadas en el paso 30,000 (independientemente de que en algunos escenarios el equilibrio se alcanzó antes).

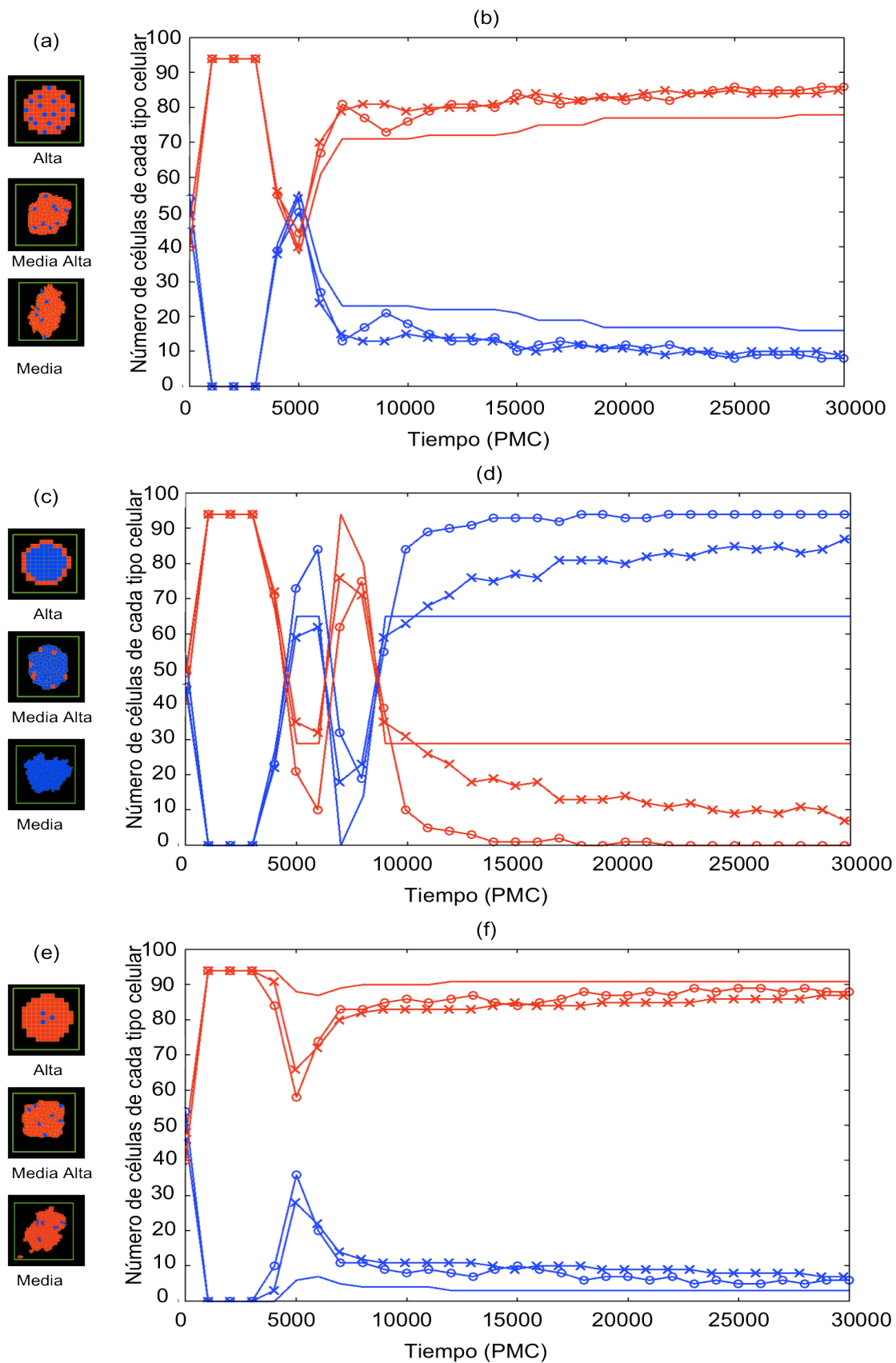


Figura 4-6. Número de células de cada tipo celular según diferentes niveles de adhesión y tipos de comunicación, en función del tiempo. a y b. comunicación directa, c y d. indirecta, e y f. mixta. a, c y e. Las líneas Rojas son las células Inhibidas, y las Azules las Activadas; línea lisa: adhesión alta, línea con cruces: adhesión media-alta y línea con círculos: adhesión media.

4.4. Dinámica intracelular relativa y absoluta

Para poder explicar, cualitativamente, los diferentes patrones obtenidos en cada una de las simulaciones, se realizó un seguimiento de la concentración absoluta de I en cada una de las células, a través de la captura de imágenes. Esto se complementó con gráficas que muestran el cambio de I y de A en el tiempo en una célula que en el equilibrio sea Azul (Activada) y otra que en el equilibrio sea Roja (Inhibida). Se muestran los resultados para el escenario con adhesión alta (figs. 4-7, 4-8, 4-9 y videos [S17](#), [S18](#), [S19](#)) y adhesión media (figs. 4-12, 4-13, 4-14 y videos [S20](#), [S21](#), [S22](#)) con los tres tipos de comunicación (D, I, M); es decir, seis escenarios⁷.

4.4.1. Adhesión alta

Cuando la adhesión es alta, el patrón está determinado por el acoplamiento intercelular definido por el tipo de comunicación entre sus células y la posición de cada célula con respecto al medio.

Comunicación directa

Cuando las células se comunican directamente, no hay una diferencia posicional *a priori* entre las células internas del agregado. Entre las células internas y externas habrá una diferencia por el número de vecinos de cada célula (las células externas tienen entre dos y tres vecinos y las internas cuatro). Por otro lado, no hay una influencia del medio exterior; la dinámica de cada una de las células estará únicamente determinada por sus vecinos. En los primeros 2,000 PMC, hubo un aumento en la concentración de inhibidor (I) y una disminución en la concentración de activador (A) en cada una de las células del agregado. Posteriormente la concentración del inhibidor disminuyó hasta el paso 5,000⁸ (Fig. 4-7.b, c y d). Después, en algunas de las células, las concentraciones de I y de A incrementaron, con $A_{eq} > I_{eq}$ (Fig. 4-7. c); en otras, ambas concentraciones permanecieron bajas con $I_{eq} > A_{eq}$ (Fig. 4-7. d).

⁷Para la comunicación directa y mixta, la dinámica intracelular en los escenarios de adhesión media alta y media fue cualitativamente igual. Por otro lado, en la comunicación indirecta, la dinámica intracelular de los escenarios con adhesión alta y adhesión media alta también tuvo un comportamiento cualitativamente igual. Finalmente, como se explicó en la sección anterior, el análisis del escenario con adhesión baja no se consideró. Por lo tanto, para este trabajo, fue suficiente estudiar sólo las dinámicas de la adhesión alta y la adhesión media alta para los tres tipos de comunicación.

⁸Esto se explica por la activación del activador al inhibidor y la inhibición de éste al primero. El inhibidor llega a un máximo en donde su tasa de degradación supera su tasa de producción (por la disminución del activador) y su concentración cae abruptamente.

Estas dos dinámicas están acopladas por un sistema de inhibición lateral. Cada célula se comunica con las vecinas, por lo que cualquier pequeña diferencia de I y de A será transmitida. Si $A > I$ en alguna célula, se genera un pico de activación por la retroalimentación positiva de A y por lo tanto también de I . Después, I puede difundir a las células vecinas (en donde no hubo un incremento de A) generando un campo de inhibición en las células vecinas (dos, tres o cuatro células según el caso) en donde $I > A$. La zona de inhibición permite a su vez la generación de nuevos picos de activación y así sucesivamente (video [S17](#)). El resultado es un patrón de expresión en ajedrez estable (Fig. 4-7. a y b).

Comunicación indirecta

Cuando las células se pueden comunicar solamente a través del medio exterior, las células externas tienen una información diferente a las células internas del agregado: las células externas pueden secretar el inhibidor al medio externo, contrariamente a las internas. Ya que la tasa de degradación en el medio exterior es menor que dentro de las células, las células externas se encuentran sometidas a una concentración mayor de inhibidor que las internas. Como no hay comunicación intercelular, estas diferencias no serán transmitidas de una célula a la otra.

La disminución de I en las células externas fue más lenta que la disminución de I en las internas (200-7,000 PMC) (Fig. 4-8. b, c y d). En las células externas, las concentraciones de A y de I siguieron disminuyendo hasta un valor cercano a 0 en el equilibrio, con $I_{eq} > A_{eq}$, lo que se traduce en un anillo exterior de células Rojas (Fig. 4-8. a). A su vez, las células sin contacto con el medio no tienen ningún tipo de comunicación, por lo que su dinámica fue la misma que en el caso de las células sin comunicación –se volvieron Azules con un nivel intermedio de A y de I ($A_{eq} > I_{eq}$; Fig. 4-8.a, b y c y video [S18](#)). (La tasa neta de disminución k_4^* fue menor a 0.005 en las externas y mayor a 0.005 en las internas).

Comunicación mixta

La comunicación mixta es una combinación de los dos escenarios anteriores. Al igual que en el caso anterior, la tasa de degradación menor de I en el medio hace que las células externas tengan una menor disminución de I en el principio de la simulación. Sin embargo, contrariamente al caso anterior, sí hay comunicación entre las células, por lo que las informaciones celulares se acoplan. Es decir, ya que

la tasa de decaimiento de I fue menor en las células externas, se generó un gradiente centrípeto de I en el agregado en donde la tasa de disminución de I era mayor conforme uno se acerca al centro del agregado (Fig. 4-9. b, PMC 3,000 y video S19). Se generaron dos zonas importantes. La primera es un anillo que abarca a todas aquellas células alcanzadas por el gradiente de I de manera a que, independientemente de las reacciones internas, tuvieron una tasa neta de disminución lo suficientemente baja ($k_4^* < 0.005$) por lo que alcanzaron el tipo celular Rojo (con $I_{eq} > A_{eq}$) (Fig. 4-9. a y b, PMC 14,000). Su dinámica fue similar a la de las células externas de la comunicación indirecta (Fig. 4-8. c). La segunda zona está compuesta por las células internas que estuvieron lo suficientemente alejadas del gradiente –los efectos de la comunicación indirecta fueron despreciables– y que siguieron una dinámica similar a la de inhibición lateral; es decir, se formó un patrón en ajedrez (Fig. 4-9. b, c y d).

Clasificación de las dinámicas

Todas las dinámicas intracelulares recuperadas con adhesión alta, se pueden agrupar en cuatro grupos; en dos, las células son Activadas y en las otras dos, Inhibidas.

Activada 1. Aquí, se presentan algunas oscilaciones entre el activador y el inhibidor antes de llegar al equilibrio en donde $A_{eq} > I_{eq}$. En este caso, $k_4^* = k_4 = 0.006 > 0.005$. Esta dinámica intracelular se da cuando la célula no tiene comunicación, ya sea en el control o al interior del agregado con comunicación indirecta (figs. 4-2.a ,4-8.d) o cuando ésta es despreciable como en las células aisladas (Figs. 4-2.b ,4-3.d).

Activada 2 e Inhibida 1. Las dos dinámicas son resultado del sistema de inhibición lateral con picos de activación en donde el activador y el inhibidor se encuentran en altas concentraciones y $A_{eq} > I_{eq}$ y valles de inhibición en donde los dos tienen una baja concentración y $I_{eq} > A_{eq}$. Las dos dinámicas están acopladas y mutuamente estabilizadas. Estas son el caso en el agregado de comunicación directa o al interior del agregado con comunicación mixta (Figs 4-7.c y d, 4-9.c y d).

Inhibida 2. Esta dinámica es observada en aquellas células cuya exposición a un gradiente de I le hacen tener un comportamiento similar a tener una tasa neta de disminución de I , k_4^* , muy baja. Aquí las dos concentraciones decaen hasta llegar a un nivel basal cercano al cero, en donde $I_{eq} > A_{eq}$. Es el caso de las poblaciones celulares sin adhesión y densidad alta, células externas en el agregado con comunicación indirecta o la banda externa en el agregado con comunicación mixta (Figs 4-2.d, 4-8.d).

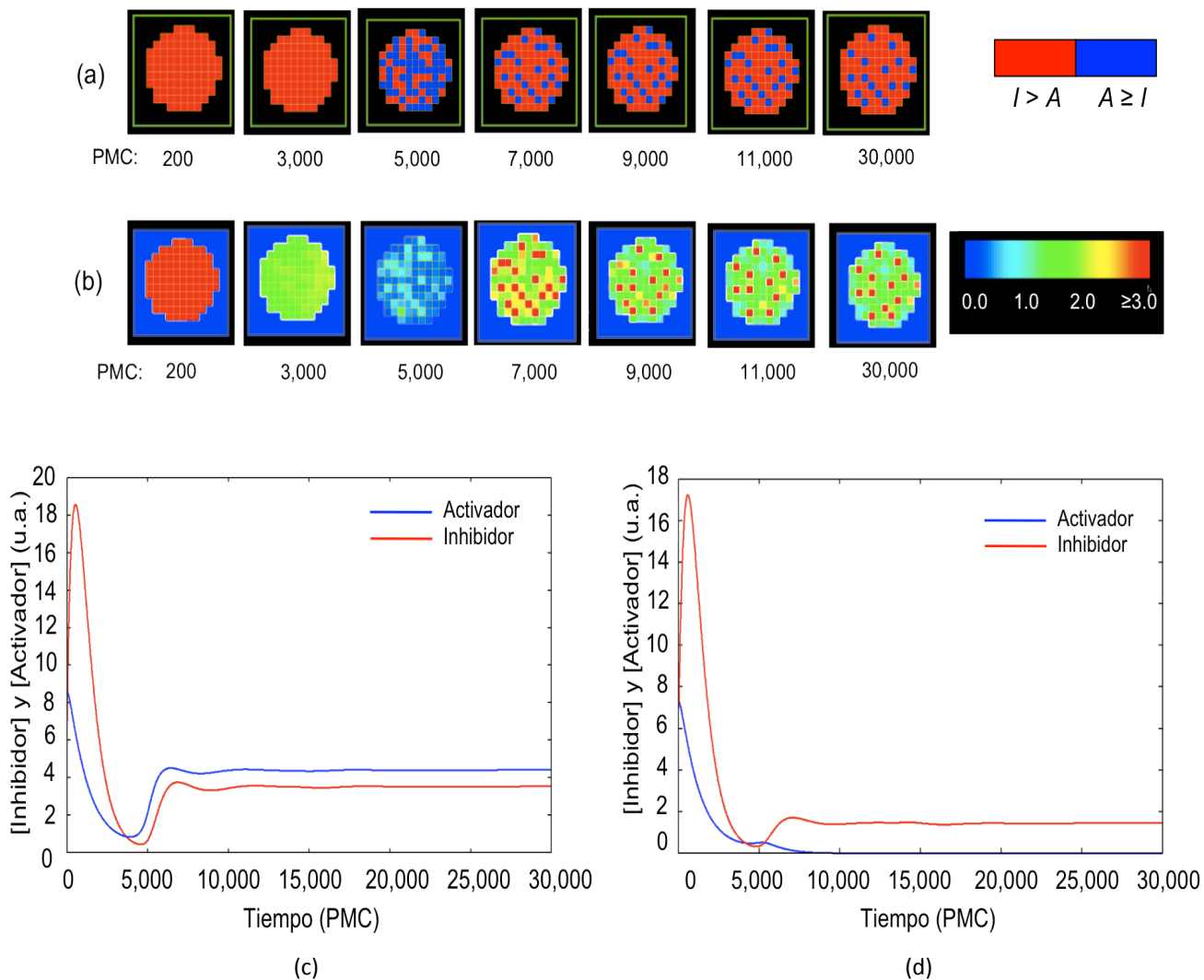


Figura 4-7. Agregado con comunicación directa y adhesión Alta. a. Tipos celulares alcanzados según la relación I/A en diferentes PMC. b. Concentración de inhibidor I en el agregado en diferentes PMC, en unidades arbitrarias (u.a.). c y d. Concentración de inhibidor y activador (u.a.) con respecto al tiempo en una célula tipo Activada (c, $A_{eq} = 4.56, I_{eq} = 3.65$) y en una célula tipo Inhibida (d, $A_{eq} = 2.30 \cdot 10^{-3}, I_{eq} = 1.45$) en el equilibrio. La línea azul representa a A y la Roja a I .

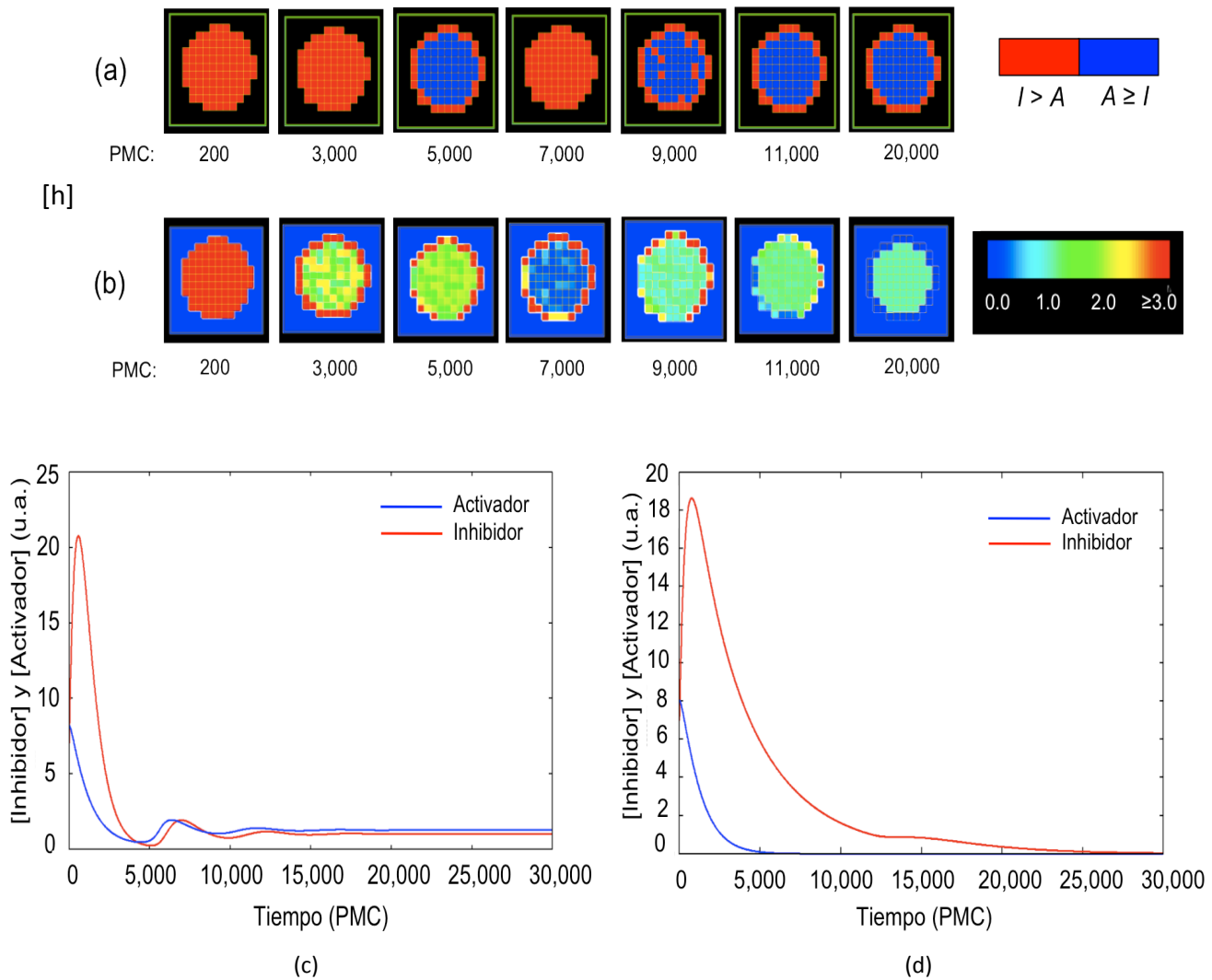


Figura 4-8. Agregado con comunicación indirecta y adhesión Alta. a. Tipos celulares alcanzados según la relación I/A en diferentes PMC. b. Concentración de inhibidor I en el agregado en diferentes PMC, en unidades arbitrarias (u.a.). c y d. Concentración de inhibidor y activador (u.a.) con respecto al tiempo en una célula tipo Activada (c, $A_{eq} = 1.28, I_{eq} = 1.02$) y en una célula tipo Inhibida (d, $A_{eq} < 10^{-7}, I_{eq} = 4.14 \cdot 10^{-2}$) en el equilibrio. La línea azul representa a A y la Roja a I .

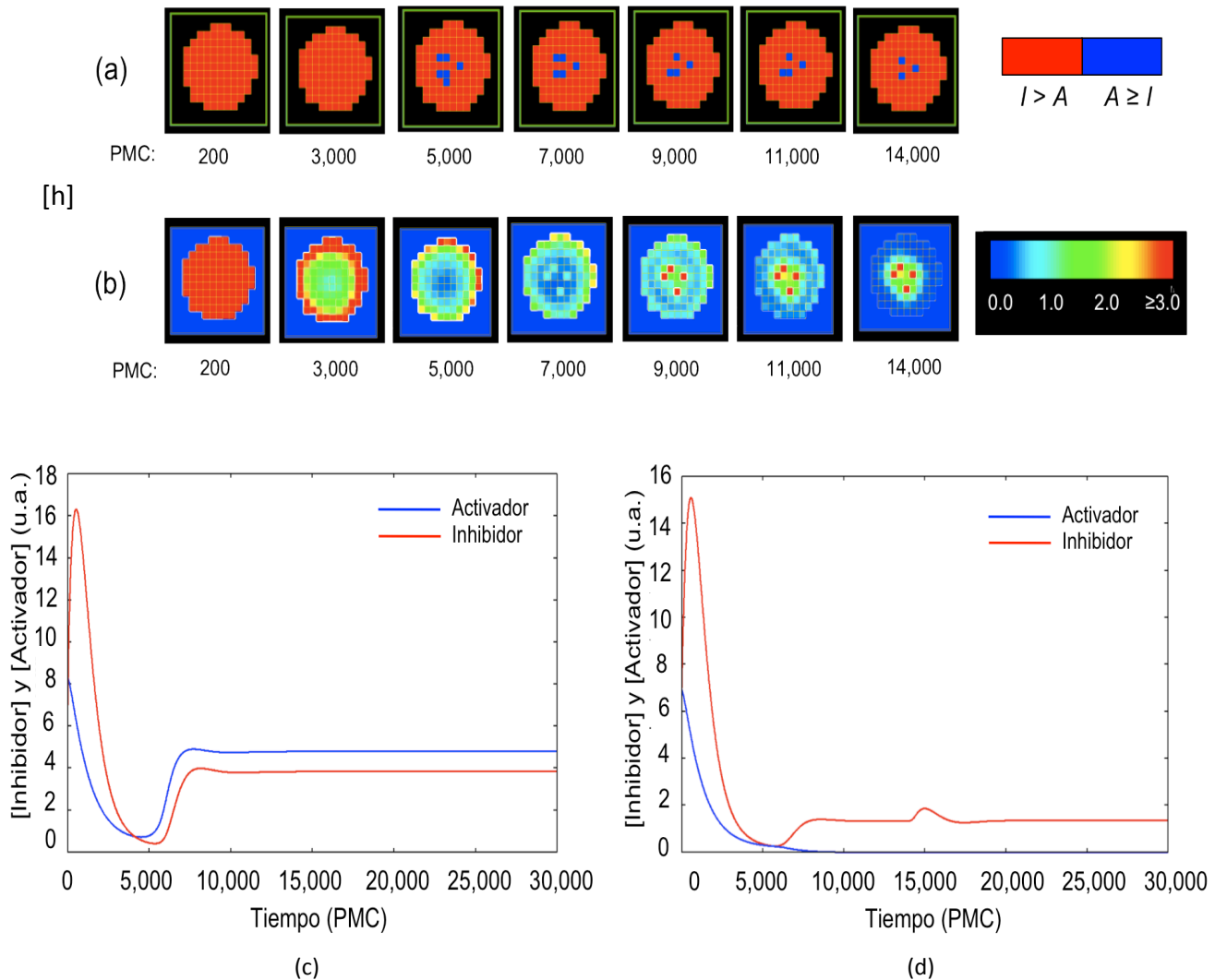


Figura 4-9. Agregado con comunicación mixta y adhesión Alta. a. Tipos celulares alcanzados según la relación I/A en diferentes PMC. b. Concentración de inhibidor I en el agregado en diferentes PMC, en unidades arbitrarias (u.a.). c y d. Concentración de inhibidor y activador (u.a.) con respecto al tiempo en una célula tipo Activada (c, $A_{eq} = 4.81, I_{eq} = 3.85$) y en una célula tipo Inhibida (d, $A_{eq} < 10^{-7}, I_{eq} = 1.35$) en el equilibrio. La línea azul representa a A y la Roja a I .

4.4.2. Adhesión media

La disminución en la adhesión aumenta la movilidad celular dentro del agregado⁹. De manera general, el movimiento celular en una masa tiene dos efectos importantes. En primero, hace que cada una de las células del agregado pase en promedio la misma proporción de tiempo (si se deja la simulación correr el suficiente tiempo) en contacto con el medio que aislado del mismo. En segundo, hace que cambien constantemente el número y la identidad de los vecinos de cada célula. Ambos procesos cambian continuamente la información posicional de las células y afectan las trayectorias que sigue cada dinámica intracelular al igual que la identidad del atractor (repulsor o atractor) (Fig. 4-10). El efecto del movimiento será diferente para cada tipo de comunicación.

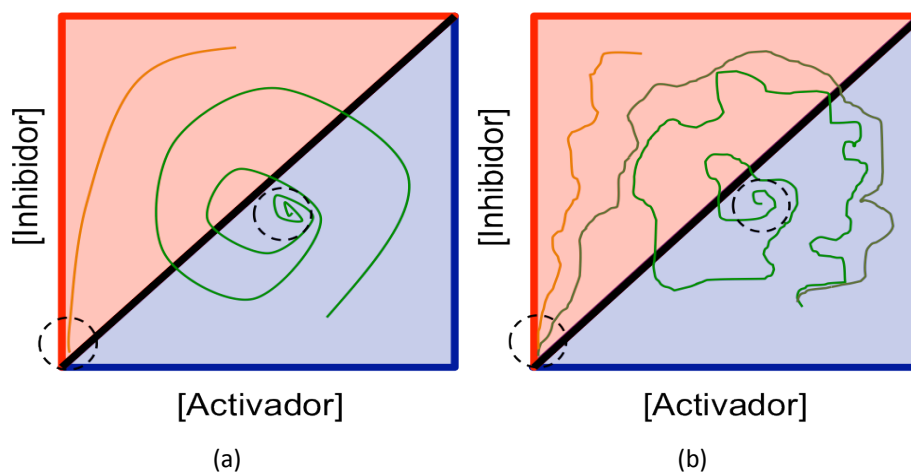


Figura 4-10. Efecto de la adhesión en las trayectorias de la dinámica activador-inhibidor. a. Adhesión alta, movimiento celular bajo. Trayectorias con condiciones iniciales distintas pueden llegar a uno de los dos atractores. La trayectoria es lisa (no hay perturbaciones). b. Adhesión baja, movimiento celular alto. Aquí, el movimiento hace que las trayectorias se tarden más tiempo en llegar a los atractores (curva verde) o que cambien de atractores (curva naranja).

Comunicación directa

En la comunicación directa con adhesión media, la dinámica intracelular de I y de A fue similar al caso de la adhesión alta (Fig. 4-12.a, b y video S20). Sin embargo, hay dos diferencias importantes. En primer lugar, el hecho de que la identidad de cada vecino esté en constante cambio hizo que algunas células nunca lleguen a un equilibrio intracelular. En la Figura 4-12. c una célula Activada (Azul) cambió

⁹Cuando la adhesión es muy baja, también cambia la forma del agregado, aunque esto último no se consideró en este trabajo.

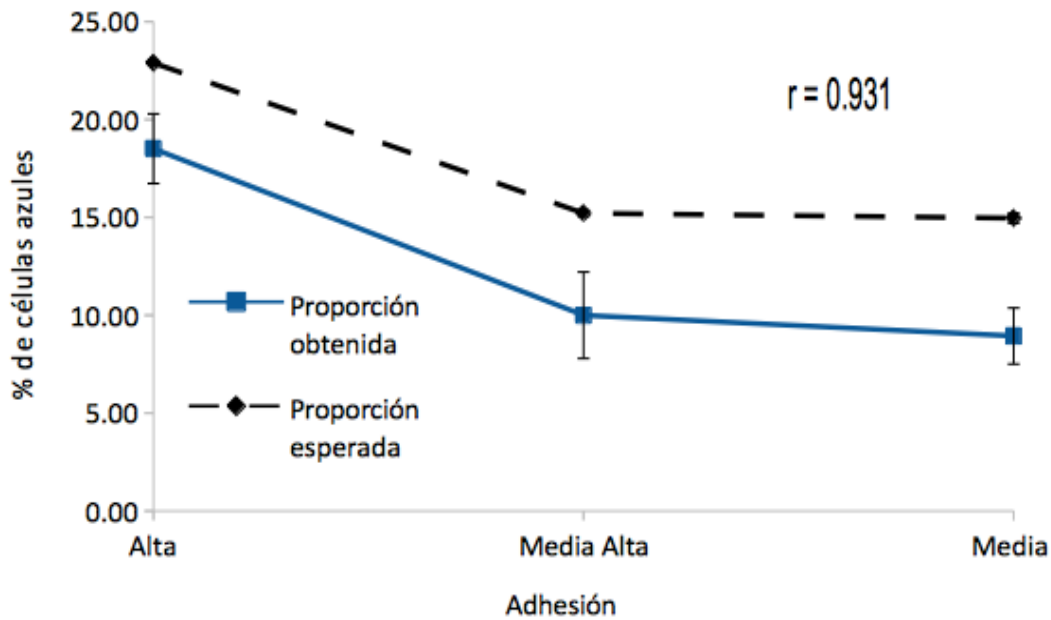


Figura 4-11. Relación entre la proporción AT de células Azules obtenidas en el escenario de comunicación directa con tres tipos de adhesión (Alta, Media Alta y Media) y la proporción esperada de células Azules en función del número de vecinos. La proporción esperada PE se calculó con la siguiente relación: $PE = 1/(nn + 1)$ (en donde nn : número de vecinos promedio). La correlación entre las dos es de 0.931

a ser Inhibida (Roja) después de 30,000 PMC. Similarmente, algunas células Rojas cambiaban a Azules después de varias generaciones (no mostrado). En otros casos, el movimiento no sacó a las células del atractor alcanzado (Fig. 4-12. d), durante toda la simulación. Un fenómeno interesante es que como todas las células están acopladas, se crearon zonas de activación-inhibición. El movimiento lo único que hizo fue cambiar de localización las zonas, sin nunca destruirlas por completo (Fig. 4-12. b y video S20), lo que se traduce en que el patrón general de puntos Azules no se haya perdido por completo. En segundo lugar, el movimiento aumentó el número de vecinos promedio de cada célula. El campo de inhibición generado por cada célula Activada difundió a un mayor número de vecinas, aumentando así la cantidad de células Inhibidas; esto puede explicar la disminución de células Azules. En efecto, si se estima la proporción de células Azules en función del número de vecinos (y por tanto en función de la adhesión), se ve que está directamente correlacionada con la cantidad de células Azules para esos escenarios (Fig. 4-11)

Comunicación indirecta

En el caso de la comunicación indirecta, la adhesión media entre las células alteró completamente el patrón generado con la adhesión alta. (Fig. 4-13.a y b y video [S21](#)). Al seguir la dinámica intracelular en todo el agregado, se observa como el en paso 3000 se formó un patrón de expresión de I en anillo reflejado en los tipos celulares en el paso 5000 (Fig. 4-13.a y b). No obstante, conforme avanzó la simulación el patrón en anillo se perdió completamente hasta que el perfil de expresión para todas las células fue el mismo (Fig. 4-13.a y b, PMC 40,000). El movimiento homogeneizó la proporción de tiempos que cada célula pasaba en contacto con el tiempo y aislado del mismo. Aunado a esto, por la forma del agregado cada célula pasa más tiempo al interior que al exterior del mismo¹⁰. Por lo tanto ninguna célula se encontró expuesta al campo de inhibidor del medio el tiempo suficiente para alcanzar el tipo celular Rojo. Para todas las células en el equilibrio $A_{eq} > I_{eq}$ (Fig. 4-13.c). Además, como ninguna célula puede comunicarse con sus vecinas, su trayectoria fue independiente de su localización con respecto a éstas.

Comunicación mixta

En la comunicación mixta toman sentido los dos efectos del movimiento; la estandarización de los tiempos de contacto con el medio exterior y la identidad y número de vecinos. En la Figura 4-14.b se observa un gradiente centrípeto de I en el paso 2,000, eliminado en el paso 5,000 por el movimiento celular. La ausencia de gradiente quitó la zona de inhibición observada en el caso de la comunicación mixta con la adhesión alta. Se eliminó el efecto de la comunicación indirecta; por lo que el escenario de comunicación mixta con adhesión media fue similar al escenario de comunicación directa con adhesión media (se forman más picos de activador-inhibidor) (fig 4-14. a, b, c y video [S22](#))

En resumen, la adhesión celular afecta diferencialmente cada uno de los escenarios. Con la comunicación mixta y directa, el patrón general sólo cambia cuantitativamente (número de células Azules y Rojas); en el escenario de comunicación indirecta, se genera un nuevo agregado cualitativamente distinto (puras células Azules).

¹⁰Un disco tiene una superficie menor a su volumen.

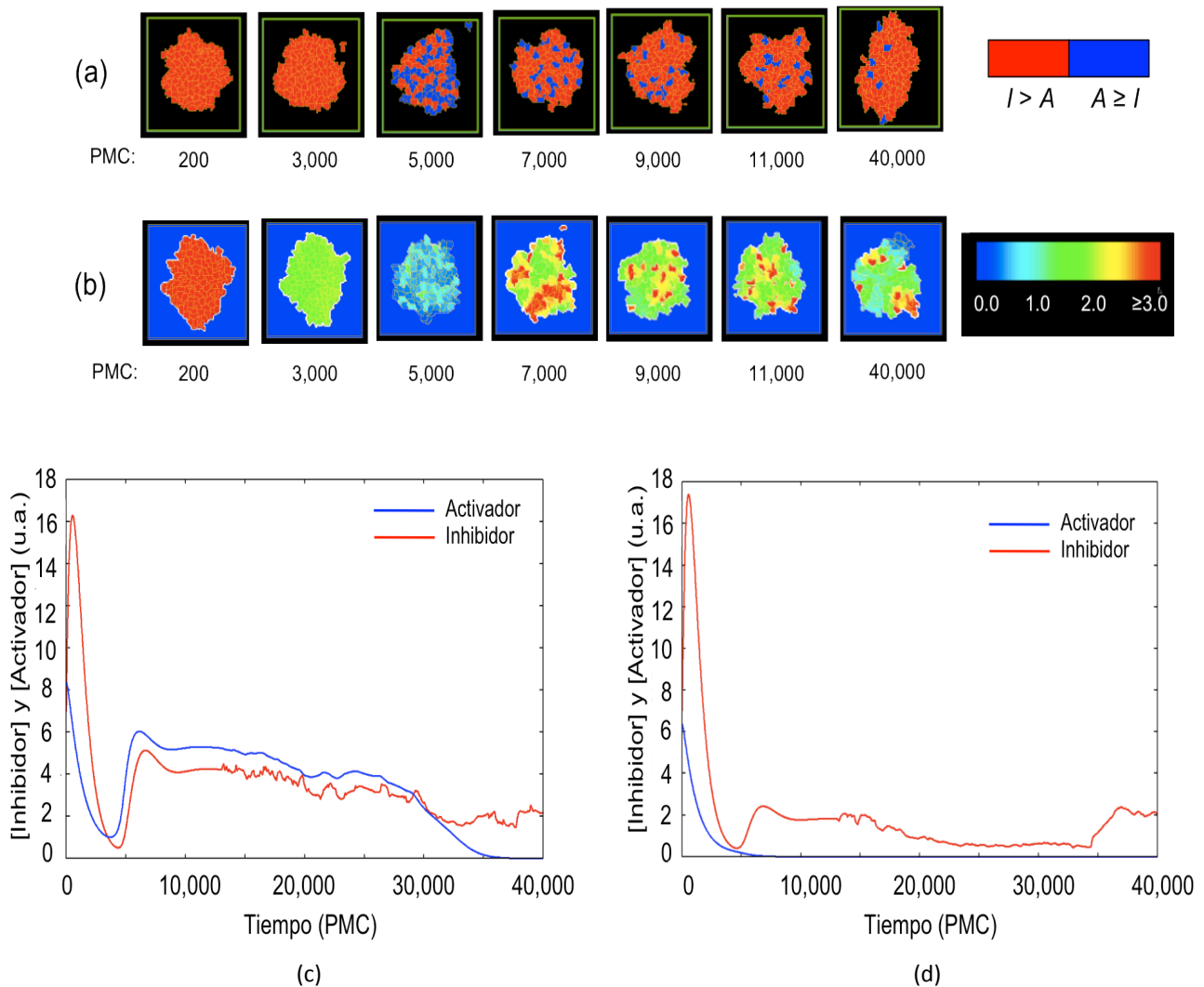


Figura 4-12. Agregado con comunicación directa y adhesión Media. a. Tipos celulares alcanzados según la relación I/A en diferentes PMC. b. Concentración de inhibidor I en el agregado en diferentes PMC, en unidades arbitrarias (u.a.). c y d. Concentración de inhibidor y activador (u.a.) con respecto al tiempo en una célula tipo Activada (c, $A_{20000} = 4.19$, $I_{20000} = 3.565$) y en una célula tipo Inhibida (d, $A_{40000} < 10^{-7}$, $I_{40000} = 2.05$) en el equilibrio. La línea azul representa a A y la Roja a I .

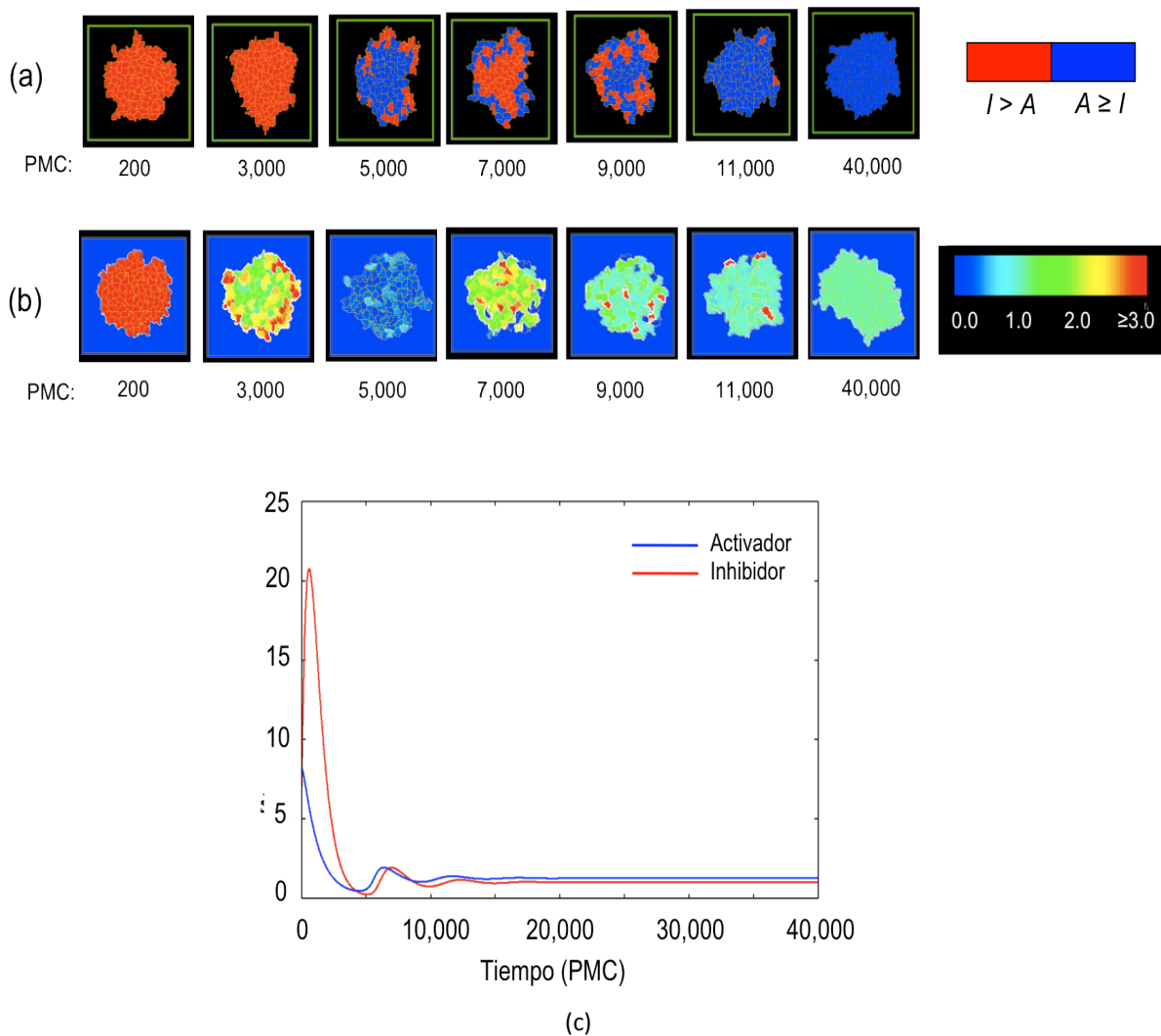


Figura 4-13. Agregado con comunicación indirecta y adhesión Media. a. Tipos celulares alcanzados según la relación I/A en diferentes PMC. b. Concentración de inhibidor I en el agregado en diferentes PMC, en unidades arbitrarias (u.a.). c. Concentración de inhibidor y activador (u.a.) con respecto al tiempo en una célula tipo Activada (c, $A_{eq} = 1.27$, $I_{eq} = 1.02$) en el equilibrio. La línea azul representa a A y la Roja a I .

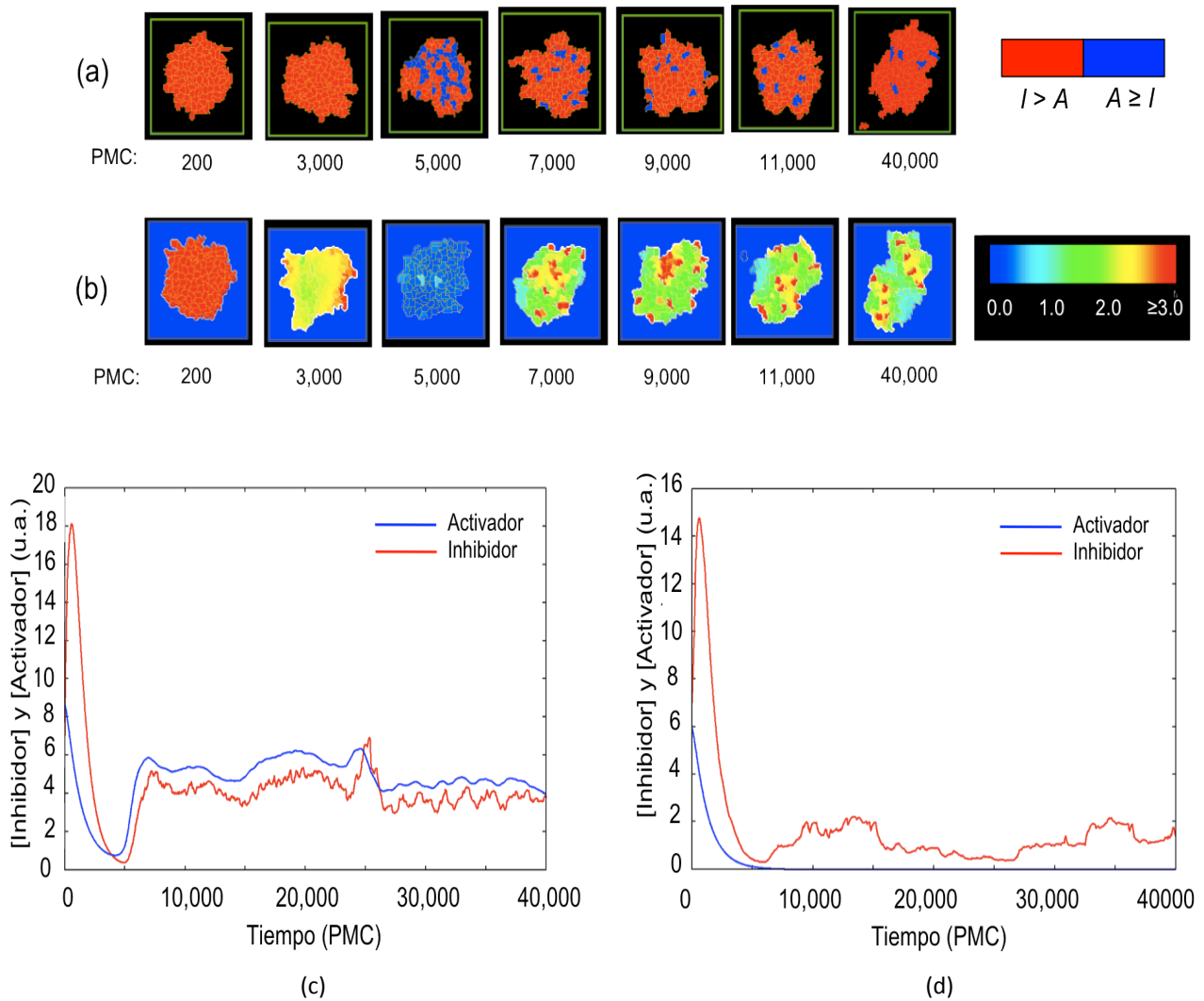


Figura 4-14. Agregado con comunicación mixta y adhesión Media. a. Tipos celulares alcanzados según la relación I/A en diferentes PMC. b. Concentración de inhibidor I en el agregado en diferentes PMC, en unidades arbitrarias (u.a.). c y d. Concentración de inhibidor y activador (u.a.) con respecto al tiempo en una célula tipo Activada (c, $A_{eq} = 3.91, I_{eq} = 3.75$) y en una célula tipo Inhibida (d, $A_{eq} < 10^{-7}, I_{eq} = 1.91$) en el equilibrio. La línea azul representa a A y la Roja a I .

Efecto del movimiento, después del equilibrio

El movimiento afecta la posición de una célula con respecto al medio y con respecto a las células vecinas, cambiando así los atractores alcanzados. Sin embargo, si una trayectoria está cercana a un atractor, las perturbaciones tienen, en principio, un efecto menor. Es decir, el movimiento no debería tener el mismo efecto una vez que las células están en el equilibrio. Para comprobar esta hipótesis, se realizaron tres escenarios adicionales (con los tres tipos de comunicación) en donde la adhesión disminuyera después de que las dinámicas intracelulares hayan llegado al equilibrio. En un primer momento los escenarios tuvieron adhesión alta. Después de que alcanzaran el equilibrio, la adhesión se cambió a media alta y se dejó correr hasta que el patrón se estabilizara nuevamente. (Fig. 4-15 y en los videos [S26](#), [S27](#), [S28](#)).

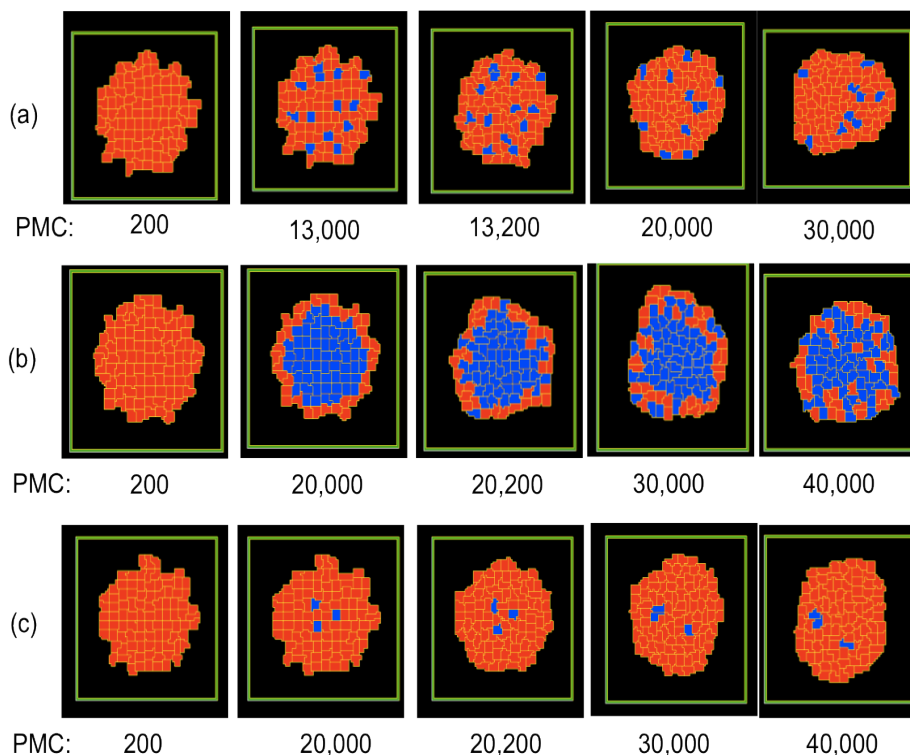


Figura 4-15. Tipos celulares resultantes de la prueba de estabilidad en agregados con tres tipos de comunicación (a. directa, b. indirecta y c. mixta). La tercera imagen de cada serie corresponde al inicio del movimiento. Todas las simulaciones se corrieron hasta el paso 40,000.

En el caso de la comunicación indirecta y mixta, las células conservaron su identidad, manteniendo la relación AT inalterada (en la comunicación indirecta $AT = 62.0\% \pm 1.33$, en la comunicación mixta $AT = 2.12\% \pm 1.22$; antes y después del movimiento), pero el patrón de organización se perdió

por completo. En cambio, en la comunicación directa, la relación AT pasó de $14.10\% \pm 1.81$ a $9.30\% \pm 1.81$. Aquí no afectó que el movimiento fuera posterior al equilibrio¹¹.

4.5. Pruebas de robustez

Los patrones generados con adhesión alta fueron sometidos a otras pruebas de robustez: ante un impulso químico y cambios de tamaño y forma. En general, los patrones resultaron ser robustos al impulso químico e independientes del tamaño¹². Por otro lado, la forma en disco parece ser necesaria para la generación de algunos de los patrones estudiados, causados por la comunicación indirecta y mixta.

4.5.1. Perturbación química

Para la prueba de perturbación química, se generó en un mismo patrón en el equilibrio (a diferentes pasos montecarlo según el tipo de comunicación) un impulso de activador A en una célula Activada ($A_{eq} > I_{eq}$) y otro en una célula Inhibida ($I_{eq} > A_{eq}$).

En la comunicación directa e indirecta, el impulso alteró la identidad de los tipos celulares. Sin embargo, después de unos cuantos PMC, el patrón general regresó a su normalidad (fig 4-16. a, b, c y d). Es decir, no se modificó por la perturbación. La dinámica intracelular de cada una de las células muestra cómo aunque haya una perturbación, ésta fue inmediatamente regulada sea por las células vecinas (comunicación directa) (fig 4-17 y video [S23](#)) o por la misma dinámica de la célula (comunicación indirecta) (fig4-18 y video [S25](#)). Por lo tanto, los tipos celulares son estables ante las perturbaciones químicas, al igual que el patrón general de organización de los tipos celulares en el agregado.

En la comunicación mixta, la perturbación a una célula periférica Inhibida la volvió Activada al final del nuevo equilibrio ($A_{neq} > I_{neq}$) (fig 4-16.e y f). Por lo que el tipo celular de las células periféricas no fue estable. Su dinámica intracelular se observa en la Figura 4-19.c. Por otro lado, la perturbación al centro del agregado no afectó los tipos celulares (fig 4-19.b y fig 4-16.e y f). Sin embargo, ninguna de las dos perturbaciones locales afectó el patrón general de organización del agregado (fig 4-16.e, f, fig 4-19.a

¹¹Sólo importó, nuevamente, el número de vecinos.

¹²Siendo necesario un tamaño mínimo en donde existan células internas y externas.

y video [S24](#)). Por lo tanto, los patrones generales son estables ante perturbaciones locales.

4.5.2. Tamaño

En la prueba de tamaño, se redujo el tamaño del agregado a un agregado «chico» de 22 células.. En los tres tipos de comunicación (D, I, M) con tamaño reducido, se recuperaron todos los tipos de organización espacial de los agregados normales (Fig.4-20. a, c, y e), sólo que en una escala menor. Además, la dinámica del número de tipos celulares en el tiempo es, igualmente, la misma que en los agregados normales (Fig.4-20. b, d, y f). Por lo tanto, los tipos de organización son independientes del tamaño del agregado.

4.5.3. Forma

Se evaluaron los efectos de los tres tipos de comunicación (D, I, M) en un dominio unidimensional (un filamento). En la comunicación directa, se recuperó un patrón alternado de tipos celulares (Fig.4-21. a) con una dinámica similar a la del agregado bidimensional (Fig.4-21. b). Sin embargo, en los escenarios de comunicación indirecta y mixta todos los tipos celulares fueron Inhibidas en el equilibrio ($I_{eq} > A_{eq}$) (Fig.4-20. c y d). Esto se explica por el campo de inhibidor generado en el medio que impulsa la red dinámica de cada célula al atractor celular Inhibida. Las células del filamento tienen, cualitativamente, la misma información posicional que las células externas en el caso de la agregado (con respecto al medio), lo que explica que alcancen los mismos atractores. Por lo tanto, los tipos de patrones generados en la comunicación indirecta y mixta dependen del arreglo bidimensional o en disco (en donde unas células pueden estar aisladas del medio y otras en contacto con el medio; es decir, tener dos o más informaciones posicionales distintas, con respecto al medio y a la posición de las otras células)¹³.

¹³En un espacio tridimensional, el agregado debería crecer hacia 3 direcciones, por ejemplo, una esfera, para poder cumplir con estas condiciones.

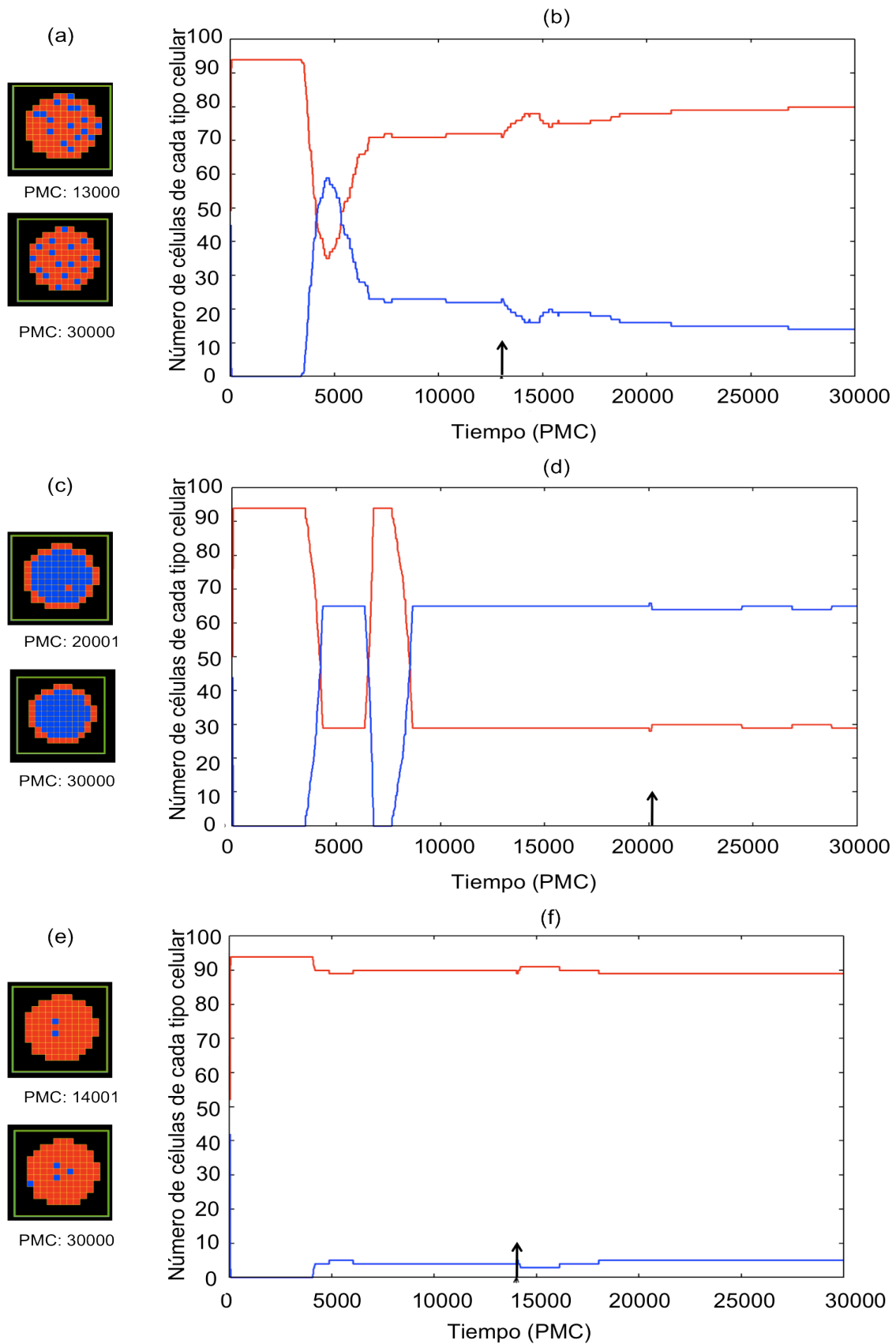


Figura 4-16. Tipos celulares en un agregado con adhesión alta y comunicación directa (a,b), indirecta (c,d) y mixta (e,f) ante una perturbación química. a, c y e. Patrón de los tipos celulares al momento de la perturbación y al paso 30000. b, d y f. Número de células de cada tipo celular (Rojo: Inhibidas, azul: Activadas) en el tiempo ante la perturbación, indicada con la flecha.

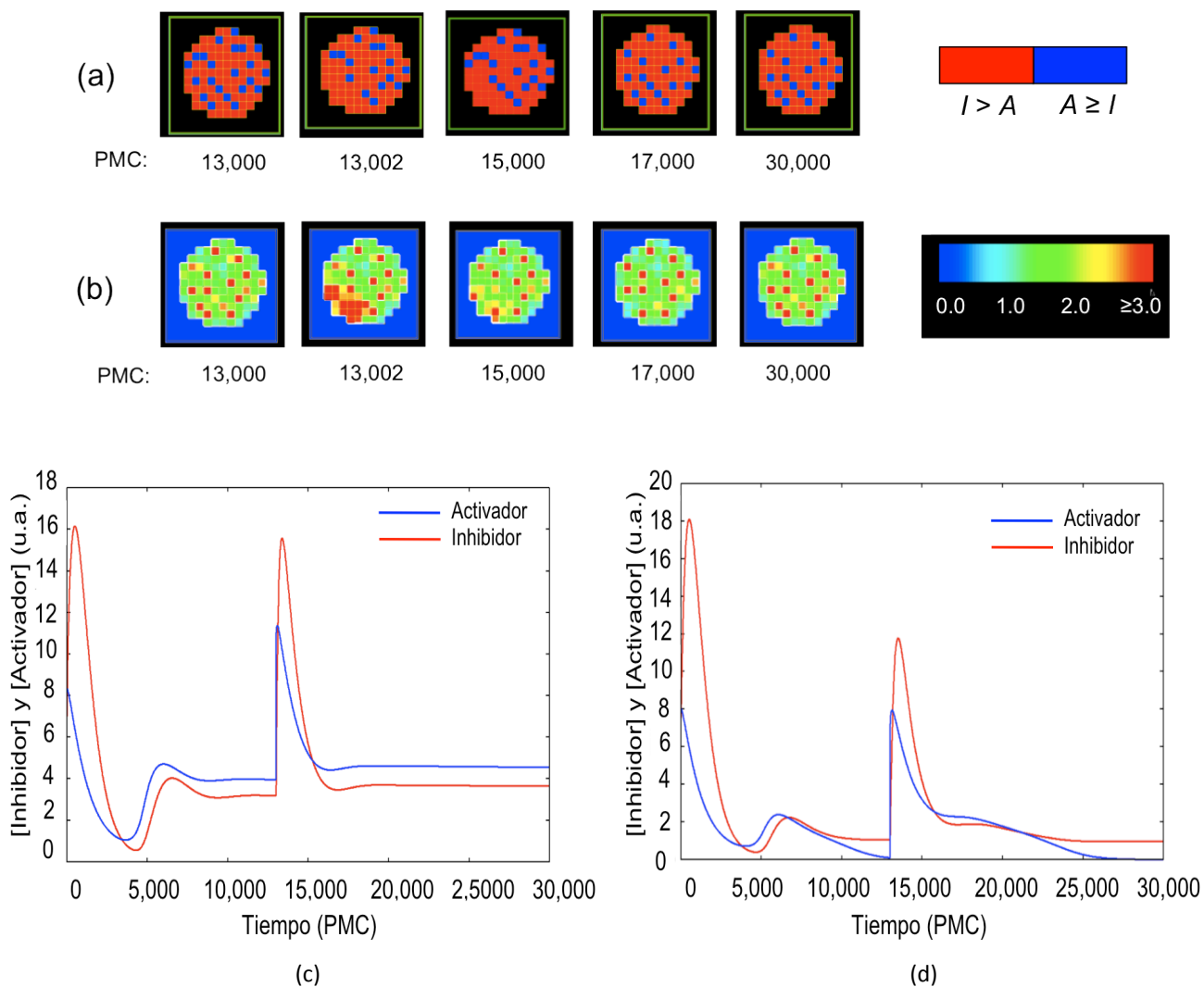


Figura 4-17. Prueba de perturbación en agregado con comunicación directa y adhesión Alta. a. Tipos celulares alcanzados según la relación I/A en diferentes PMC. b. Concentración de inhibidor I en el agregado en diferentes PMC, en unidades arbitrarias (u.a.). c y d. Concentración de inhibidor y activador (u.a.) con respecto al tiempo en una célula tipo Activada (c, $A_{eq} = 4.56$, $I_{eq} = 3.65$) y en una célula tipo Inhibida (d, $A_{eq} < 10^{-7}$, $I_{eq} = 0.96$) antes de la perturbación. La línea azul representa a A y la Roja a I .

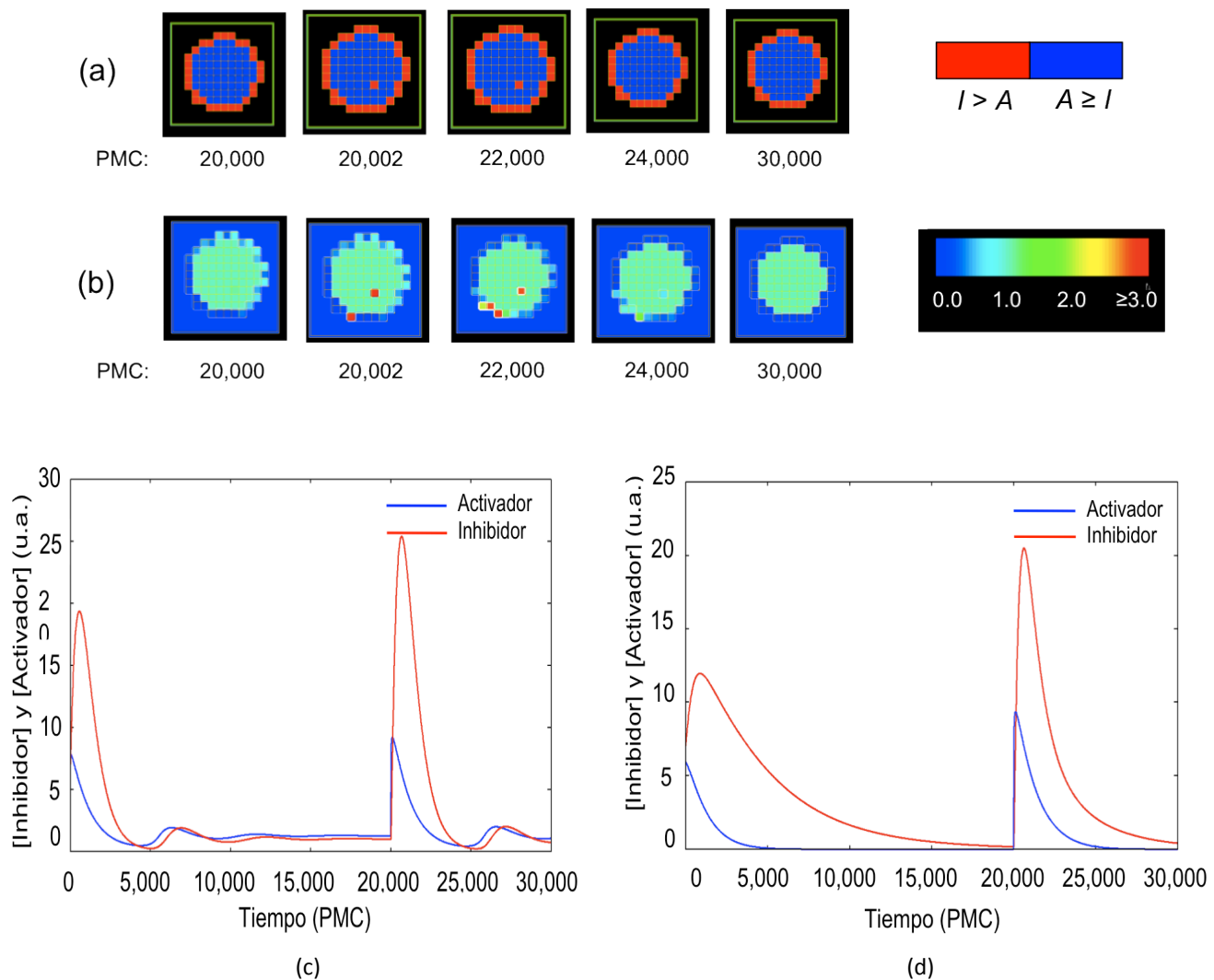


Figura 4-18. Prueba de perturbación en agregado con comunicación indirecta y adhesión Alta. a. Tipos celulares alcanzados según la relación I/A en diferentes PMC. b. Concentración de inhibidor I en el agregado en diferentes PMC, en unidades arbitrarias (u.a.). c y d. Concentración de inhibidor y activador (u.a.) con respecto al tiempo en una célula tipo Activada (c, $A_{eq} = 1.28$, $I_{eq} = 1.02$) y en una célula tipo Inhibida (d, $A_{eq} < 10^{-7}$, $I_{eq} = 4.0 \cdot 10^{-2}$) antes de la perturbación. La línea azul representa a A y la Roja a I .

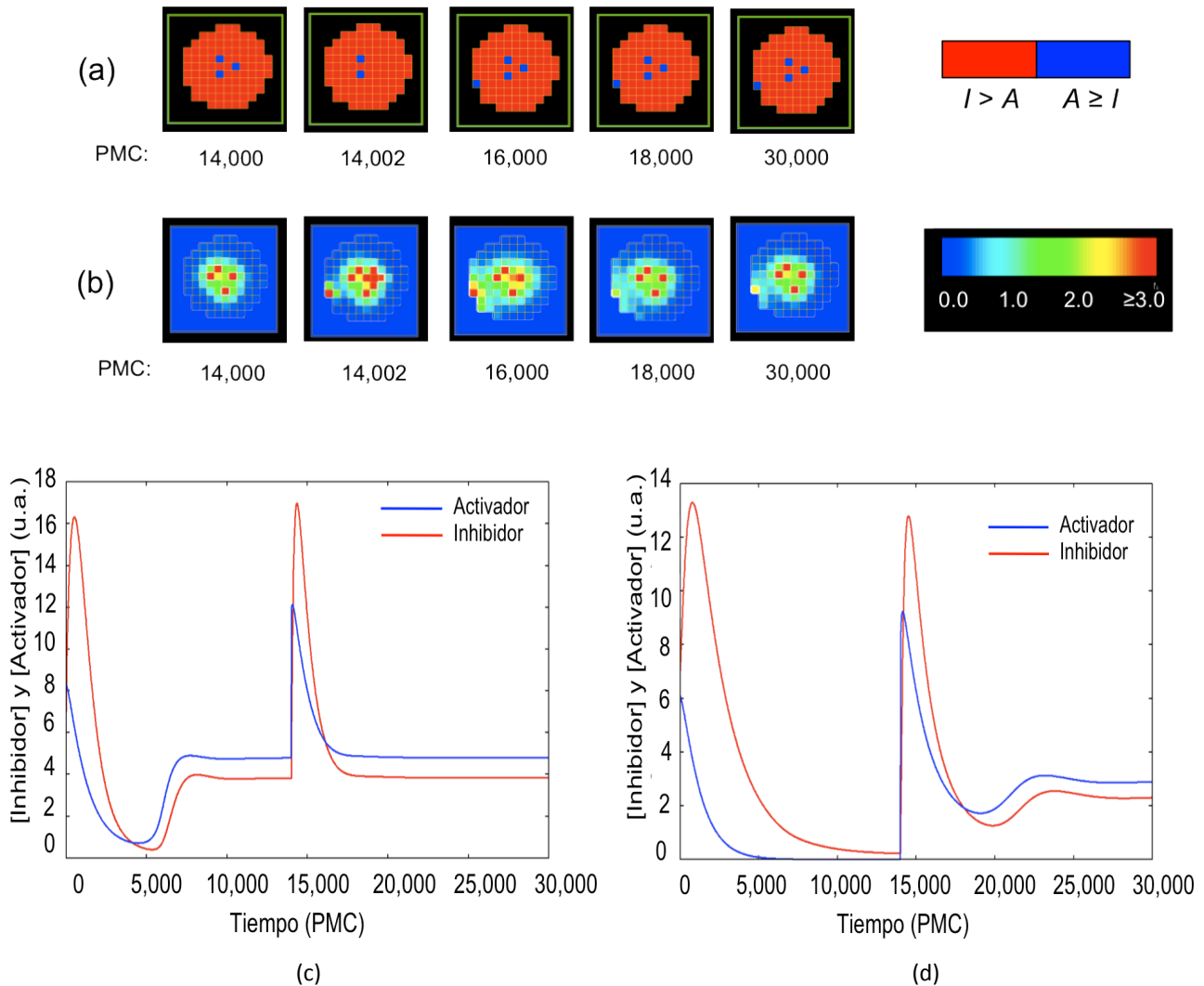


Figura 4-19. Prueba de perturbación en agregado con comunicación mixta y adhesión Alta. a. Tipos celulares alcanzados según la relación I/A en diferentes PMC. b. Concentración de inhibidor I en el agregado en diferentes PMC, en unidades arbitrarias (u.a.). c y d. Concentración de inhibidor y activador (u.a.) con respecto al tiempo en una célula tipo Activada (c, $A_{eq} = 4.81, I_{eq} = 3.85$) y en una célula tipo Inhibida (d, $A_{eq} = 2.90, I_{eq} = 2.30$) antes de la perturbación. La línea azul representa a A y la Roja a I .

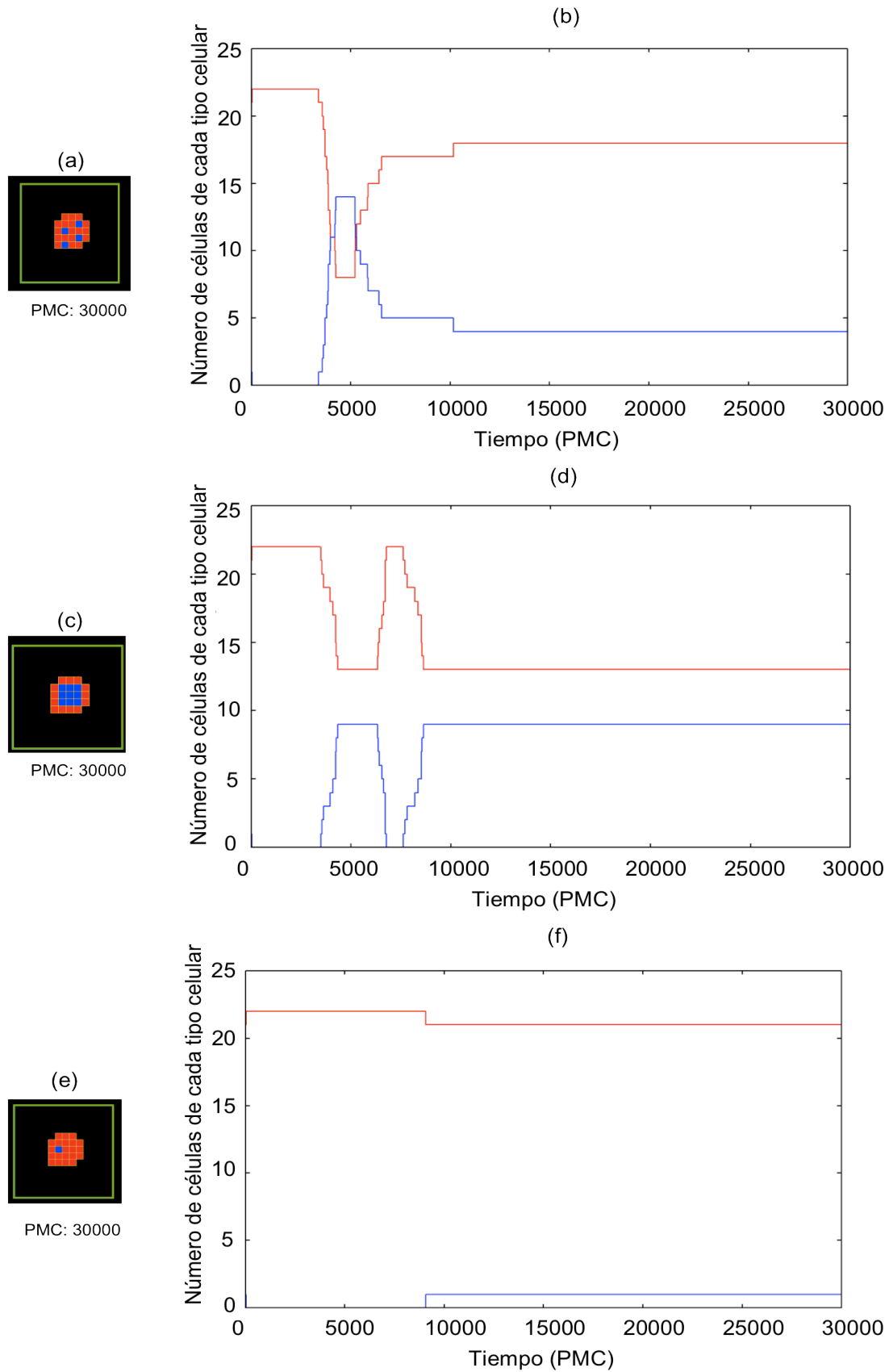


Figura 4-20. Tipos celulares en un agregado pequeño (22 células) con adhesión Alta y comunicación directa (a,b), indirecta (c,d) y mixta (e,f). a, c y e. Patrón de los tipos celulares al equilibrio. b, d y f. Número de células de cada tipo celular (rojo: Inhibidas, azul: Activadas) en el tiempo .

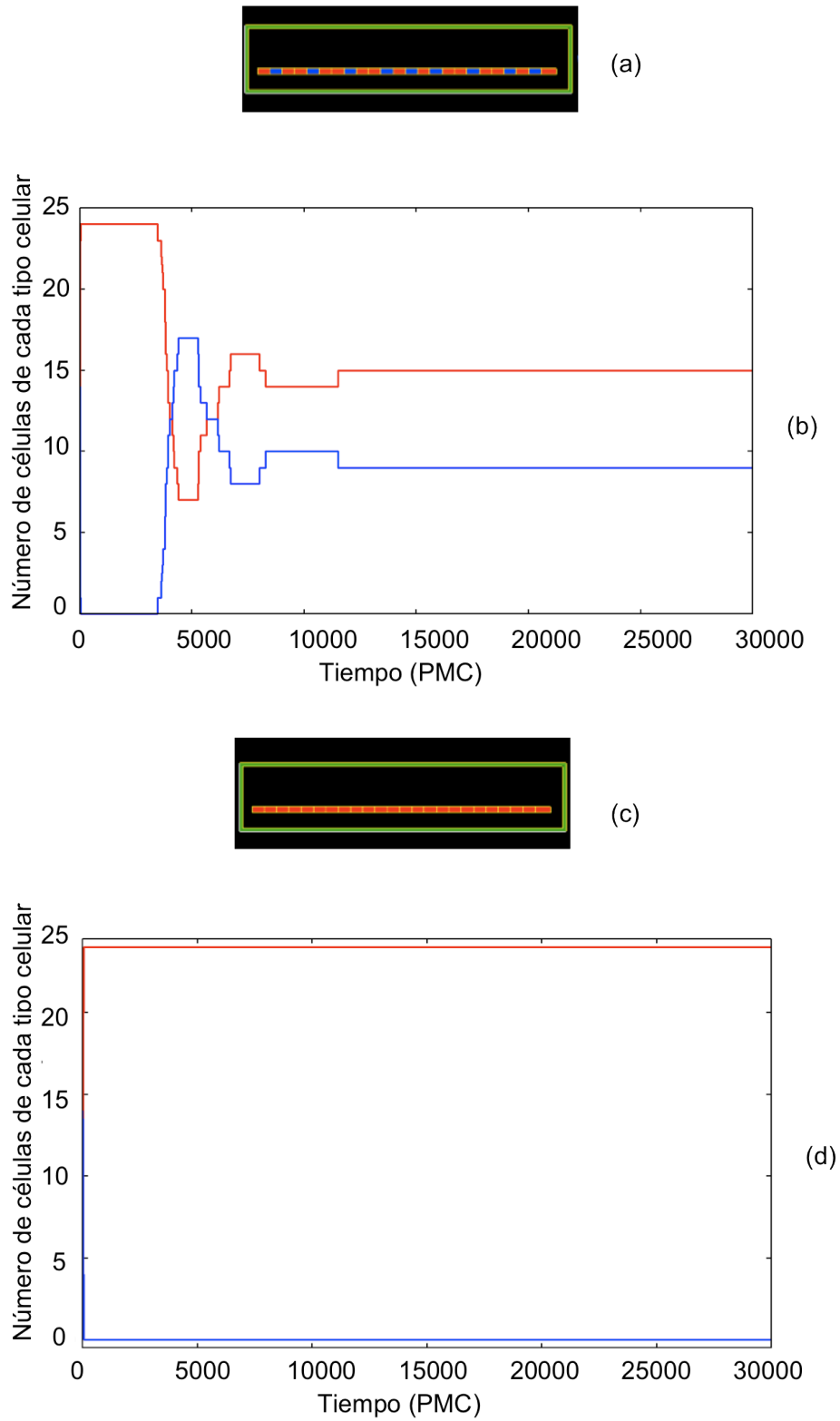


Figura 4-21. Tipos celulares en un filamento con adhesión Alta y comunicación directa (a,b), indirecta y mixta (c,d). a y c. Patrón de los tipos celulares al equilibrio. b y d. Número de células de cada tipo celular (rojo: Inhibidas, azul: Activadas) en el tiempo .

5. Discusión

Una de las preguntas más relevantes en el campo de la biología del desarrollo es el origen de la diferenciación y organización de los tipos celulares en las masas celulares (Bonner, 2000). Hoy en día el desarrollo de un organismo multicelular es altamente complejo y pone en interacción cientos de proteínas, genes e impulsos ambientales bajo la forma de una red difícil de desentrañar. Estos mecanismos son el resultado de millones de años de evolución, en donde se favoreció la regulación de procesos simples y la complejificación de muchos otros procesos (Newman *et al.*, 2006; Bonner, 2000). Una estrategia para entender la evolución del desarrollo es investigar los primeros pasos de la multicelularidad¹. Presumiblemente, en el origen de la multicelularidad no existía un nivel tan alto de regulación genética y unos mecanismos más sencillos pudieron haber explicado los primeros procesos de desarrollo espacial (Bonner, 2000). Además, otros actores como el ambiente y las fuerzas químicas y físicas parecen haber tenido un mayor papel en la generación de los patrones de diferenciación celular espacial, durante la transición (Solé y Duran-Nebreda, 2014; Newman *et al.*, 2006; Furusawa y Kaneko, 2002). Por un lado, las células se pueden acoplar metabólicamente y generar patrones espaciales emergentes (Furusawa y Kaneko, 2002), por otro, las diferencias físicas y químicas de cada célula como la adhesión, la polaridad o la secreción de sustancias pueden inducir procesos específicos de morfogénesis tales como la información posicional o la migración diferencial, llevando así a diferentes organizaciones de tipos celulares en las masas celulares (Newman *et al.*, 2006). Es decir, la interacción de células con ciertas propiedades locales genera una diferenciación espacial a nivel de grupo. Algunas de estas propiedades locales no han sido estudiadas sistemáticamente. En específico, en este trabajo se hipotetizó que la fuerza en adhesión celular (alta, media, baja) y el tipo de comunicación celular (directa, indirecta) modificaban el tipo de interacción entre las células y por lo tanto los patrones de diferenciación espacial generados. Para comprobar la hipótesis de manera teórica se realizó un modelo matemático y su implementación

¹El estudio del desarrollo actual de los organismos y la multicelularidad se influyen mutuamente. En efecto, el desarrollo de los organismos actuales también provee pistas sobre los mecanismos primeros en el origen de la multicelularidad.

computacional en una interfaz multiescala de Potts que consideraba tanto las dinámicas intracelulares e intercelulares como el movimiento y la adhesión celular.

Los resultados muestran que las diferencias en los tipos de comunicación generan patrones de acoplamiento celular muy variados que dependen de múltiples factores. A su vez la adhesión es un factor esencial en la estabilidad de estos patrones. A continuación se discuten los resultados más importantes del modelo y sus posibles implicaciones. Posteriormente se explicará el desarrollo de dos organismos multicelulares simples que ejemplifican algunos de los resultados del modelo. Finalmente, se presentarán algunas implicaciones y perspectivas más generales.

5.1. Resultados importantes del modelo

Los tres resultados importantes del modelo se pueden agrupar en (1) la generación de nuevos tipos celulares como producto únicamente del acoplamiento, (2) la influencia del tipo de comunicación celular en la generación de diferentes patrones de organización celular espacio-temporal en agregados y (3) el papel de la adhesión en la generación de estos patrones. En cada una de las secciones se discutirán algunas de las posibles implicaciones.

5.1.1. Comunicación intercelular y acoplamiento de funciones

El primer resultado interesante del modelo fue la aparición de un nuevo tipo celular –Rojo– en el escenario de poblaciones celulares con comunicación indirecta y sin adhesión celular; tipo celular que no aparecía en el escenario de células individuales. Este último fue alcanzado gracias a la presencia de otras células en el medio. En efecto, la secreción individual de inhibidor de cada una de las células al medio generó un campo de inhibición exterior. Aquellas células alcanzadas por el campo de inhibición modificaron su dinámica intracelular hacia un nuevo pseudo atractor $(0, 0)$, que llevaba al tipo celular Rojo. Cuando la densidad poblacional fue baja, sólo unas cuantas células modificaron su dinámica interna manteniendo, en múltiples repeticiones, la misma proporción entre células Rojas y Azules. Por otro lado, cuando la densidad poblacional fue alta, todas las células se encontraron sometidas a una concentración muy alta de inhibidor, por lo que todas alcanzaron el tipo celular Rojo. Por lo tanto, la determinación

funcional de cada célula va a depender en gran parte de las señales externas dadas por las otras células. En consecuencia, su posición espacial en la población va a ser determinante, al igual que la densidad poblacional.

Estos resultados arrojan nuevas hipótesis acerca del origen de señales entre organismos unicelulares en poblaciones, como por ejemplo, los autoinductores² como N- acil homoserin lactonas (AHL por sus siglas en inglés) en bacterias gram negativas o oligopeptidos en bacterias gram positivas (Shapiro, 1998). La explicación sobre el origen y la evolución de estas moléculas de comunicación ha sido ampliamente discutida en términos funcionalistas. El debate se ha centrado en explicar qué funciones tienen los autoinductores y por lo tanto determinar cómo evolucionaron. Por un lado, algunos autores plantean que la función de los autoinductores es evaluar la densidad poblacional antes de ejercer alguna acción grupal como la bioluminiscencia en *Vibrio harveyi* (Quórum Sensing)(Bassler *et al.*, 1997). Bajo esta visión, la evolución de estas moléculas se debió principalmente a beneficios grupales. Otros autores critican la fragilidad de la explicación a causa de la inevitable aparición de traidores –bacterias que no generan la señal y obtienen el beneficio grupal– que diezman la cooperación y por lo tanto el mantenimiento de la señal (Hense *et al.*, 2007). Una postura opuesta argumenta que estas moléculas tienen una actividad al exterior de la célula (como agentes quelantes de hierro (Kümmerli y Brown, 2010)) y que la autoinducción indica a la célula qué tan *efectiva*³ es la acción de la molécula (Hense *et al.*, 2007). Aquí, el beneficio evolutivo sería únicamente individual. Una línea más general argumenta que la *función* de los autoinductores es ejercer como aproximación previa para evaluar la *efectividad* de la secreción en un medio ambiente dado, antes de emprender otra acción (ya sea la secreción de efectores como agentes quelantes o ejercer acciones grupales). Por lo tanto, aquí el beneficio sería grupal e individual (Hense *et al.*, 2007) (Fig. 5-1).

Ahora bien, independientemente de la función que tengan hoy en día los autoinductores, los resultados de nuestro modelo proponen otra posible explicación sobre el *origen* de los mismos. En el modelo, la secreción de inhibidor al medio no está determinada, en un principio, por la presencia de otras células. Es decir, es un simple intercambio molecular con el medio. Una vez que la célula está en una población, el inhibidor modifica la dinámica de las células vecinas, aunque esa no haya sido la razón

²Los autoinductores, como se vio en la introducción, son señales que secretan algunos grupos de bacterias y que permiten coordinar acciones grupales. La particularidad de la señal es que afecta tanto al que la secreta como al que la recibe.

³Es decir, si la molécula está difundiendo y no está siendo degradada instantáneamente.

por la cual está en el medio. En consecuencia, las células se acoplan por el medio exterior y la señal toma sentido como *comunicación* entre células. El acoplamiento entre las células determina el número y la distribución de los tipos celulares (Fig. 5-1). El acoplamiento y la comunicación bacteriana puede generar *a posteriori* algún beneficio para la población, pero su *origen* es una consecuencia inevitable del intercambio molecular con el medio y de la preexistencia de mecanismos que con el cambio de escala generan nuevos patrones.

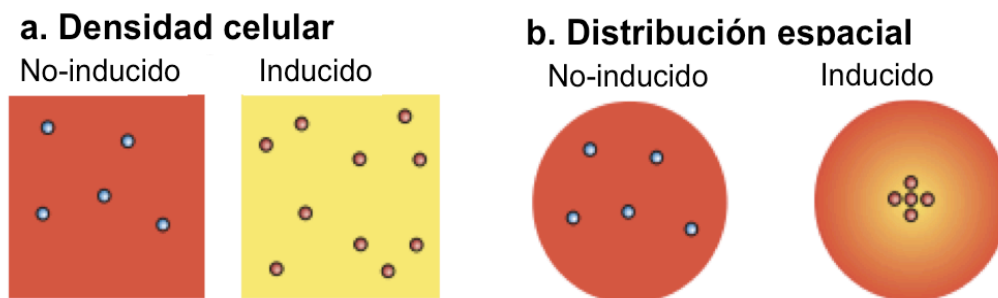


Figura 5-1. Influencia de la densidad celular (a) y la distribución espacial (b) en la inducción o activación de los tipos celulares. Las células Azules no están inducidas, las Rojas sí lo están. El color rojo del fondo indica una baja concentración de inductor en el medio. El color amarillo indica una alta concentración del mismo. Imagen modificada de (Hense *et al.*, 2007).

5.1.2. Influencia del tipo de comunicación y patrones posibles

La dinámica interna de cada una de las células –y por lo tanto el patrón general del agregado– depende de su localización en el agregado, comunicación y adhesión, entre otros factores. Por una parte su expresión depende de la expresión de las células vecinas y de su posición con respecto al *medio*⁴, pero por otra parte modifica la expresión de las mismas células vecinas y altera las concentraciones de sustancias en el medio. Se genera un tipo de información posicional activo⁵. En consecuencia, la dinámica interna de cada una de las células es consecuencia y causa de su información posicional en el agregado.

El resultado importante aquí, es que el tipo de comunicación celular acopla de manera distinta las informaciones posicionales de cada célula, generando patrones espaciales de expresión celular va-

⁴A partir de aquí se usará la palabra medio para referirse específicamente al medio exterior.

⁵En este trabajo se usa el término «información posicional» para referirse a la información posicional activa. Este uso es diferente al de Wolpert (Wolpert, 1969) que definía simplemente la información posicional como la expresión pasiva de la célula en función de su localización en un gradiente. Esta idea ya ha sido trabajada por varios autores como por ejemplo Benítez *et al.* (2008).

riados. En efecto, en un dominio bidimensional en donde había una diferencia posicional con respecto a la distancia al medio y otra con respecto a la identidad y el número de vecinos, la comunicación directa generó un patrón en ajedrez, la comunicación indirecta, un patrón en anillo y la comunicación mixta, un patrón en ajedrez al centro del agregado. Cada uno de los patrones fue estable ante perturbaciones locales y diferentes condiciones iniciales, aunque fueron exclusivos del dominio bidimensional. En contraste, en el dominio unidimensional, sólo la comunicación directa fue capaz de generar un patrón en bandas; la comunicación indirecta y mixta formaron un patrón de puras células Rojas⁶. A su vez los patrones espaciales son independientes de la regla de generación de los tipos celulares ($A_{eq} > I_{eq} : Azul$; $I_{eq} > A_{eq} : Roja$). Esto se puede comprobar si se observa el perfil de expresión absoluto del inhibidor en las diferentes células (figs. 4-7, 4-8, 4-9). En efecto, se ve que los patrones recuperados de *expresión* del inhibidor son los mismos que con la regla de determinación.

La importancia de la comunicación celular en el origen de la multicelularidad ha sido ampliamente discutida en varios trabajos (Grosberg y Strathmann, 2007; Gilbert, 2006; Bonner, 2000) por lo que aquí se compararán los efectos hipotéticos de cada tipo de comunicación en la formación de patrones espaciales.

La comunicación indirecta: creación de una polaridad

Para empezar, y siguiendo la línea anterior de la comunicación bacteriana, el efecto de la comunicación indirecta depende en gran parte de la distribución espacial de las células (Hense *et al.*, 2007). Si bien en el modelo, el inhibidor no funge como autoinductor y no tiene asas de retroalimentación positiva, su baja degradación en el medio hace que se acumule de manera sustancial al exterior de las células⁷. Cuando las células forman un agregado, el inhibidor del medio incrementa, generando un campo inhibitorio al cual están sometidas sólo las células exteriores. Esto es nuevamente equivalente a los resultados de las simulaciones de Hense y colaboradores (2007), en donde las microcolonias se inducen de manera más efectiva que las poblaciones sin adhesión y más aún que las células aisladas (Fig. 5-1).

Una observación importante del escenario de comunicación indirecta, es que cuando se forma

⁶En un dominio tridimensional, como la vida real, los patrones sólo serían alcanzados si los agregados se construyen en las tres dimensiones, dejando algunas células aisladas del medio.

⁷La acumulación de la sustancia en el medio exterior puede darse por otros mecanismos, como por la reacción específica del inhibidor con una sustancia externa.

un agregado, las células de adentro ya no tienen manera de secretar sustancias al medio. Por otro lado no se pueden comunicar entre ellas⁸. Por lo tanto, no están acopladas entre sí, ni directamente, ni con el medio. En consecuencia, la comunicación indirecta por sí misma no acopla las dinámicas celulares en los agregados, sino que sólo crea una diferencia posicional con respecto al contacto o no con el medio. Esto es diferente por ejemplo al modelo de Furusawa y Kaneko (2002) presentado en la introducción. Ellos suponen que cada una de las células, independientemente de su posición en el agregado, tiene contacto con el medio. En su modelo, el medio funciona como acoplador⁹ de todas las células; la heterogeneidad del agregado está directamente relacionada con la heterogeneidad del medio (se implican mutuamente) (Furusawa y Kaneko, 2002). En nuestro modelo, son las diferentes condiciones iniciales entre las células internas y las externas las que impulsan la diferenciación espacial.

Si bien en el desarrollo de algunos organismos la presencia de un medio exterior que conecte a todas las células es esencial, en ciertos casos, no todas las células están en contacto con éste, lo que genera diferencias importantes en la estructuración de las masas celulares. Un buen ejemplo es el desarrollo de los tumores. En este caso la matriz extracelular es determinante para mantener la cohesión entre las células, sin embargo, el aislamiento de las células internas con respecto a la matriz y la ausencia de oxígeno impulsa los procesos de angiogénesis (Hirschhaeuser *et al.*, 2010). Otro ejemplo interesante es el desarrollo de la *Hydra*. Aquí, la diferenciación de cada una de las células depende en gran parte de la cantidad de oxígeno a la cuál esté expuesta (Bonner, 2000). Por lo tanto, es importante considerar en un modelo de desarrollo ciertas diferencias en las condiciones iniciales de posición de cada célula con respecto al medio¹⁰.

Por otro lado, otro fenómeno importante en la diferenciación espacial es la generación de gradientes (Bonner, 2000). Pueden ser exteriores (como el caso del oxígeno) pero también pueden ser contruidos por los organismos, como en el caso de la secreción de inhibidor al medio. Los gradientes pueden también ser interiores, pero en ese caso es necesario una comunicación entre las células; lo que se verá en la siguiente sección.

⁸Este es un supuesto poco realista ya que *in vivo* todas las células tienen algún tipo de comunicación entre sí; pero no hay que olvidar que el escenario de comunicación indirecta sirve para ver los efectos aislados de ésta.

⁹Es decir, al conectar todas las células, el medio sincroniza las actividades celulares.

¹⁰A su vez, estas diferencias van a ser consecuencia de otros procesos como la división tridimensional (parénquima) o la agregación, que aíslan ciertas células.

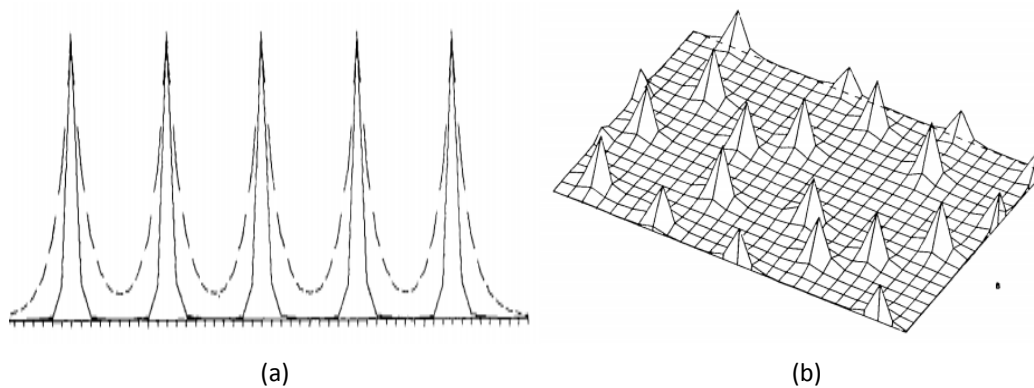


Figura 5-2. Perfiles de expresión de dos sustancias regidas por el mecanismo de inhibición lateral en un dominio unidimensional (a) y bidimensional (b). Se denotan claramente los picos de activación y los valles de inhibición. Imágenes de dominio público.

Comunicación directa: acoplamiento celular

La comunicación directa tiene un efecto acoplador entre las células. La dinámica de cada célula depende de las células vecinas. De esta manera se genera un continuo en todo el agregado, acoplado y estable, con un patrón de ajedrez. El patrón obtenido es sólo un elemento del espacio de patrones posibles (Salazar-Ciudad *et al.*, 2000), algo que se revisará más adelante. Específicamente es el tipo de patrón obtenido por el mecanismo de inhibición lateral¹¹, un caso particular de las ecuaciones de reacción-difusión; patrón en bandas para el dominio unidimensional y en puntos para el dominio bidimensional (Turing, 1952; Meinhardt y Gierer, 2000) (Fig. 5-2).

Además del patrón obtenido, un resultado interesante es el acoplamiento entre las células como consecuencia necesaria de la dinámica de cada célula y de la comunicación. Algunos autores como Ispolatov y colaboradores (2012) han trabajado con un concepto parecido: el acoplamiento entre dos células y la división del trabajo como una consecuencia necesaria de la comunicación celular directa. No obstante el enfoque es muy diferente. En su modelo, se supone de entrada que no hay interacción entre los únicos dos metabolitos –necesarios para la célula– y que estos son adaptativamente incompatibles (la adecuación es mayor fabricando sólo uno que un promedio de ambos). Al agregarse dos células, se acoplan: cada una se especializa en la producción de un metabolito y se llega a un nuevo máximo adaptativo. Por lo tanto, la diferenciación de funciones es únicamente una consecuencia adaptativa necesaria

¹¹No hay que olvidar que las ecuaciones de la dinámica interna junto a la comunicación directa es un tipo de inhibición lateral discreto.

(Ispolatov *et al.*, 2012). En cambio, en el modelo de este trabajo, sí hay interacción entre los metabolitos y sin suponer ningún tipo de incompatibilidad o paisaje adaptativo, la comunicación directa lleva a una diferenciación entre las células. Lo cual permite tener una explicación más clara sobre los mecanismos que llevan a la división del trabajo o diferenciación. Ahora bien, ya que no se presenta un paisaje adaptativo, tampoco se sugiere ninguna ventaja de este acoplamiento. Nuestro modelo no contempla ningún escenario evolutivo, algo que se podría agregar posteriormente.

Comunicación mixta: el paquete completo

Cuando se combinan los efectos de la comunicación directa –el acoplamiento celular– y de la comunicación indirecta –creación de la polaridad con respecto al medio– el patrón obtenido es mucho más interesante. Se forma una organización en ajedrez, pero solamente en la parte interna del agregado, consecuencia del gradiente inhibitorio generado desde la parte exterior¹². Como se verá posteriormente, el patrón es similar al ordenamiento de esporas en los cuerpos fructíferos o a la posición de las células germinales de *Myxococcus xanthus* (Fig. 5-11). Se muestra en este escenario cómo la combinación de diferentes herramientas lleva a la organización de patrones más complejos. Cada uno de los tipos de comunicación puede ser visto como un módulo formador de patrones y su combinación aumenta el espacio de configuraciones posibles, siguiendo la hipótesis de Newman y colaboradores sobre los MFP (Newman *et al.*, 2006). La comunicación entre células y con el medio permite que se generen un estado estable heterogéneo al interior de los agregados.

El modelo sirve como prueba de principio, pero deja entrever cómo dos procesos muy importantes como lo son la coordinación celular y la polaridad – y por lo tanto los gradientes internos– en el desarrollo, pueden ser consecuencia del tipo de comunicación y sobre todo de su combinación.

Espacio de patrones posibles

En el trabajo realizado, la red de dos nodos es extremadamente simple, lo que podría llegar a limitar el número de patrones posibles generados por los tipos de comunicación. En un trabajo más extenso, Salazar- Ciudad y colaboradores (2000) exploraron el espacio de patrones de expresión gene-

¹²El gradiente es resultado, por lo tanto, de la polaridad externa creada por la comunicación indirecta y la transmisión de esta polaridad hacia el centro del agregado.

rados por redes de 20 nodos, acopladas en dominios uni y bidimensionales. A su vez, compararon el efecto de dos tipos de comunicación (de contacto directo *Direct Contact Induction Model; DCIM* y por difusión *Diffusion Model; DM*) en la formación de estos patrones (Salazar-Ciudad *et al.*, 2000). Entre otras diferencias con el modelo presentado, ellos no consideraron un medio exterior, por lo que los patrones obtenidos fueron únicamente consecuencia de las redes más grandes. La cantidad de patrones que recuperaron fue más variada. En el modelo de contacto directo recuperaron patrones homogéneos, en bandas, en ajedrez¹³ y en *plateau*¹⁴; en el escenario de difusión obtuvieron patrones homogéneos, en bandas y caóticos.

Existen dos puntos interesantes en la comparación de este modelo con el de Salazar-Ciudad. En primer lugar, las redes utilizadas por Salazar-Ciudad y otros (2000) y las de este modelo siguen siendo módulos mínimos en relación al tamaño real de las redes biológicas. Aún así, en ambos casos generaron diversos patrones. Si se discute en el contexto del origen de la multicelularidad se espera que los módulos reales de los primeros organismos multicelulares se parezcan a estos módulos mínimos ya que sólo implican una cuantas regulaciones sencillas a nivel genético (Salazar-Ciudad *et al.*, 2000). De esa manera, en el origen de la multicelularidad, la combinación de procesos sencillos y poco regulados a nivel genético pudieron haber dado pie a una gran gama de formas (Newman *et al.*, 2006). En segundo lugar, utilizando una red muy sencilla, en el trabajo se mostró cómo la inclusión del medio exterior tiene una influencia angular en la generación de patrones; por lo tanto, el número de patrones obtenidos por Salazar-Ciudad *et al.* (2000) podría cambiar al considerar un medio exterior.

Una última observación interesante es sobre el *tamaño* del espacio de patrones posibles. Aún si redes simples dan origen a varios patrones, la combinación de muchas redes simples no aumenta considerablemente el espacio de patrones posibles, sino simplemente incrementa la fiabilidad con la cual se llega a los patrones (Salazar-Ciudad *et al.*, 2000). En el origen de la multicelularidad, redes simples pudieron haber generado patrones bastante complicados. Posteriormente, se piensa que algunas redes se *regularon* (por medio de asas de regulación positiva y negativa), lo que pudo aumentar la robustez del patrón –fiabilidad– sin generar por ello nuevos ordenamientos espaciales (Bonner, 2000; Newman

¹³Es notable que en el caso del patrón en ajedrez, la red que emplean es también una red de inhibición lateral con contacto directo (Salazar-Ciudad *et al.*, 2000).

¹⁴El patrón en plateau es cuando la expresión de algún componente de la red es exclusivo de la parte central del agregado, como una meseta.

et al., 2006)¹⁵.

La generación de patrones de diferenciación celular, por la información posicional y el acoplamiento de redes, es sólo un factor en los procesos de morfogénesis. Otro factor esencial, analizado en el modelo es la adhesión celular que puede ser dependiente o independiente de los tipos celulares.

5.1.3. Adhesión celular, movilidad y morfogénesis

El papel de la adhesión en la estabilidad

La disminución en la adhesión tiene dos efectos cualitativamente distintos en un agregado multicelular. Por un lado, aumenta el movimiento celular dentro del agregado y, por otro, al despegarse las células, cambia la forma del agregado. El *movimiento celular* hace que las diferencias posicionales de cada célula con respecto al medio y con respecto a las otras células estén en constante cambio. La dinámica de cada célula es afectada y tarda más en llegar a algún punto estable (o ni siquiera llega). Además, el tiempo de contacto que pasa cada célula con el medio se vuelve el mismo, por lo que el efecto de la polaridad –en la comunicación indirecta– se pierde, deshaciendo el patrón en anillo. En cambio, en el escenario de comunicación directa, el acoplamiento celular ocasiona que cualquier modificación en la dinámica de una célula afecte directamente a las vecinas generando islas acopladas en el agregado, por lo que el movimiento no afecta *de facto* el patrón. No obstante el movimiento celular aumenta el número de vecinos promedio de cada célula, modificando así la relación entre células Rojas y Azules¹⁶. En la comunicación mixta, el movimiento elimina el gradiente, por lo que el patrón resultante es el mismo que en la comunicación directa. Cuando la adhesión es muy baja y el agregado cambia completamente de *forma*, ya no se generan gradientes y la información de cada célula es completamente inestable. No se forma ningún patrón en específico.

Por lo tanto, el modelo sugiere que para que los patrones de organización espacial –*ocasionados por la comunicación o gradientes externos* –sean estables durante el desarrollo, la adhesión tiene que ser alta. Esto está en concordancia con lo discutido por Hirschhaeuser y colaboradores (2010) con res-

¹⁵En términos de Salazar-Ciudad *et al.* (2000), lo que cambia es la topología de las redes. Las primeras redes poco específicas pero innovadoras –una red da origen a muchos patrones – conocidas como emergentes son reemplazadas por redes específicas y capaces de combinación –la combinación de redes diferentes amplía la gama de patrones posibles– denominadas jerárquicas.

¹⁶La importancia del número de vecinos es ilustrada en el desarrollo de *M. xanthus*.

pecto a los «pseudo agregados celulares esféricos». Los autores, interesados en el cultivo de esferas multicelulares explican cómo la adhesión celular –por matriz extracelular– permite una forma esférica, esencial para la generación de gradientes y patrones de diferenciación en las células cancerosas. Si la adhesión es baja, como en sus pseudo agregados, no se pueden generar estos patrones (Hirschhaeuser *et al.*, 2010). Otro ejemplo de baja movilidad es el desarrollo de las plantas o de algunas algas, en donde la pared celular impide el movimiento celular (Kirk, 2005). También es el caso en la agregación de algunas bacterias como las mxyobacterias. En estos organismos, las células más internas al agregado tienen un movimiento muy reducido (Julien *et al.*, 2000).

La adhesión como proceso morfo-genético – conexión con el tipo celular

No obstante, la adhesión celular parece tener otros papeles en los procesos morfo-genéticos, aparte de estabilizar patrones; por ejemplo, con respecto a la migración diferencial y la segregación celular (Newman *et al.*, 2006; Hogeweg, 2000). En efecto, lo que pasa en estos modelos y en algunos procesos de desarrollo es que algunas células tienen una adhesión *dependiente del tipo celular*. Esto permite la generación de un sorteo celular y una distribución celular específica (Fig. 5-3). Por lo tanto, para que la adhesión celular baja (y por lo tanto el movimiento celular alto) sea determinante en los procesos de desarrollo, ésta no puede ser la misma en todas las células.

Finalmente, en algunos procesos de desarrollo la adhesión es cambiante. En una primera fase, en donde la movilidad celular es baja, las células pueden tener una diferenciación funcional dependiente de su localización. Después, la adhesión disminuye, llevando diferentes reordenamientos espaciales. Es el caso del desarrollo de *Dictyostelium sp.* en donde se forma un patrón de preesporas y células pretallo antes de la migración bajo forma de «babosa» (Williams *et al.*, 1989); o el caso de *Volvox* en donde las células externas se vuelven germinales y posteriormente por el movimiento de inversión pasan a estar al centro del agregado (Kirk, 2005). La clave para que este proceso multifásico funcione es que las células ya no cambien su tipo celular con el movimiento. Para ello es necesario que se encuentren en un atractor robusto. Esto se ilustró parcialmente por las simulaciones en donde el movimiento celular es posterior a la determinación del patrón (Fig. 4-15). En dichos casos, las células adquieren un tipo celular (Rojo o Azul) fijo pero cambian de manera aleatoria su posición en el agregado¹⁷.

¹⁷Existen otros mecanismos (*i.e.* regulación positiva o negativa) que pueden hacer al atractor más robusto, lo que mantiene

Para concluir, la adhesión celular parece tener dos papeles. Cuando es alta permite la estabilización de los agregados, dando pie a la diferenciación espacial dependiente de la comunicación y los gradientes del medio. Cuando es baja y está asociada a los tipos celulares genera nuevos procesos morfogénéticos como la formación de un cuerpo fructífero en mohos mucilaginosos y bacterias, o de una gástrula en animales.

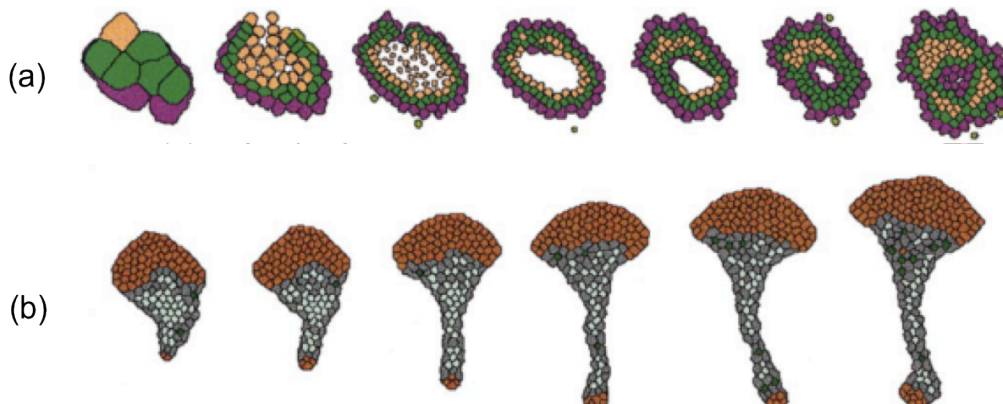


Figura 5-3. Ejemplos de los programas de desarrollo obtenidos en los experimentos *in silico* de Hogeweg (2000). En cada uno se interrelacionan diferentes módulos de adhesión, comunicación, muerte celular y división celular y dinámicas internas. Se obtiene los siguientes procesos morfogénéticos (a) movimiento celular e involución (b) gemación y elongación.

5.2. Comparación de los patrones con procesos del desarrollo

En el modelo realizado, la influencia de los tipos de comunicación se puede englobar dentro de los conceptos más amplios de polaridad –en el caso de la comunicación indirecta– y de acoplamiento intercelular– en el caso de la comunicación directa. Cada uno de estos es influido por la posición de las células con respecto al medio al igual que por el número de vecinos. Por otro lado, la adhesión celular es un factor determinante en la estabilización de estos patrones, en pos de la realización de otros procesos morfogénéticos.

En el desarrollo de los organismos multicelulares actuales, estos procesos –polaridad, acoplamiento y adhesión– siguen jugando un papel fundamental. El objetivo de la siguiente sección es por lo la identidad de la célula (Gombar *et al.*, 2014).

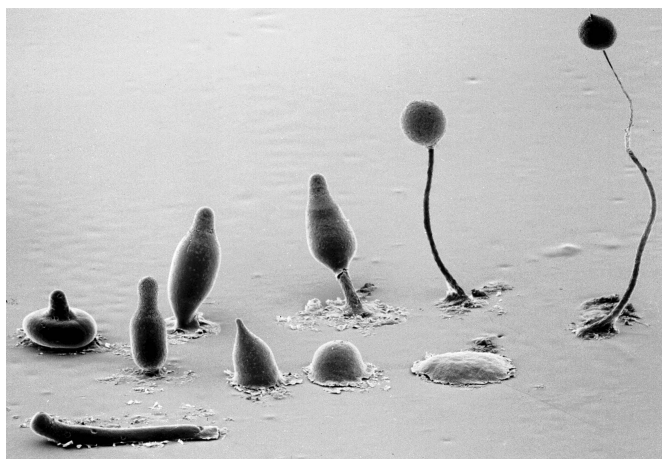


Figura 5-4. El desarrollo de *Dictyostelium discoideum*. Imagen de dominio público.

tanto ilustrar, por medio de organismos multicelulares simples¹⁸, la interacción de estos procesos durante el desarrollo, al igual que el tipo de patrones que generan. Como se verá, los mecanismos generadores de información posicional pueden ir desde la disponibilidad de nutrientes (Williams *et al.*, 1989), la localización de un centro organizador con gradientes quimiotácticos (Gerisch, 1968), la posición con respecto a una fuente de luz (Kaiser, 2001) o el número de vecinas según el grado de compactación celular en una población (Julien *et al.*, 2000). Dos organismos servirán como base de esta sección: los dictiostélidos y las myxobacterias.

5.2.1. El desarrollo de los Dictiostélidos

Los dictiostélidos son mohos mucilaginosos con una fase multicelular generada por la agregación de amebas (Bonner, 2000). El ciclo de vida de los dictiostélidos es bastante general entre sus especies (Gerisch, 1968). La fase unicelular está compuesta por un conjunto de amebas individuales que explotan el sustrato. Cuando hay insuficiencia de nutrientes, algunas de las células cambian su tipo a «células fundadoras». Estas últimas se inmovilizan, toman una forma esférica y secretan un quimioattractante cAMP que induce la agregación (Schaap *et al.*, 1981). En algunos casos se forman varios agregados celulares, conocidos como centros secundarios, alrededor de un centro principal (Gerisch, 1968). Posteriormente,

¹⁸Tal vez sea importante resaltar que los organismos multicelulares simples actuales no son los mismos que los primeros organismos multicelulares. En efecto, los organismos actuales han pasado millones de años de evolución, que si bien no se notan en la morfología, se notarán en los sistemas de regulación genética. Como bien explica Bonner y lo que se explicará en la siguiente sección, la evolución pudo haber seleccionado por un lado la regulación de formas preexistentes más que la innovación de nuevas formas (Bonner, 2000).

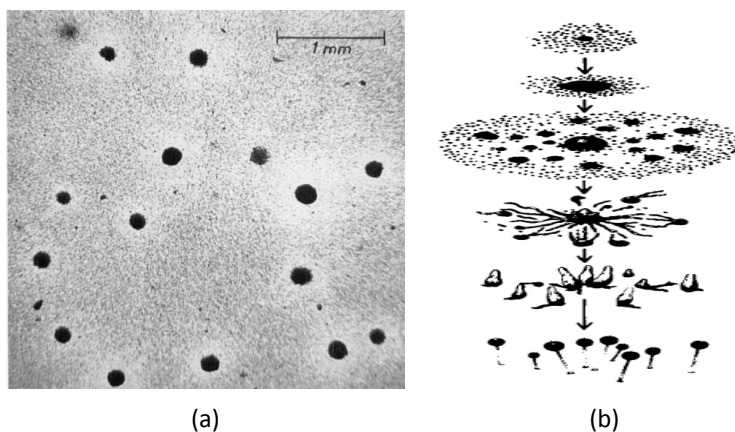


Figura 5-5. Desarrollo de *Dictyostelium minutum*. (a) Centros organizadores de cuerpos fructíferos. (b) Fases de desarrollo del pseudohongo. Imagen modificada de (Gerisch, 1968).

los agregados celulares toman una forma de babosa y migran hacia algún nuevo sustrato. Al instalarse en un medio con nutrientes, se forman cuerpos fructíferos estructurados con la diferenciación de algunas células en esporas y otras en tallos (Bonner, 2000) (Fig. 5-4). Sin meterse en los detalles del proceso, se pueden analizar dos momentos clave: la generación de las células fundadoras y la organización del primer agregado multicelular.

La generación de los centros: comunicación indirecta y reacción

Cuando el umbral de nutrientes es muy bajo, algunas células se diferencian en células fundadoras que dan origen a centros primarios y secundarios. Resulta interesante que, por más que no se forme un patrón específico de distribución de los centros, cada uno de ellos se encuentra a una cierta distancia mínima (Fig. 5-5.a). La explicación de este fenómeno reposa en un esquema de inhibición lateral. Cuando un centro se forma, libera cAMP que, entre otras cosas, evita que las células se diferencien en células fundadoras e impulsa su movimiento y agregación (Gerisch, 1968). Además, el cAMP es consumido y reproducido por cada célula, por lo que se genera un radio máximo de «inhibición de centros» alrededor de una célula fundadora. Al salirse del radio, las células se pueden diferenciar nuevamente en fundadoras y repetir el patrón (Gerisch, 1968). El conjunto de células fundadoras y agregadas se puede ver como un sistema acoplado por la comunicación indirecta de cAMP. El resultado es similar al obtenido en nuestro modelo con la comunicación directa; sólo que con un rango mayor de inhibición.

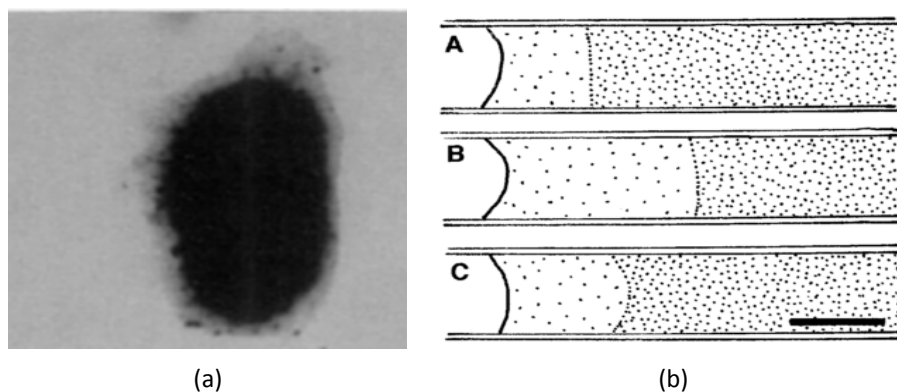


Figura 5-6. Patrón de distribución de presporas en *D. discoideum*. a. Imagen superior de un agregado de *D. discoideum*. La coloración indica la presencia de presporas (Williams *et al.*, 1989). b. Distribución de presporas (puntos distanciados) y pretallos (puntos juntos) en un capilar. Las letras A, B y C indican la entrada de oxígeno. Modificado de (Bonner, 2000).

Polaridad dentro de los agregados y determinación celular

Dentro de la primera masa celular se genera una determinación de los tipos celulares en células precursoras de esporas (preesporas) y células precursoras de tallo (pretallo); antes siquiera de la migración en forma de babosa (Bonner, 2000; Williams *et al.*, 1989). En efecto, las preesporas están confinadas en la parte central y basal del agregado y las células pre-tallo se encuentran en la periferia (Fig. 5-6). La diferenciación no es absoluta; algunas presporas se pueden volver células de tallo y viceversa¹⁹. En un ingenioso experimento con amebas capturadas en capilares, Bonner y colaboradores (1995) mostraron que el O_2 inducía la diferenciación en pretallos y la ausencia del mismo impulsaba la diferenciación en preesporas (Fig. 5-7) (Bonner *et al.*, 1995). En el agregado tridimensional, las células centrales son las únicas aisladas del oxígeno, por lo que se diferencian en preesporas.

Por lo tanto, el patrón de distribución es determinado por la polaridad con respecto al medio pero además por algún mecanismo de comunicación entre las células. Esto último se puede afirmar ya que si no hubiera comunicación entre las células *sólo* las células en contacto con el oxígeno se diferenciarían en pretallo, cosa que no pasa en el experimento del capilar (Fig. 5-7). Algunas de las moléculas responsables del acoplamiento entre las células son el cAMP y el amonio, que actúan de manera antagónica (Bonner, 2000).

Para comprobar esta hipótesis, algunos autores han modelado el patrón de distribución de cé-

¹⁹Existen otros tipos celulares que se no siguen un patrón de distribución específico sino hasta la formación del cuerpo fructífero en donde se rediferencian en esporas o tallo (Marée y Hogeweg, 2001)

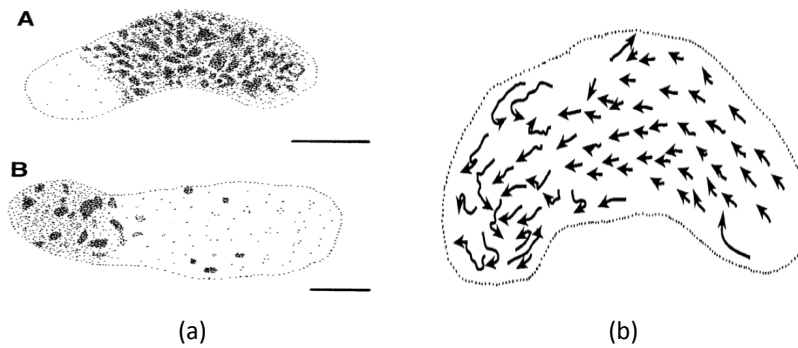


Figura 5-7. Distribución de tipos celulares en *D. discoideum* asociados al movimiento. a. Distribución de células preesporas (A) y pretallo (B) en la babosa. Movimiento de células individuales en la babosa. Se denota cómo las células anteriores (pretallo) tienen una mayor movilidad que las anteriores (preesporas).

lulas pretallo/preesporas en función de (a) gradientes pasivos²⁰, (b) mecanismos de contacto intercelular o (c) reacción y difusión de moléculas inhibitorias de largo alcance (Mac Williams y Bonner, 1979). El modelo más acertado es el último, propuesto por Gierer y Meinhardt en 1974 (mejorado por Meinhardt en 1983). En su modelo, la relación entre células preesporas y células pretallo es independiente del tamaño y se puede restaurar ante perturbaciones del medio (Meinhardt, 1983). En consecuencia, los fenómenos que explican el patrón de organización de la masa celular en Dictiostélidos son similares a los fenómenos de la comunicación mixta: polaridad exterior y acoplamiento entre células.

Morfogénesis asociada a los tipos celulares

La determinación de los tipos celulares es un elemento clave en el ciclo de vida de *Dictyostelium*. Si, además, cada tipo celular tiene diferentes propiedades de adhesión y movilidad, ello culmina en procesos complejos de morfogénesis. Por decir unos ejemplos, las células pretallo tienen una movilidad mucho mayor que las preesporas, por lo que al momento de la migración las células pretallo se localizan siempre en la parte posterior de la babosa y conducen el movimiento (Fig. 5-7). Finalmente, los tipos celulares pueden tener asociados características de adhesión diferencial, rigidez o secreción de moléculas como peptidoglicanos (componente del tallo), llevando a estructuras complejas como el cuerpo fructífero. Estos procesos han sido explorados por Maree y Hogeweg en un modelo multiescala de autoorganización del cuerpo fructífero (Marée y Hogeweg, 2001)(Fig. 5-8).

²⁰El tipo celular depende de la concentración de un gradiente químico externo, que no es modificado por las reacciones de las células

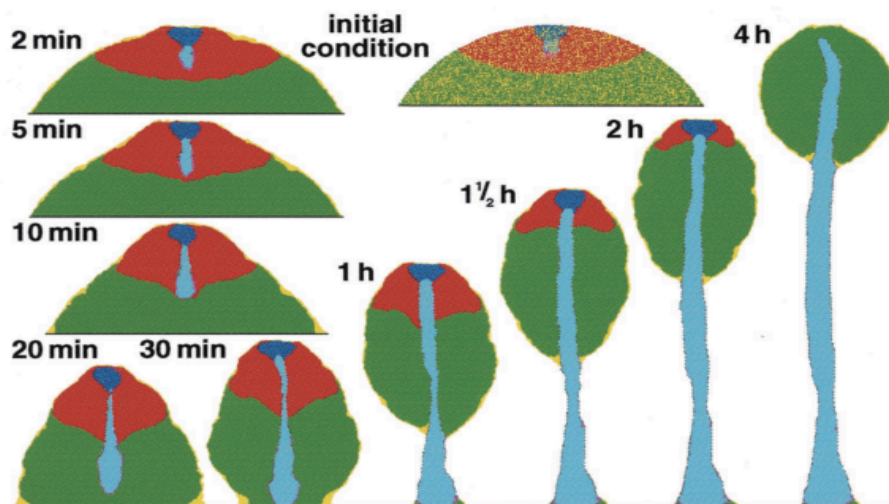


Figura 5-8. Simulación del desarrollo del cuerpo fructífero de *D. discoideum*. Imagen modificada de (Marée y Hogeweg, 2001) Aquí cada color representa un tipo celular distintos con diferentes propiedades de adhesión y de secreción de sustancias como peptidoglicanos.

5.2.2. Diferenciación de esporas en Myxobacterias

El segundo elemento importante que surge del modelo es el tipo de acoplamiento celular en función del número de vecinos²¹. Este fenómeno parece tener un papel fundamental en la diferenciación y organización de tipos celulares en algunos organismos. Un caso paradigmático es la fase de diferenciación de *Myxococcus xanthus*. Esta bacteria gram negativa tiene un ciclo de vida con una fase multicelular para la dispersión. Cuando los nutrientes del medio escasean, los bacilos se agregan formando un cuerpo fructífero compuesto por un conjunto de esporas en la parte apical (Fig. 5-9) (Kaiser, 2001). Como en el caso anterior, se van a analizar dos fases importantes: (a) la fase de agregación y zonificación de células preesporas y (b) la organización de las esporas dentro en la zona central.

Agregación y zonificación: señal C de contacto

En el proceso de agregación de *M. xanthus*, se realiza una diferenciación de tipos celulares espacial muy específica; en la parte interna del agregado se forman pequeños conjuntos de esporas separados por peptidoglicanos de células lisadas y en la parte externa de agregado, las células periféricas se quedan como somáticas y mueren (Harvey *et al.*, 2012). El patrón fue puesto en evidencia por Julien

²¹En nuestro escenario de comunicación directa, cuando el número de vecinos y por lo tanto la zona de inhibición aumentaban, disminuía el número de células Activadas.

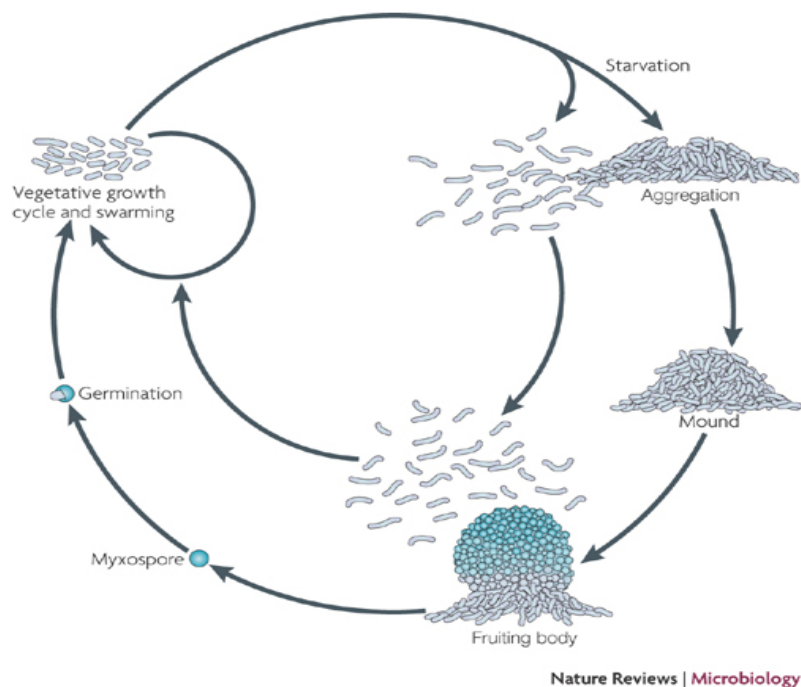


Figura 5-9. Ciclo de vida de la bacteria *M. xanthus* que denota sus fases multicelulares para cazar y formar el cuerpo fructífero y la fase unicelular de dispersión. Imagen de dominio público.

y colaboradores (2000) marcando con GFP a un operón *dev* exclusivo de la ruta de diferenciación de las células en esporas; la expresión de *dev* estaba confinada en la parte central (Fig.5-10) (Julien *et al.*, 2000).

La zonificación ha sido explicada por la señal C. La señal C es una señal de contacto –comunicación directa– que induce la agregación y la esporulación a diferentes umbrales. Además, tiene un asa de retroalimentación positiva a través de la proteína CsgA de membrana, localizada en los extremos del bacilo.

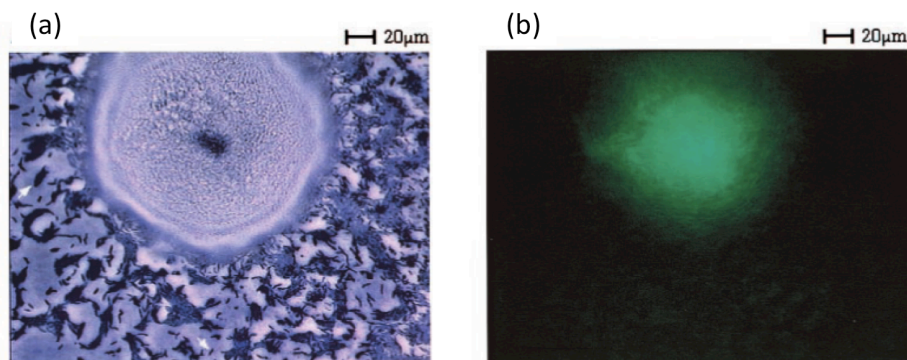


Figura 5-10. Localización espacial de la expresión de *dev::gfp*. (a) Micrografía de cuerpo fructífero rodeado por células periféricas. b. Expresión de *gfp*, correspondiente a la localización de las células destinadas a ser esporas.

Por lo tanto, el contacto entre extremos induce la producción de señal C (Julien *et al.*, 2000). Cuando los nutrientes son escasos, algunas células producen la señal que, a baja concentración, induce la agregación. Las células se agregan e inician asas de retroalimentación positiva de C. Sin embargo, sólo las células más internas del agregado, debido a su alta compactación, se alinean, generando más zonas de contacto terminal entre bacilos (Harvey *et al.*, 2012). En esta zona, la retroalimentación de C será muy alta, alcanzando el umbral que induce la esporulación. En las zonas periféricas, no existe una compactación tan alta, por lo que las células no se diferencian en esporas (Julien *et al.*, 2000).

Por lo tanto, en *M. xanthus* la zonificación –o lo que podría ser llamado como la polaridad en la organización de los tipos celulares– es en parte dependiente del número de vecinos, propiedad emergente del proceso de agregación.

Organización de esporas en la zona central: alineamiento y señal C de contacto

En la zona interna del agregado, no todas las células se convierten en esporas. Esto deja entrever de entrada (sin conocer los procesos de señalización de C) que la diferenciación no es sólo consecuencia de un gradiente posicional sino también de la interacción entre las células. La distribución organizada de esporas dentro de la zona central es resultado del alineamiento entre los bacilos. El alineamiento no es perfecto, por lo que no todas las células tienen la misma cantidad de zonas de colisión (y por lo tanto de retroalimentación positiva de C) (Holmes *et al.*, 2010). A su vez, al diferenciarse algunas células en esporas, su movilidad disminuye. Parece posible que el cambio de movilidad disminuya la zona de contacto y el tipo de señalización entre esporas y bacilos, llevando así a pozos de señal C. Dicho de otra manera, puede ser que la formación de una espora impida la formación de esporas aledañas. Para complementar, dos modelos matemáticos con supuestos distintos (Harvey *et al.*, 2012; Holmes *et al.*, 2010) muestran cómo la producción de paquetes de esporas confinadas al centro del agregado puede ser una propiedad consecuente de la intensidad, el sentido y la dirección del movimiento de las células y su forma que repercuten sobre el número de colisiones y la producción de la señal C (Fig. 5-11). En resumen, el confinamiento de las esporas en la parte central y su organización espaciada al centro del agregado son consecuencia de la comunicación directa y de la agregación. Julien y colaboradores (2000) agregan que la unión entre la diferenciación y el grado de compactación permite que la formación de

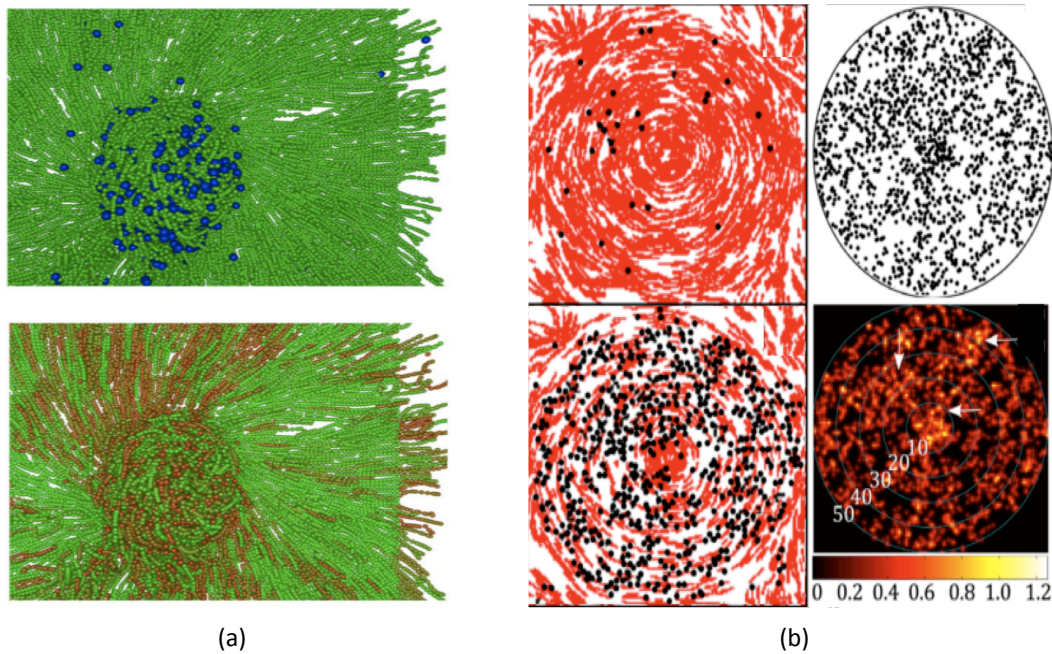


Figura 5-11. Modelos de distribución de esporas en el cuerpo fructífero de *M. xanthus*. a. Modelo en donde los puntos Azules corresponden a esporas y los puntos rojos corresponden a la presencia de la señal C (Holmes *et al.*, 2010). b. Modelo de alineamiento de los bacilos denotando la disposición de esporas (puntos negros) en las zonas de colisión, comparados con una imagen real de distribución de esporas en el agregado (Harvey *et al.*, 2012).

esporas siempre se genere en la parte apical del agregado, aumentando la capacidad de dispersión.

5.3. Supuestos de cooperación, la muerte y la división celular y el escenario evolutivo propuesto por el modelo

En esta penúltima sección se hace una revisión de ciertas implicaciones, perspectivas y limitantes del modelo. En una primera parte se explica cómo la diferenciación espacial como consecuencia de la interacción química y física entre las células aligera ciertos supuestos de cooperación en el origen de la multicelularidad. Después, se hace una pequeña revisión del efecto de uno de los cuantos procesos que no se incluyeron como la división celular y la muerte celular. Finalmente, se discute la importancia evolutiva de los resultados del modelo a la luz de dos procesos: la variación fenotípica y la asimilación genética.

5.3.1. Supuestos de cooperación y traición para la diferenciación celular

Una visión recurrente en el origen de la multicelularidad es caracterizarla como un cambio de escala, en donde los componentes de la escala inferior tienen que cooperar para poder adquirir, en la escala superior, una nueva individualidad (Michod y Roze, 2001; Niklas y Newman, 2013). El proceso se daría en dos etapas. En la primera, la semejanza genética –a través, por ejemplo de los cuellos de botella unicelulares (Grosberg y Strathmann, 2007)– evitaría los conflictos de interés entre las células; es el alineamiento de la adecuación. En una segunda etapa, la cooperación sería fundamental ya que permitiría que algunas células se especialicen en funciones individualmente no ventajosas (como en células somáticas) y otras se lleven todo el «crédito» (especializándose en células germinales) (Buss, 1987; Michod y Roze, 2001; Niklas y Newman, 2013). Al llegar a este nivel, la selección de grupo estabilizaría el procedimiento ya que opacaría las deficiencias adaptativas individuales (Michod y Roze, 2001).

La propuesta resultante de este trabajo, conjunto a los avances de (Newman *et al.*, 2006; Furusawa y Kaneko, 2002) es que no es necesario asumir hipótesis de altruismo entre células, ni tampoco mecanismos de control de tramposos (Travisano y Velicer, 2004) para explicar, el origen de la división de funciones –o de tipos celulares– *en los primeros agregados multicelulares*²². En efecto, parece factible que el comportamiento de cada célula –ya sea somática, germinal, fotosintética, célula de tallo o lo que fuera– sea dependiente de las otras células y de su posición con respecto al medio. Es decir, que fuera resultado de su tipo de acoplamiento intercelular, influido por el tipo de comunicación y el nivel de adhesión; sin suponer ningún escenario de cooperación entre las células²³ Por otro lado, las explicaciones de cooperación y traición en la teoría de juegos asume una independencia entre los actores, al igual que una población bien mezclada, cosa que no pasa en un organismo multicelular fijo y acoplado.

El desarrollo de *Myxococcus xanthus* ofrece un ejemplo bueno, ya que se han descrito diferentes tipos de cooperación para explicar su estabilidad (Velicer *et al.*, 2000; Travisano y Velicer, 2004). Como se revisó anteriormente, en el origen de la multicelularidad, el desarrollo de *Myxococcus xanthus* y sus primeros patrones de expresión celular (las células del centro del agregado se logren diferenciar

²²Se hace énfasis especial en esta parte, ya que todas las perspectivas planteadas en este trabajo *no* son extrapolables a otras escalas biológicas y muchos menos sociales. Sólo se pensaron para el *origen de la multicelularidad*.

²³Es importante recordar que los elementos necesarios para la interacción y acoplamiento intercelular (adhesión, comunicación, red de expresión diferencial) se encontraban ya en organismos unicelulares.

en esporas y las células periféricas mueran) pudo estar dictado por la comunicación directa entre células y el grado de compactación celular, sin suponer un tipo de altruismo de las células periféricas hacia las células germinales (Holmes *et al.*, 2010). Ahora bien, es posible argumentar algunas cosas con respecto a la postura de cooperación en el desarrollo de esta bacteria. Por un lado, se han encontrado bacterias mutantes (tramposas) que impiden la formación del cuerpo fructífero, por ejemplo, por una deficiencia en las proteínas de adhesión. Las esporas no se logran dispersar efectivamente —o en algunos casos ni siquiera se forman— por lo que la población colapsa (Velicer *et al.*, 2000). Si bien la postura de cooperación y traición (obligadas) es en este caso válida, no interesa para el argumento discutido aquí. Es decir, lo que se postula en el trabajo es que la *división de funciones* es consecuencia del acoplamiento y no necesariamente de un escenario de cooperación. Se asume de entrada que sí se forma la masa celular (por una adhesión alta, requisito fundamental, como se estudió previamente). Otro argumento interesante a favor de la necesidad de la cooperación y un mecanismo de control de tramposos es la existencia de mutantes que, independientemente de su posición en el agregado, se diferencian en esporas. Si bien este caso desestabilizaría el acoplamiento tal como se definió en el trabajo, tampoco afectaría a las conclusiones generales de la posibilidad de prescindir del enfoque cooperacionista. En primer lugar, si estas mutantes se propagan en el agregado, es probable que éste se desestabilice y todas las células mueran, en varias generaciones; la ausencia de células somáticas no permite que se forme el cuerpo fructífero, además, ninguna célula se especializa en la adquisición de nutrientes²⁴. Los agregados en donde sí existe un acoplamiento benéfico, las esporas se podrán dispersar, reproducir y por lo tanto perpetuar en la evolución. En segundo lugar, el hecho de que una célula se pueda diferenciar en un tipo celular independientemente de las señales de las vecinas supone algún mecanismo de regulación genética que haga a la célula irresponsiva a las señales externas, un proceso que bajo nuestro modelo es posterior a la generación de los patrones.

Por lo tanto, más que supuestos de cooperación²⁵, sería esencial determinar qué tipos de acoplamientos son estables y cuáles no. De esta manera se podría especular sobre la importancia evolutiva de las hipótesis revisadas en el modelo. Para esto, es esencial otros factores en el modelo, como la división celular o la muerte celular —estos moldean los tipos de formas y su estabilidad— y procesos evolutivos

²⁴Por ejemplo, cambiando de organismo, si en *Volvox carterii* todas las células se vuelven germinales, ninguna fotosintetizará, por lo que colapsará todo el organismo.

²⁵Y también de traición, egoísmo o cualquier otro principio de la teoría de juegos.

como las mutaciones, la variación y la adecuación del agregado.

5.3.2. Muerte y división celular y forma : ¿qué posibles efectos?

En el modelo presentado, la diferencia entre la agregación y la división incompleta sólo se trabajó en relación a la diferencia en los tipos de comunicación; siempre se comenzaron las simulaciones desde la agregación de las células o desde el agregado directo. Sin embargo, la formación de organismos por división incompleta puede acarrear procesos de acoplamiento celular muy diferentes. En efecto, empezar desde una célula que se fuera dividiendo a tiempos síncronos o asíncronos, dependientes o independientes de la comunicación celular puede modificar mucho los tipos de patrones alcanzados. Esto es más notable si se agregan nuevos tipos celulares como en los trabajos de Furusawa y Kaneko (2002); Kaneko (2003). En el modelo de estos investigadores, ciertos tipos celulares alcanzados se derivan de tipos celulares previos; se generan rutas de diferenciación y patrones de diferenciación que sólo puede ser alcanzadas por la división clonal (Fig. 5-12)(Kaneko, 2003). Esto sugiere una diferencia entre el tipo de acoplamiento entre la división clonal y la agregación que podría aportar a la explicación del hecho de que los organismos multicelulares morfológicamente más complejos *sensu* Knoll (2011) se formen por división clonal y no por agregación.

Por otro lado, el tipo de división celular es determinante en la forma y por lo tanto en el tipo de interacción del agregado con el ambiente. No será lo mismo si la división es unidireccional (filamentos), bidireccional (filamentos ramificados) o tridireccional (parénquima). Esto podría cambiar la información con respecto al medio, al igual que entre vecinas, dando pie a una nueva gama de patrones de diferenciación celular (Niklas y Newman, 2013; Niklas, 2014).

Aunado a la división celular, sería esencial incluir la muerte celular en el modelo. Ésta podría ser definida en función de la disponibilidad de ciertos metabolitos y por lo tanto en función del tipo de comunicación (véase los modelos de Furusawa y Kaneko (2002); Ispolatov *et al.* (2012)). Así pues se podría evaluar por un lado la estabilidad de los agregados. Algunas configuraciones, determinadas por la comunicación celular, podrían llevar inexorablemente a la muerte del agregado y otras ser estables en el tiempo. Aunado a esto, la muerte celular sería un nuevo proceso morfogenético que podría modificar la forma (Hogeweg, 2000) y llevar a nuevos tipos de patrones o a la recreación dinámica de los mismos. Por

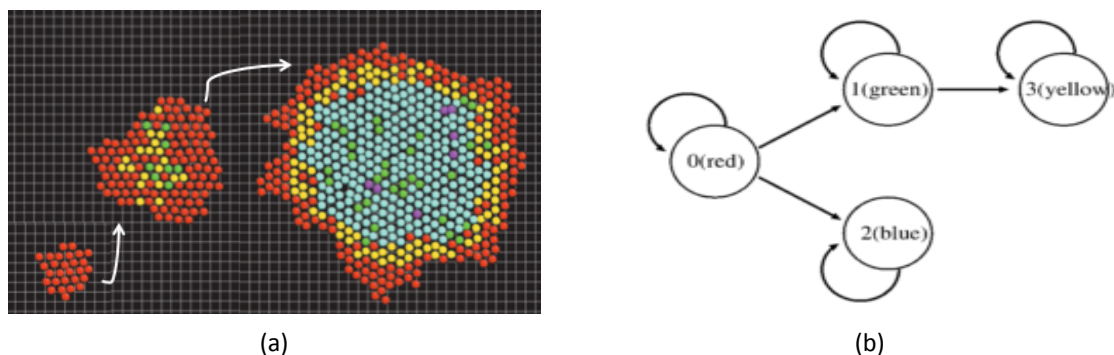


Figura 5-12. Proceso de desarrollo obtenido *in silico* por Furusawa y Kaneko (2002). a. Visualización de los tipos celulares y b. Rutas de diferenciación de las células.

ejemplo, en el caso del desarrollo de *Volvox carterii*, la muerte de las células somáticas externas permite la «eclosión» de los juveniles y empezar así un nuevo ciclo de vida.

Incluir los procesos de división celular y muerte celular da pie a la formación de nuevos patrones de regionalización de la expresión celular. Pero, además, permite realizar hipótesis sobre la estabilidad y recreación transgeneracional de los patrones obtenidos. Para tener un escenario evolutivo completa, es importante definir cómo se podrían mantener los patrones obtenidos; es decir incluir procesos de variación y selección.

5.3.3. Importancia evolutiva: variación fenotípica y asimilación genética

El trabajo aquí presentado es un ejemplo más de cómo la interacción entre las células, entre células y su ambiente, y las diferencias con respecto al tipo de comunicación, pueden llegar a generar patrones en una escala biológica mayor. Bajo este escenario, los patrones de organización y regionalización de las funciones celulares son dependientes del ambiente y de la interacción celular. Por lo que, el origen de la variación en las estructuras multicelulares, sería en un primer plano fenotípica (West-Eberhard, 2005).

Una crítica frecuente que se le ha hecho al origen fenotípico de la variación es su poca importancia en los procesos evolutivos por su falta de estabilidad genética a lo largo de las generaciones (Maynard-Smith y Szathmáry, 2000). Los procesos de desarrollo, aparte de tener una influencia clara del ambiente, tiene una alta regulación genética (*e.g.* factores de transcripción como Hox, Pax6 o las cajas MADS) (Newman y Bhat, 2009). Además, se discute que los procesos de desarrollo guiados por los módulos for-

madores de patrones como la comunicación y la adhesión, como creadores de variación, son demasiado inespecíficos y no ilustran las correlaciones directas entre los genes y el fenotipo. Muchas de las críticas han sido respondidas de manera acertada por el mecanismo de asimilación genética mencionado por primera vez por Waddington (1953) en un contexto de selección *in vitro*, generalizado por West-Eberhard (2005) y aplicado al contexto de origen de la multicelularidad por Newman y Bhat (2009).

El primer factor importante es que en los procesos explicados por Newman y colaboradores (2006, 2009) los genes sí están presentes. Cada uno de los módulos de interacción (comunicación, adhesión o polaridad por decir algunos) están regidos por una red de regulación genética interna, previa al origen de la multicelularidad. Además, las formas obtenidas pueden tener alguna ventaja adaptativa o simplemente no tener ninguna desventaja (Newman y Bhat, 2009). Por lo tanto, las células siguen replicándose y si las condiciones del medio se mantienen, mantienen la capacidad de recrear los patrones de diferenciación espacial en el agregado.

De manera paralela, los genes van acumulando cambios por medio de mutaciones, duplicaciones y recombinaciones que se expanden a lo largo del agregado²⁶. Las mutaciones cambian la estructura de las redes de regulación transcripcional, influidas por el ambiente y por los genes (Salazar-Ciudad *et al.*, 2000). Aquellos cambios en la red que generen los patrones de manera más fidedigna serán seleccionados –por medio de la selección estabilizadora– a través del tiempo (West-Eberhard, 2005). Las señales externas e internas –esenciales en el proceso morfogénico– pueden verse reforzadas por asas de retroalimentación positiva o negativa al interior de las células (Bonner, 2000). De esta manera, las células se vuelven más sensibles a las señales bioquímicas (bajan los umbrales de expresión (West-Eberhard, 2005), haciendo el proceso de desarrollo más robusto. Por un lado, se empieza a crear una relación más directa entre el genotipo y el fenotipo y, por otro, los cambios en las señales externas ya no perturbarán tanto al desarrollo (Newman *et al.*, 2006; Newman y Bhat, 2009). En términos de Salazar-Ciudad y colaboradores (2000), las redes emergentes son reemplazadas por redes jerárquicas. Dos ejemplos biológicos ilustran el proceso de reforzamiento de señales internas y externas. Por un lado, en el desarrollo de la *Hydra*, la polaridad inicial está mediada por la concentración de O_2 en el medio. El extremo más expuesto al oxígeno se diferencia en la parte anterior y el menos opuesto en parte posterior. Además, una vez que empieza la diferenciación de la parte anterior, ésta produce una señal inhibitoria que impi-

²⁶Esta expansión es aún más importante si los cambios genéticos se realizan en las fases unicelulares.

de al extremo opuesto seguir la misma ruta de diferenciación (Meinhardt y Gierer, 2000). Esta segunda señalización refuerza la polaridad inducida por el oxígeno, por lo que pudo haber sido una innovación posterior (Bonner, 2000). Un ejemplo más es el sistema de represión genética mediada por el mecanismo epigenético de Polycomb (PcG). Lo que hace PcG es reprimir sólo sitios de acción en dónde los genes tienen poca actividad genética, reforzando así gradientes previos de activación. Por poner un caso, el factor de transcripción *MyoD* inicia la ruta de diferenciación en células musculares o miocitos. Lo que hace PcG es metilar las histonas cercanas al sitio de acción de *MyoD* en aquellas células cuya expresión de genes de diferenciación en miocitos tengan baja expresión. De esta manera, evita que células no musculares lleguen a diferenciarse, por fenómenos estocásticos, en musculares; haciendo así al desarrollo más robusto (Gombar *et al.*, 2014). En resumen, en el origen de los primeros organismos multicelulares, los genes pasarían a ser seguidores y reguladores de fenómenos de interacción y variación fenotípica (West-Eberhard, 2005).

Una de las perspectivas importantes del trabajo es agregar un escenario evolutivo, en donde se seleccionarían algunos patrones y se analizarían los cambios topológicos y dinámicos de cada red. Para ello sería necesario conectar las propiedades de adhesión y comunicación con la red interna celular y escoger algún criterio de selección. Se esperarían dos resultados. Por un lado, podría haber un cambio en la estructura de las redes que impulse la generación de una mayor cantidad de proteínas de adhesión, estabilizando así el agregado celular (Bonner, 2000). Por otro lado, se esperaría que se formaran asas de retroalimentación negativa o positiva que reforzarán los perfiles de expresión de cada célula, llevando a una diferenciación celular estable e irreversible (Bonner, 2000). Por ejemplo, asas que refuercen los efectos de la polaridad –generada por la comunicación indirecta o los nutrientes del medio– o cambien los mecanismos de comunicación directa, permitiendo así, un acoplamiento irreversible. Gracias a esto, los patrones serían estables a pequeños cambios ambientales; además, las células podrían estar asociadas a otros módulos como la adhesión, permitiendo así nuevos procesos morfogénicos.

5.4. Comentarios finales y conclusiones

La transición a la multicelularidad es uno de los eventos más importantes en la historia de la evolución. Además de impulsar la generación de formas a una escala macroscópica, marcó el inicio de los sistemas de desarrollo; procesos intrínsecamente relacionados con la evolución (Bonner, 2000). En general, la transición ha sido explicada por medio de sus ventajas adaptativas. Aunado a ello, los mecanismos por los cuales se teoriza que evolucionó han sido muy genocentristas y asumen posturas de la teoría de juegos no siempre válidos. Sin embargo, en el campo de la Biología del Desarrollo, otras posturas han hecho un énfasis especial en la importancia de las interacciones –genéticas, como ambientales y sobre todo entre propiedades fenotípicas como la adhesión y la comunicación celular –para explicar los procesos evolutivos y del desarrollo (Waddington, 1977; Furusawa y Kaneko, 2002; Newman y Bhat, 2009; Alvarez-Buylla *et al.*, 2007; Azpeitia *et al.*, 2010; Benítez, 2011). En este trabajo, se siguieron las hipótesis de Kaneko (2002, 2003) al igual que las de Newman y colaboradores (2006, 2009) sobre la importancia de los módulos de adhesión y comunicación en la generación de patrones de diferenciación espacial en las primeras masas multicelulares. Específicamente se buscó la influencia de las diferencias entre los tipos de comunicación –directa, indirecta y mixta– y la fuerza de adhesión –alta, media alta, media, baja– en la generación de estos patrones.

Los resultados mostraron que las poblaciones celulares no adheridas pueden estar acopladas por la comunicación indirecta (y que ésta comunicación podría regular la proporción de tipos celulares en una población). A su vez, la comunicación directa parece tener un papel acoplador entre las células, contrariamente a la comunicación indirecta que genera una polaridad espacial en los nuevos agregados. Juntos, los dos tipos de comunicación producen gradientes y patrones centrípetos con diferentes tipos de regionalización, equivalentes a algunos procesos de desarrollo de organismos multicelulares simples, tales como los dictiostélidos o las myxobacterias. La adhesión, por su parte puede tener dos papeles diferentes. Por un lado, puede ser alta y evitar el movimiento intercelular y permitir la generación de patrones basados en la información posicional (como en el caso de las plantas) (Scheres, 2001). Por otro lado, puede impulsar nuevos procesos morfogenéticos y por lo tanto debe estar relacionada con el tipo celular (Hogeweg, 2000). Finalmente, los patrones obtenidos no generan todos los tipos de desarrollo

observados en organismos multicelulares simples. Por lo tanto, es necesario incluir otro tipo de factores como la división o muerte celular (entre otros); pero, sobre todo, adaptar el sistema en un escenario evolutivo en donde las redes puedan evolucionar en función de la selección por el patrón de organización de los tipos celulares a nivel del agregado.

El trabajo presentado es sólo una prueba de hipótesis. Es una mera conceptualización simbolizada matemáticamente para entender algunas de las influencias clave en el desarrollo de los primeros organismos multicelulares. Como tal, las hipótesis generadas deben ser confrontadas con experimentos y procesos de desarrollo *in vivo*. Una vez confrontado con procesos reales, el modelo puede refinarse y mejorarse. Para entender un proceso en biología es necesario tener una interacción constante entre los modelos teóricos y conceptuales y los ejemplos específicos y empíricos; la verdadera belleza de la biología nace de la mezcla entre la elegancia de la generalización y la espontaneidad de la excepción.

Bibliografía

- Abedin, M. y N. King. 2008. The premetazoan ancestry of cadherins. *Science* **319**:946–948.
- Alberts, B., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts y P. Walter. 2002. *Molecular Biology of the Cell*. 5a edición. Garland Science.
- Alvarez-Buylla, E. R., M. Benítez, E. B. Dávila, A. Chaos, C. Espinosa-Soto y P. Padilla-Longoria. 2007. Gene regulatory network models for plant development. *Current opinion in plant biology* **10**:83–91.
- Azpeitia, E., M. Benítez, I. Vega, C. Villarreal y E. R. Alvarez-Buylla. 2010. Single-cell and coupled GRN models of cell patterning in the Arabidopsis thaliana root stem cell niche. *BMC systems biology* **4**:1–19.
- Bassingthwaighe, J. B. 2000. Strategies for the physiome project. *Annals of biomedical engineering* **28**:1043–1058.
- Bassler, B. L., E. P. Greenberg y A. M. Stevens. 1997. Cross-species induction of luminescence in the quorum-sensing bacterium *Vibrio harveyi*. *Journal of bacteriology* **179**:4043–4045.
- Basu, S., Y. Gerchman, C. H. Collins, F. H. Arnold y R. Weiss. 2005. A synthetic multicellular system for programmed pattern formation. *Nature* **434**:1130–1134.
- Beatrici, C. P. y L. G. Brunnet. 2011. Cell sorting based on motility differences. *Physical Review E* **84**:031927.
- Benítez, M. 2011. *Desarrollo: La odisea del organismo*. CopIt-arXives, UNAM.
- Benítez, M., C. Espinosa-Soto, P. Padilla-Longoria y E. R. Alvarez-Buylla. 2008. Interlinked nonlinear subnetworks underlie the formation of robust cellular patterns in Arabidopsis epidermis: a dynamic spatial model. *BMC systems biology* **2**:1–16.
- Benítez, M., C. Espinosa-Soto, P. Padilla-Longoria, J. Díaz y E. R. Alvarez-Buylla. 2007. Equivalent genetic regulatory networks in different contexts recover contrasting spatial cell patterns that resemble those in Arabidopsis root and leaf epidermis: a dynamic model. *The International journal of developmental biology* **51**:139–55.

- Bloemendal, S. y U. Kück. 2013. Cell-to-cell communication in plants, animals, and fungi: a comparative review. *Die Naturwissenschaften* **100**:3–19.
- Bonner, J. T. 1998. The origins of multicellularity. *Integrative Biology Issues News and Reviews* **1**:27–36.
- Bonner, J. T. 2000. *First signals: the evolution of multicellular development*. 1a edición. Princeton University Press, EEUU.
- Bonner, J. T. 2003. On the origin of differentiation. *Journal of Biosciences* **28**:523–528.
- Bonner, J. T. 2004. Perspective: the size-complexity rule. *International Journal of Organic Evolution* **58**:1883–1890.
- Bonner, J. T., K. B. Compton, E. C. Cox, P. Fey y K. Y. Gregg. 1995. Development in one dimension: the rapid differentiation of Dictyostelium discoideum in glass capillaries. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **92**:8249–8253.
- Boraas, M. E., D. B. Seale y J. E. Boxhorn. 1998. Phagotrophy by a flagellate selects for colonial prey : A possible origin of multicellularity. *Evolutionary Ecology* **12**:153–164.
- Borges, J. L. 1954. *Historia universal de la infamia*. 1a edición. EMECE Editores, Argentina.
- Börner, U., A. Deutsch, H. Reichenbach y M. Bär. 2002. Rippling patterns in aggregates of myxobacteria arise from cell-cell collisions. *Physical Review Letters* **89**:078101.
- Buss, L. W. 1987. *The Evolution of Individuality*. 1a edición. Princeton University Press, EEUU.
- Butterfield, N. J. 2000. Bangiomorpha pubescens n. gen., n. sp.: implications for the evolution of sex, multicellularity, and the Mesoproterozoic/Neoproterozoic radiation of eukaryotes. *Paleobiology* **26**:386–404.
- Collier, J. R., N. A. Monk, P. K. Maini y J. H. Lewis. 1996. Pattern formation by lateral inhibition with feedback: a mathematical model of delta-notch intercellular signalling. *Journal of Theoretical Biology* **183**:429–446.
- Douzery, E. J., E. A. Snell, E. Baptiste, F. Delsuc y H. Philippe. 2004. The timing of eukaryotic evolution: does a relaxed molecular clock reconcile proteins and fossils? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **101**:15386–15391.
- Drasdo, D. y G. Forgacs. 2000. Modeling the interplay of generic and genetic mechanisms in cleavage, blastulation, and gastrulation. *Developmental Dynamics* **219**:182–191.

- Drasdo, D. y S. Höhme. 2003. Individual-based approaches to birth and death in avascular tumors. *Mathematical and Computer Modelling* **37**:1163–1175.
- Espinosa-Soto, C., P. Padilla-Longoria y E. R. Alvarez-Buylla. 2004. 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 Online* **16**:2923–2939.
- Furusawa, C. y K. Kaneko. 2002. Origin of multicellular organisms as an inevitable consequence of dynamical systems. *The Anatomical record* **268**:327–342.
- Garcia, T., L. G. Brunnet y S. De Monte. 2014. Differential adhesion between moving particles as a mechanism for the evolution of social groups. *PLoS computational biology* **10**:1–11.
- Gerisch, G. 1968. Cell aggregation and differentiation in *Dictyostelium*. *Current Topics in Developmental Biology* **3**:157–197.
- Gilbert, S. F. 2003. The morphogenesis of evolutionary developmental biology. *The International journal of developmental biology* **47**:467–477.
- Gilbert, S. F. 2006. *Developmental Biology*. 5a edición. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts.
- Glazier, J. A., A. Balter y N. J. Popławski, 2007. Magnetization to morphogenesis: a brief history of the Glazier-Graner-Hogeweg model. Páginas 79–106 en *Single-Cell-Based Models in Biology and Medicine*. Springer.
- Gombar, S., T. Maccarthy y A. Bergman. 2014. Epigenetics decouples mutational from environmental robustness. Did it also facilitate multicellularity? *PLoS computational biology* **10**:1–7.
- Grosberg, R. K. y R. R. Strathmann. 2007. The Evolution of Multicellularity: A Minor Major Transition? *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **38**:621–654.
- Harvey, C. W., H. Du, Z. Xu, D. Kaiser, I. Aranson y M. Alber. 2012. Interconnected cavernous structure of bacterial fruiting bodies. *PLoS computational biology* **8**:1–14.
- Hense, B. A., C. Kuttler, J. Müller, M. Rothballer, A. Hartmann y J.-U. Kreft. 2007. Does efficiency sensing unify diffusion and quorum sensing? *Nature Reviews Microbiology* **5**:230–239.
- Hernández-Hernández, V., K. J. Niklas, S. a. Newman y M. Benítez. 2012. Dynamical patterning modules in plant development and evolution. *The International journal of developmental biology* **56**:661–674.

- Hirschhaeuser, F., H. Menne, C. Dittfeld, J. West, W. Mueller-Klieser y L. A. Kunz-Schughart. 2010. Multicellular tumor spheroids: an underestimated tool is catching up again. *Journal of biotechnology* **148**:3–15.
- Hogeweg, P. 2000. Evolving mechanisms of morphogenesis: on the interplay between differential adhesion and cell differentiation. *Journal of theoretical biology* **203**:317–333.
- Holland, H. D. 2006. The oxygenation of the atmosphere and oceans. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **361**:903–915.
- Holmes, A., S. Kalvala y D. Whitworth. 2010. Spatial Simulations of Myxobacterial Development. *PLoS computational biology* **6**:1–13.
- Holmes, B. 1997. When we were worms. *New Scientist* **156**:30–35.
- Huang, S. y D. E. Ingber. 2000. Shape-dependent control of cell growth, differentiation, and apoptosis: switching between attractors in cell regulatory networks. *Experimental cell research* **261**:91–103.
- Huxley, J., M. Pigliucci y G. B. Müller. 2010. *Evolution: the modern synthesis: the definitive edition*. 1a edición. MIT Press, EEUU.
- Ispolatov, I., M. Ackermann y M. Doebeli. 2012. Division of labour and the evolution of multicellularity. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* **279**:1768–76.
- Julien, B., A. D. Kaiser y A. Garza. 2000. Spatial control of cell differentiation in *Myxococcus xanthus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **97**:9098–9103.
- Kaiser, D. 2001. Building a Multicellular Organism. *Annual review of genetics* paginas 103–123.
- Kaneko, K., 2003. Gradients, Diffusion, and Genes in Pattern Formation. en S. A. Newman y G. B. Müller, editores. *Origination of Organismal Form: Beyond the Gene in Developmental and Evolutionary Biology*. The MIT Press, EEUU.
- Kauffman, S. 1993. *The origins of order: Self organization and selection in evolution*. 1th edición. Oxford University Press, Inglaterra.
- Kauffman, S. A. 1969. Metabolic stability and epigenesis in randomly constructed genetic nets. *Journal of theoretical biology* **22**:437–467.

- King, N., M. J. Westbrook, S. L. Young, A. Kuo, M. Abedin, J. Chapman, S. Fairclough, U. Hellsten, Y. Isogai, I. Letunic *et al.* 2008. The genome of the choanoflagellate *Monosiga brevicollis* and the origin of metazoans. *Nature* **451**:783–788.
- Kirk, D. L. 2005. A twelve-step program for evolving multicellularity and a division of labor. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology* **27**:299–310.
- Knoll, A. H. 2011. The Multiple Origins of Complex Multicellularity. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* **39**:217–239.
- Knoll, A. H., E. J. Javaux, D. Hewitt y P. Cohen. 2006. Eukaryotic organisms in Proterozoic oceans. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **361**:1023–1038.
- Koch, A. y H. Meinhardt. 1994. Biological pattern formation: from basic mechanisms to complex structures. *Reviews of Modern Physics* **66**:1481.
- Kümmerli, R. y S. P. Brown. 2010. Molecular and regulatory properties of a public good shape the evolution of cooperation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107**:18921–18926.
- Laland, K. N., J. Odling-Smee y S. F. Gilbert. 2008. EvoDevo and niche construction: building bridges. *Journal of experimental zoology. Part B, Molecular and developmental evolution* **310**:549–66.
- Laubichler, M. 2007. *Modeling biology: Structures, behavior, evolution*. 1a edición. The MIT Press, EEUU.
- Lee, T. I., N. J. Rinaldi, F. Robert, D. T. Odom, Z. Bar-Joseph, G. K. Gerber, N. M. Hannett, C. T. Harbison, C. M. Thompson, I. Simon, J. Zeitlinger, E. G. Jennings, H. L. Murray, D. B. Gordon, B. Ren, J. J. Wyrick, J.-B. Tagne, T. L. Volkert, E. Fraenkel, D. K. Gifford y R. a. Young. 2002. Transcriptional regulatory networks in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science (New York, N.Y.)* **298**:799–804.
- Levins, R. 1962. Theory of fitness in a heterogeneous environment. I. The fitness set and adaptive function. *American Naturalist* paginas 361–373.
- Levins, R. 1966. The Strategy of Model Building in Population Biology. *American Scientist* **4**.
- Levins, R. 2014. *Una pierna adentro, una pierna afuera: Un homenaje desde el Centro de Ciencias de la Complejidad de la Universidad Nacional Autónoma de México*. Coplt-arXives (In press).

- Loew, L. M. y J. C. Schaff. 2001. The Virtual Cell: a software environment for computational cell biology. *TRENDS in Biotechnology* **19**:401–406.
- Mac Williams, H. K. y J. Bonner. 1979. The Prestalk-Prespore Pattern in Cellular Slime Molds. *Differentiation* **14**:1–22.
- Mantzaris, N. V., S. Webb y H. G. Othmer. 2004. Mathematical modeling of tumor-induced angiogenesis. *Journal of mathematical biology* **49**:111–187.
- Marée, A. F. M. y P. Hogeweg. 2001. How amoeboids self-organize into a fruiting body: multicellular coordination in *Dictyostelium discoideum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **98**:3879–3883.
- Maynard-Smith, J. y E. Szathmáry. 2000. *The origins of life: From the birth of life to the origin of language*. 1a edición. Oxford University Press, Inglaterra.
- Meeks, J. C., E. L. Campbell, M. L. Summers y F. C. Wong. 2002. Cellular differentiation in the cyanobacterium *Nostoc punctiforme*. *Archives of microbiology* **178**:395–403.
- Meinhardt, H. 1983. A model for the prestalk/prespore patterning in the slug of the slime mold *Dictyostelium discoideum*. *Differentiation* **24**:191–202.
- Meinhardt, H. y a. Gierer. 2000. Pattern formation by local self-activation and lateral inhibition. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology* **22**:753–760.
- Michod, R. E. y D. Roze. 2001. Cooperation and conflict in the evolution of multicellularity. *Heredity* **86**:1–7.
- Miramontes, P. 1998. *La Biología Matemática*. 1a edición. UNAM, México.
- Morris, S. C. y S. C. Morris. 1998. *The crucible of creation: the Burgess Shale and the rise of animals*. Oxford University Press, Inglaterra.
- Müller, G. B. 2007. Evo–devo: extending the evolutionary synthesis. *Nature Reviews Genetics* **8**:943–949.
- Murray, J. 2002. *Mathematical Biology*. 3a edición. Springer, EEUU.
- Newman, S., 2003. From Physics to Development: The Evolution of Morphogenetic Mechanisms. en S. A. Newman y G. B. Müller, editores. *Origination of Organismal Form [electronic resource]: Beyond the Gene in Developmental and Evolutionary Biology*. The MIT Press, EEUU.

- Newman, S. a. y R. Bhat. 2009. Dynamical patterning modules: a "pattern language" for development and evolution of multicellular form. *The International journal of developmental biology* **53**:693–705.
- Newman, S. A., G. Forgacs y G. B. Muller. 2006. Before programs: the physical origination of multicellular forms. *The International Journal of Developmental Biology* **50**:289–299.
- Nijhout, H., 2003. Gradients, Diffusion, and Genes in Pattern Formation. en S. A. Newman y G. B. Müller, editores. *Origination of Organismal Form: Beyond the Gene in Developmental and Evolutionary Biology*. The MIT Press, EEUU.
- Niklas, K. J. 2014. The evolutionary-developmental origins of multicellularity. *American journal of botany* **101**:6–25.
- Niklas, K. J. y S. A. Newman. 2013. The origins of multicellular organisms. *Evolution & Development* **15**:41–52.
- Novak, B. y J. J. Tyson. 1993. Numerical analysis of a comprehensive model of M-phase control in *Xenopus* oocyte extracts and intact embryos. *Journal of cell science* **106**:1153–1168.
- Nowak, M. A. 2006. Five rules for the evolution of cooperation. *science* **314**:1560–1563.
- Pearson, J. C., D. Lemons y W. McGinnis. 2005. Modulating Hox gene functions during animal body patterning. *Nature Reviews Genetics* **6**:893–904.
- Pfeiffer, T. y S. Bonhoeffer. 2003. An evolutionary scenario for the transition to undifferentiated multicellularity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **100**:1095–1098.
- Pigliucci, M., C. J. Murren y C. D. Schlichting. 2006. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *The Journal of experimental biology* **209**:2362–2367.
- Preston, T. M. y C. A. King. 2005. Actin-Based Motility in the Net Slime Mould *Labyrinthula*: Evidence for the Role of Myosin in Gliding Movement. *Journal of Eukaryotic Microbiology* **52**:461–475.
- Rasskin-Gutman, D. y J. C. Izpisúa-Belmonte. 2004. Theoretical morphology of developmental asymmetries. *Bio-essays* **26**:405–412.
- Ratcliff, W. C., R. F. Denison, M. Borrello y M. Travisano. 2012. Experimental evolution of multicellularity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **109**:1595–1600.

- Ratcliff, W. C., M. D. Herron, K. Howell, J. T. Pentz, F. Rosenzweig y M. Travisano. 2013. Experimental evolution of an alternating uni- and multicellular life cycle in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Nature communications* **4**:1–8.
- Rokas, A. 2008a. The molecular origins of multicellular transitions. *Current opinion in genetics & development* **18**:472–478.
- Rokas, A. 2008b. The origins of multicellularity and the early history of the genetic toolkit for animal development. *Annual review of genetics* **42**:235–251.
- Ruiz-Trillo, I. n., G. Burger, P. W. H. Holland, N. King, B. F. Lang, A. J. Roger y M. W. Gray. 2007. The origins of multicellularity: a multi-taxon genome initiative. *Trends in genetics : TIG* **23**:113–118.
- Salazar-Ciudad, I., J. Garcia-Fernández y R. V. Solé. 2000. Gene networks capable of pattern formation: from induction to reaction-diffusion. *Journal of theoretical biology* **205**:587–603.
- Schaap, P., L. van der Molen y T. M. Konijn. 1981. Development of the simple cellular slime mode *Dictyostelium minutum*. *Developmental biology* **85**:171–179.
- Scheres, B. 2001. Plant Cell Identity . The Role of Position and Lineage. *Plant physiology* **1**:112–114.
- Sebé-Pedrós, A., M. Irimia, J. Del Campo, H. Parra-Acero, C. Russ, C. Nusbaum, B. J. Blencowe y I. n. Ruiz-Trillo. 2013. Regulated aggregative multicellularity in a close unicellular relative of metazoa. *eLife* paginas 1–17.
- Seilacher, A., D. Grazhdankin y A. Legouta. 2003. Ediacaran biota: The dawn of animal life in the shadow of giant protists. *Paleontological Research* **7**:43–54.
- Shapiro, J. A. 1998. Thinking about bacterial populations as multicellular organisms. *Annual Reviews in Microbiology* **52**:81–104.
- Shore, P. y A. D. Sharrocks. 1995. The MADS-box family of transcription factors. *European Journal of Biochemistry* **229**:1–13.
- Sick, S., S. Reinker, J. Timmer y T. Schlake. 2006. WNT and DKK determine hair follicle spacing through a reaction-diffusion mechanism. *Science* **314**:1447–1450.
- Simon, B., J. a. Fletcher y M. Doebeli. 2013. Towards a general theory of group selection. *Evolution; international journal of organic evolution* **67**:1561–1572.

- Slepchenko, B. M., J. C. Schaff, I. Macara y L. M. Loew. 2003. Quantitative cell biology with the Virtual Cell. *Trends in cell biology* **13**:570–576.
- Solari, C. a., S. Ganguly, J. O. Kessler, R. E. Michod y R. E. Goldstein. 2006. Multicellularity and the functional interdependence of motility and molecular transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**:1353–8.
- Solé, R. V. y S. Duran-Nebreda. 2014. In silico transitions to multicellularity. *arXiv preprint arXiv:1403.3217* .
- Sozinova, O., Y. Jiang, D. Kaiser y M. Alber. 2005. A three-dimensional model of myxobacterial aggregation by contact-mediated interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**:11308–11312.
- Stanley, S. M. 1973. An ecological theory for the sudden origin of multicellular life in the late Precambrian. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **70**:1486–1489.
- Swat, M. H., G. L. Thomas, J. M. Belmonte, A. Shirinifard, D. Hmeljak y J. A. Glazier. 2012. Multi-scale modeling of tissues using CompuCell3D. *Methods in cell biology* **110**:325.
- Tanabe, Y., M. Hasebe, H. Sekimoto, T. Nishiyama, M. Kitani, K. Henschel, T. Münster, G. Theissen, H. Nozaki y M. Ito. 2005. Characterization of MADS-box genes in charophycean green algae and its implication for the evolution of MADS-box genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**:2436–2441.
- Tarnita, C. E., C. H. Taubes y M. A. Nowak. 2013. Evolutionary construction by staying together and coming together. *Journal of Theoretical Biology* **320**:10–22.
- Travisano, M. y G. J. Velicer. 2004. Strategies of microbial cheater control. *Trends in microbiology* **12**:72–8.
- Turing, A. 1952. The Chemical Basis of Morphogenesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* **237**:37–72.
- Velicer, G. J., L. Kroos y R. E. Lenski. 2000. Developmental cheating in the social bacterium *Myxococcus xanthus*. *Nature* **404**:598–601.
- Waddington, C. 1977. *Tools for Thought*. 1a edición. Jonathan Cape.

- Waddington, C. H. 1953. Genetic assimilation of an acquired character. *Evolution* paginas 118–126.
- Webster, G. y B. Goodwin. 1996. *Form and transformation: generative and relational principles in biology*. Cambridge University Press.
- West-Eberhard, M. J. 2005. Developmental plasticity and the origin of species differences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**:6543–6549.
- Williams, J. G., K. T. Duffy, D. P. Lane, S. J. McRobbie, A. J. Harwood, D. Traynor, R. R. Kay y K. A. Jermyn. 1989. Origins of the prestalk-prespore pattern in Dictyostelium development. *Cell* **59**:1157–1163.
- Wolpert, L. 1969. Positional information and the spatial pattern of cellular differentiation. *Journal of theoretical biology* **25**:1–47.
- Xiao, S., Y. Zhang y A. Knoll. 1998. Three-dimensional preservation of algae and animal embryos in a Neoproterozoic phosphorite. *Nature* **391**:553–558.
- Youk, H. y W. a. Lim. 2014. Secreting and sensing the same molecule allows cells to achieve versatile social behaviors. *Science* **343**:628–637.
- Zhu, J., Y.-T. Zhang, M. S. Alber y S. A. Newman. 2010. Bare bones pattern formation: a core regulatory network in varying geometries reproduces major features of vertebrate limb development and evolution. *PLoS one* **5**:1–11.

6. Anexo: Análisis cualitativo de la red simple.

6.1. Punto de equilibrio y linealización alrededor del mismo

Con el fin de tener un entendimiento claro sobre el comportamiento de los diferentes escenarios, sería esencial realizar un estudio analítico de cada uno de los sistemas. Como ese estudio está más allá de los alcances de este trabajo, se procedió únicamente al estudio analítico de la red simple, sin comunicación. A partir de este análisis se pretende generar cierta intuición (cualitativa) de los sistemas más complicados. La red simple en cada una de las células presentada en las ecuaciones 3.1.3 y 3.1.4 se puede ver como una función F de \mathbb{R}^2 en \mathbb{R}^2 tal que $F(A, I) = (f_1(A, I), f_2(A, I))$ en donde:

$$\frac{dA}{dt} = f_1(A, I) = \frac{k_1 A^2}{I} - k_2 A \quad (6.1.1)$$

$$\frac{dI}{dt} = f_2(A, I) = k_3 A^2 - k_4 I \quad (6.1.2)$$

Ya que el sistema no es lineal, se realizó un estudio únicamente en la vecindad de los puntos de equilibrio, en donde la función puede ser linealizada. Por lo tanto, el primer paso del análisis es la determinación de los puntos de equilibrio (A_{eq}, I_{eq}) en donde ya no cambia el sistema o lo que es lo mismo, cuando $dI/dt = dA/dt = 0$. Es decir, cuando $F = 0$. Se resuelve por lo tanto, el sistema siguiente:

$$\frac{k_1 A^2}{I} - k_2 A = 0 \quad (6.1.3)$$

$$k_3 A^2 - k_4 I = 0 \quad (6.1.4)$$

Cuyas dos soluciones son:

$$A_{eq} = \frac{k_4 k_1}{k_3 k_2}, \quad I_{eq} = \frac{k_4 k_1^2}{k_3 k_2^2} \quad (6.1.5)$$

Ahora bien, para conocer la naturaleza de los puntos de equilibrio (ver si son atractores, repulsivos o puntos silla) se linealiza la función F en la vecindad del punto de equilibrio (A_{eq}, I_{eq}) . Se obtiene:

$$F(A, I) = J_F(A_{eq}, I_{eq})(A - A_{eq}, I - I_{eq}) \quad (6.1.6)$$

en donde $J_F(A_{eq}, I_{eq})$ es la matriz Jacobiana de F evaluada en (A_{eq}, I_{eq}) , también conocida como la matriz de estabilidad:

$$J(A_{eq}, I_{eq}) = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial A} & \frac{\partial f_1}{\partial I} \\ \frac{\partial f_2}{\partial A} & \frac{\partial f_2}{\partial I} \end{bmatrix}_{(A_{eq}, I_{eq})} \quad (6.1.7)$$

Reemplazando en la ecuación 6.1.7 por el valor de las derivadas parciales de la red simple se obtiene:

$$J(A_{eq}, I_{eq}) = \begin{bmatrix} \frac{2k_1 A}{I} - k_2 & -\frac{k_1 A^2}{I^2} \\ 2k_3 A & -k_4 \end{bmatrix}_{(A_{eq}, I_{eq})} \quad (6.1.8)$$

en donde, si evaluado en el punto de equilibrio (A_{eq}, I_{eq}) es igual a:

$$J(A_{eq}, I_{eq}) = \begin{bmatrix} k_2 & -\frac{k_2^2}{k_1} \\ \frac{2k_4 k_1}{k_2} & -k_4 \end{bmatrix} \quad (6.1.9)$$

6.2. Naturaleza del punto de equilibrio: signo de los valores propios

6.2.1. Cálculo de los valores propios

El comportamiento de la función $F(A, I)$ en la vecindad del punto de equilibrio depende únicamente del comportamiento de $J_F(A_{eq}, I_{eq})$. Para entender la naturaleza de la matriz J se buscan sus valores propios λ_1 y λ_2 ; estos valores indican el comportamiento de la matriz a lo largo de sus vectores propios v_1 y v_2 respectivamente. Se tienen las siguientes opciones:

- (i) Si $\text{Re}(\lambda_1) > 0$ y $\text{Re}(\lambda_2) > 0$, el punto de equilibrio es un repulsor.
- (ii) Si $\text{Re}(\lambda_1) < 0$ y $\text{Re}(\lambda_2) < 0$, el punto de equilibrio es un atractor
- (iii) Si $\text{Re}(\lambda_1)$ y $\text{Re}(\lambda_2)$ tienen signos opuestos, el punto de equilibrio es un punto silla.
- (iv) Si $\text{Re}(\lambda) = 0$, no se puede saber la naturaleza (atractor/repulsor) del punto de equilibrio.

Así pues, para calcular los eigenvalores λ se determinan las soluciones de:

$$\begin{bmatrix} k_2 - \lambda & -\frac{k_2^2}{k_1} \\ \frac{2k_4k_1}{k_2} & -k_4 - \lambda \end{bmatrix} = 0 \quad (6.2.1)$$

$$\Rightarrow \lambda^2 + \lambda(k_4 - k_2) + k_2k_4$$

Por lo tanto,

$$\lambda_{1,2} = \frac{k_2 - k_4 \pm \sqrt{(k_4 - k_2)^2 - 4(k_2k_4)}}{2} \quad (6.2.2)$$

Resulta interesante que la estabilidad del punto de equilibrio dependa solamente de los parámetros k_2 y k_4 , es decir, de la tasa de degradación de A y de I respectivamente.

6.2.2. Determinación del signo de los valores propios

Sea $\Delta = (k_4 - k_2)^2 - 4(k_2k_4)$, de tal manera que:

$$\lambda_{1,2} = \frac{k_2 - k_4 \pm \sqrt{\Delta}}{2} \quad (6.2.3)$$

Sólo interesa aquí la parte real de los eigenvalores, por lo que se deben diferenciar los casos según el signo de Δ . Cuando $\Delta \leq 0$, la raíz es negativa o nula, entonces no se toma en cuenta. Por lo tanto, el signo de λ_1 y λ_2 será el mismo y dependerá únicamente de la diferencia entre k_2 y k_4 . Cuando $\Delta > 0$, la raíz es positiva, por lo que se debe tomar en cuenta en la parte real de λ .

Si se resuelve el signo de Δ se obtienen dos rectas $L_1 : k_{41} = (3 + 2\sqrt{2})k_2$ y $L_2 : k_{42} = (3 - 2\sqrt{2})k_2$ que dividen el plano como lo muestra la Figura 6-1. En la Figura, se observa cómo si la dupla (k_2, k_4) se encuentra entre las rectas L_1 y L_2 , el signo de Δ es negativo. Si la dupla no se encuentra entre las rectas L_1 y L_2 , el signo de Δ es positivo.

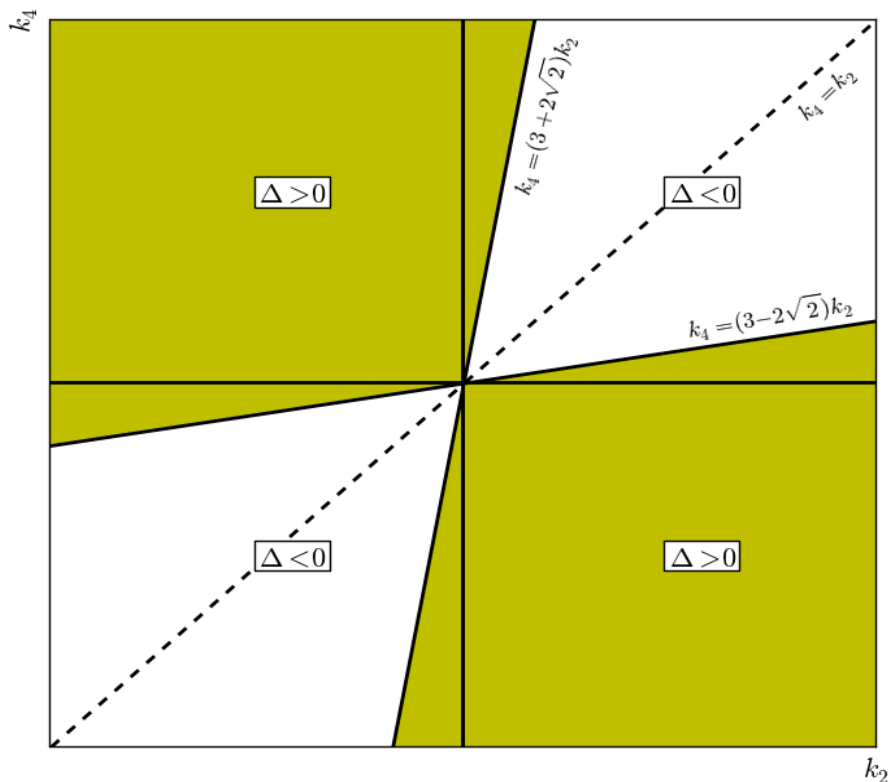


Figura 6-1. Signo de Δ en función de los valores de los parámetros k_2 y k_4 . Cuando $k_4 \in (3 - 2\sqrt{2}, 3 + 2\sqrt{2})$ entonces Δ es negativo (sin color). Cuando $k_4 \notin (3 - 2\sqrt{2}, 3 + 2\sqrt{2})$ entonces Δ es positivo o nulo (color amarillo).

Para calcular el signo de la parte real de los valores propios, se utiliza la nueva variable X tal que $X = k_2 - k_4$. Se tiene entonces que:

$$\lambda_{1,2} = \frac{X \pm \sqrt{(X)^2 - 4(k_2k_4)}}{2} = \frac{X \pm \sqrt{\Delta}}{2} \quad (6.2.4)$$

A partir de la ecuación 6.2.4 se realizan diferentes subcasos. En primer lugar se supone que $\Delta > 0$ (**A**). Aquí la raíz va a figurar dentro de la parte real de los valores propios. Es decir $\text{Re}(\lambda) = \lambda$. Dentro de este caso se tienen varios subcasos dependiendo del signo de k_2 y k_4 y de su relación. Todo el análisis con $\Delta > 0$ está resumido en la Figura 6-2.a. En segundo lugar se supone que $\Delta < 0$ (**B**). Aquí, la raíz no va a figurar dentro de la parte real de los valores propios. Por lo tanto, $\text{Re}(\lambda) = X/2$. El signo de la parte real de los valores propios va a depender únicamente del signo de X o lo que es lo mismo, de la relación entre k_2 y k_4 (Fig.6-2. b).

A. Para empezar, sea el signo de $\Delta > 0$. Tenemos que $\text{Re}(\lambda) = (X \pm \sqrt{\Delta})/2$. De aquí, se derivan dos subcasos dependiendo del signo de k_2 y k_4 .

A.1. Si k_2 y k_4 son del mismo signo, entonces se puede decir que:

$$4(k_2k_4) > 0$$

$$\rightarrow (X)^2 - 4(k_2k_4) < (X)^2$$

$$\rightarrow \sqrt{(X)^2 - 4(k_2k_4)} < \sqrt{(X)^2} = |X|$$

$$\rightarrow \sqrt{\Delta} < |X|. \quad (6.2.5)$$

Dentro de este subcaso, se pueden volver a hacer dos subsubcasos que dependen del signo de X (i.e. de la relación entre k_2 y k_4).

A.1.1. Si $k_2 > k_4 \rightarrow X > 0$, se tiene que:

$$X + \sqrt{\Delta} > X > 0 \rightarrow \text{Re}(\lambda_1) > 0 \quad (6.2.6)$$

$$X - \sqrt{\Delta} > X - |X| = X - X = 0 \rightarrow \text{Re}(\lambda_2) > 0 \quad (6.2.7)$$

La parte real de los dos valores propios tiene signo positivo; el punto de equilibrio es un *repulsor*.

A.1.2. Si $k_2 < k_4 \rightarrow X < 0$, se tiene que:

$$X + \sqrt{\Delta} < X + |X| = X - X = 0 \rightarrow \text{Re}(\lambda_1) < 0 \quad (6.2.8)$$

$$X - \sqrt{\Delta} < X < 0 \rightarrow \text{Re}(\lambda_2) < 0 \quad (6.2.9)$$

La parte real de los dos valores propios tiene signo negativo; el punto de equilibrio es un *atractor*.

A. 2. El segundo subcaso importante es si k_2 y k_4 son de signo opuesto. Se tiene entonces que :

$$\begin{aligned} 4(k_2k_4) &< 0 \\ \rightarrow (X)^2 - 4(k_2k_4) &> (X)^2 \\ \rightarrow \sqrt{\Delta} &> |X|. \end{aligned} \quad (6.2.10)$$

Por lo tanto, aquí, independientemente del signo de X (por lo que ya no hay subsubcasos), se tiene que:

$$X + \sqrt{\Delta} > X + |X| > 0 \rightarrow \text{Re}(\lambda_1) > 0 \quad (6.2.11)$$

y

$$X - \sqrt{\Delta} < X - |X| < 0 \rightarrow \text{Re}(\lambda_2) < 0 \quad (6.2.12)$$

La parte real de los dos valores propios tiene signo distinto: el punto de equilibrio es un *punto silla*. Todos los casos con $\Delta > 0$ se encuentran resumidos en la Figura 6-2. a.

B. El segundo caso, en donde $\Delta < 0$, es mucho más sencillo de resolver. Aquí como se ignora la parte imaginaria (es decir, la raíz) se tiene que:

$$\text{Re}(\lambda_{1,2}) = \frac{k_2 - k_4}{2} \quad (6.2.13)$$

Por lo tanto sólo hay dos subcasos, ya que el signo de los valores propios es siempre el mismo.

B.1 Si $k_2 > k_4 \rightarrow X > 0 \rightarrow \text{Re}(\lambda_{1,2}) > 0$. La parte real de los valores propios es positiva, por lo que el punto de equilibrio es un *repulsor*.

B.2 $k_4 > k_2 \rightarrow X < 0 \rightarrow \text{Re}(\lambda_{1,2}) < 0$. La parte real de los valores propios es negativa, por lo que el punto de equilibrio es un *atractor*. La sección con $\Delta < 0$ parte se resume en la Figura 6-2. b.

En el trabajo realizado sólo interesa el cuadrante en donde los parámetros k_2 y k_4 son positivos –ya que una degradación negativa sería equivalente a una producción. Como se vio, dentro de este cuadrante, la única regla importante para determinar la naturaleza del punto de equilibrio es la relación entre k_2 y k_4 , independientemente del signo de Δ (Fig. 6-2)

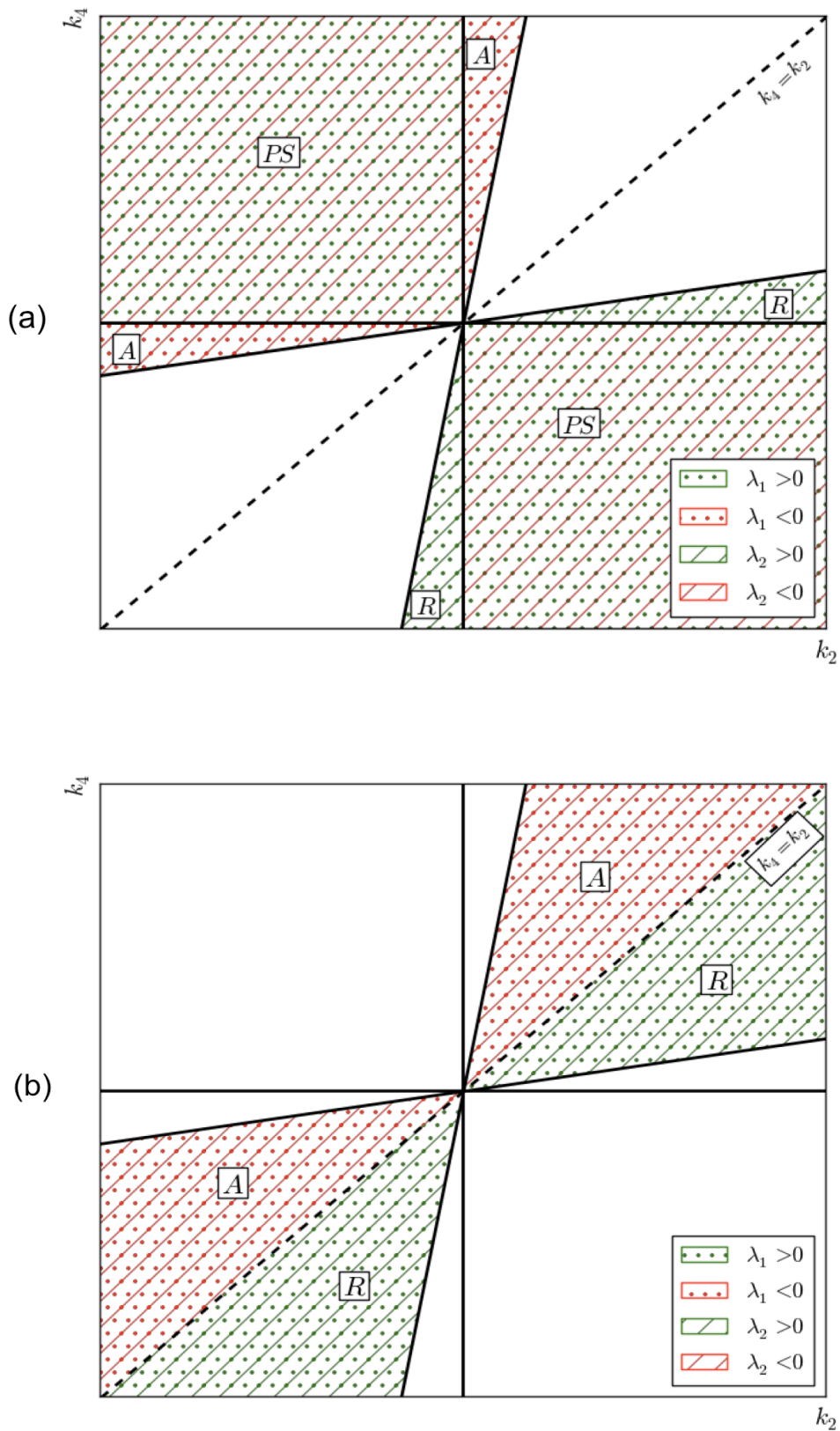


Figura 6-2. Signo de los valores propios λ_1 y λ_2 en función de los parámetros k_2 y k_4 , con Δ positivo (a) y Δ negativo (b) . Las rectas son las mismas que en la Figura 1. Las letras representan la naturaleza del punto de equilibrio si los parámetros se encuentran en esa zona; A: Atractor, R: Repulsor, PS: Punto Silla

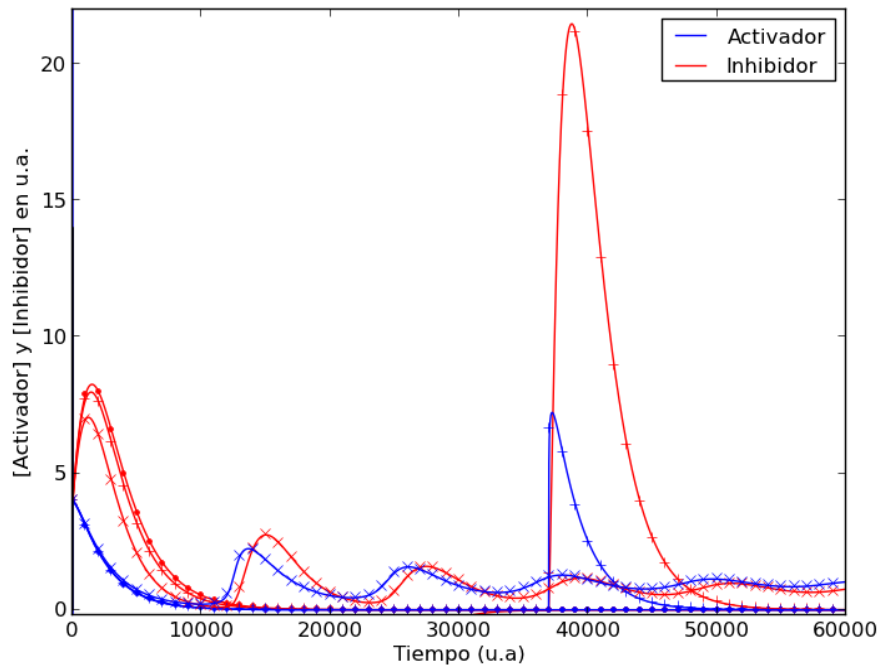
6.3. Parámetros usados en el modelo

En el trabajo realizado los parámetros usados fueron $k_1 = 0.004$, $k_2 = k_3 = 0.005$ y $k_4 = 0.008$. Por lo tanto las coordenadas del punto de equilibrio (A_{eq}, I_{eq}) son $(1.28, 1.024)$. Además, $k_4 > k_2$ por lo que el punto de equilibrio es un atractor. Es un punto estable con $A_{eq} > I_{eq}$ (tipo celular Azul) (Fig. 6-3). En el caso de las redes acopladas por la comunicación directa, la dinámica es más compleja; sigue un comportamiento similar al de los sistemas de reacción difusión y su análisis ha sido realizado en otros lugares (Murray, 2002). Uno de los resultados importantes de la reacción difusión es la generación de configuraciones heterogéneas de A y de I estabilizadas por medio del acoplamiento. De manera más específica se generan picos de activación en donde $A > I$ y valles de inhibición en donde $I > A$.

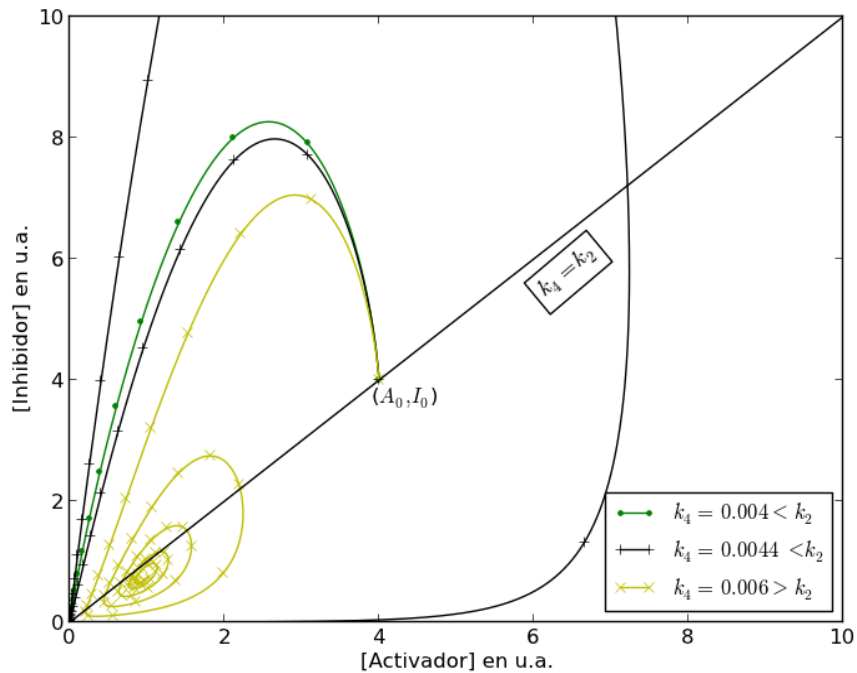
Por otro lado, algo interesante de la red es la dinámica que tiene cuando el valor de k_4 disminuye. En efecto, si k_4 es lo suficientemente bajo y $k_4 < k_2$, el punto de equilibrio se vuelve repulsor (fig 6-3). Sin embargo, por cómo están definidas las ecuaciones 6.1.1 y 6.1.2, A y I son siempre positivos. Esto hace que se formen ciclos abiertos alrededor del punto de equilibrio que se van pegando cada vez más al punto $(0, 0)$. El tiempo que pasa la trayectoria en la vecindad del $(0, 0)$ se vuelve a cada ciclo más grande. Por lo tanto, en el tiempo de la simulación, el punto $(0, 0)$ puede ser considerado como un atractor. Además, cuando la trayectoria está en la vecindad del cero, $I > A^1$, llevando así al tipo celular Rojo². Esta última observación es relevante para entender la dinámica que se puede generar por la comunicación indirecta. Cuando una célula secreta I al medio exterior, en donde se degrada y difunde bastante más lentamente que al interior de la célula, genera una dinámica similar a tener una tasa de degradación de I (k_4) más baja. En efecto, al no degradarse en el medio y poder reingresar a la célula, cambia el comportamiento, generando que el punto de equilibrio se vuelva repulsor ($k_4 < k_2$). Al igual, cuando las células que tienen una tasa «menor» de degradación de I forman parte de un agregado, van a generar un gradiente de I que va a repercutir en las células más internas del agregado.

¹Esto se explica por cómo está definida la red. En efecto, mientras $I > A$, los dos pueden alcanzar concentraciones muy bajas. Si A rebasa a I , entonces su concentración va a explotar por la retroalimentación positiva, seguida de la de I , iniciando un nuevo ciclo.

²Otra manera de verlo, aunque únicamente cualitativa, es definiendo un segmento S desde el punto de equilibrio hasta el punto $(0, 0)$. Se define, al igual, una sucesión D_n como la distancia del punto de equilibrio a los puntos de intersección de la trayectoria con la recta L . La sucesión D_n es claramente creciente, pero también está acotada por el valor de la longitud del segmento S . Por lo tanto, la sucesión converge hacia el $(0, 0)$.



(a)



(b)

Figura 6-3. Soluciones de las ecuaciones 6.1.1 y 6.1.2 con diferentes valores de k_4 (0.008 (x), 0.0044 (+), 0.004 (.)). Para todas las soluciones, $k_1 = 0.004$, $k_2 = k_3 = 0.005$. a. Concentración del activador e inhibidor en función del tiempo. b. Plano fase del activador contra el inhibidor. Cuando $k_4 = 0.008$ se llega al atractor en donde $A_{eq} > I_{eq}$. Cuando $k_4 < 0.005$, este punto es repulsor y se forman espirales abiertas que pasan cada vez más tiempo cercanas al cero, con $I_{eq} > A_{eq}$.