



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
MATEMÁTICAS Y DE LA ESPECIALIZACIÓN EN ESTADÍSTICA  
APLICADA

FORMACIÓN DE PATRONES MORFOGENÉTICOS DE  
DESARROLLO BIOLÓGICO MEDIANTE MODELOS DE TIPO  
REACCIÓN-DIFUSIÓN

TESINA  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:  
MARCOS BERNAL ROMERO

DIRECTOR DE LA TESINA  
Dr. ALESSIO FRANCI  
[FACULTAD DE CIENCIAS](#)

MÉXICO, CDMX. [24/10/2016](#)



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.

# Agradecimientos

Agradezco al Dr. Alessio Franci por el tiempo y dedicación para dirigir este trabajo, a mi tutora Dra. Úrsula X. Iturrarán Viveros por la amistad que me brindó y porque siempre estuvo dispuesta a dedicarme parte de su tiempo y apoyo cada vez que lo requería al igual que el Dr. Tomás Morales Acoltzi. Finalmente agradezco a mi familia por el apoyo moral y la comprensión que siempre me han dado.

Trabajo realizado gracias a DGAPA-UNAM y al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM PAPIIT IA105816.

# Índice general

<b>Introducción</b>	<b>1</b>
<b>1. Mecanismo de reacción-difusión en la formación de patrones</b>	<b>2</b>
1.1. Ecuación de reacción-difusión . . . . .	2
1.2. Un modelo para la formación del patrón esquelético en el desarrollo de extremidades de un ave . . . . .	5
1.2.1. Características generales del modelo . . . . .	7
1.2.2. Solución analítica del modelo . . . . .	8
1.2.3. Constantes de reacción-difusión: El número de Saunders	11
1.2.4. Formación del patrón durante el brote de la extremidad	13
<b>2. Mecanismo de activación-inhibición</b>	<b>16</b>
2.1. El sistema de activación-inhibición . . . . .	16
2.2. Regulación y Reproducibilidad de la morfogénesis . . . . .	18
2.2.1. Regulación y generación de modelos . . . . .	18
2.2.2. Evolución de caminos morfogénicos reproducibles . .	19
<b>Conclusiones</b>	<b>20</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>21</b>

# Introducción

El desarrollo de algunos mecanismos biológicos pueden estar determinados por ciertas sustancias químicas o morfógenos que se encargan de regular la formación de estructuras biológicas que a través del tiempo pueden ser físicamente observables, por ejemplo las manchas en la coloración de la piel en algunos animales, la forma de la estructura que tienen algunas extremidades vertebradas, etc. Éste tipo de fenómenos forman figuras o estructuras geométricas con cierto orden, en otras palabras forman “patrones”.

No es de sorprendernos que Alan Turing (1912-1954), uno de los matemáticos más brillantes en la historia de las matemáticas haya sido el pionero en estudiar este tipo de fenómenos y dar las bases para entender estos mecanismos.

En el presente trabajo se muestra un breve estudio sobre los mecanismos de reacción-difusión sugeridos por Turing. En el Capítulo 1 deducimos la ecuación de reacción-difusión y mostramos algunos resultados que se obtienen al experimentar con la solución numérica de ésta ecuación, esto con el objetivo de familiarizarnos con el concepto de “patrón”. Posteriormente, para ver una aplicación real en la formación de patrones morfogenéticos, hablaremos sobre el trabajo de Newman y Frisch [13] en donde explican las ideas de Turing en la formación de patrones esqueléticos. Por otro lado, en el Capítulo 2 hablaremos sobre una generalización del mecanismo de reacción-difusión (cuando hay varios morfógenos) para poder entender los sistemas de tipo activación-inhibición y comentar sobre algunas aplicaciones en la formación de patrones con éste tipo de sistemas.

Finalmente haremos una comparación entre los mecanismos que estudiaremos y mencionaremos algunas generalizaciones recientes que se han hecho sobre éste tipo de modelos por parte de investigadores de la UNAM.

# Capítulo 1

## Mecanismo de reacción-difusión en la formación de patrones

Turing (1952) sugirió que bajo ciertas condiciones, las sustancias químicas pueden reaccionar y difundirse de tal forma que se produzcan patrones espaciales de sustancias químicas o concentración de morfógenos, sustancias que gobiernan el patrón del desarrollo en tejidos y, en particular, las posiciones de varios tipos de células especializadas dentro de un tejido. El propósito del trabajo de Turing, fue discutir un posible mecanismo por el cual los genes de un cigoto (célula resultante entre la fusión de gametos) pueden determinar la estructura anatómica del organismo resultante. Su teoría no hizo alguna hipótesis nueva, fue solamente sugerencia de que ciertas leyes de la física son suficientes para tomar en cuenta en muchas evidencias biológicas [23].

### 1.1. Ecuación de reacción-difusión

A continuación deduciremos la ecuación de reacción-difusión para una sustancia química e ilustraremos con una simulación numérica la formación de patrones mediante procesos de reacción-difusión.

Sea  $S$  una superficie arbitraria que encierra un volumen  $V$ . La ecuación general de conservación dice que la tasa de cambio de una cantidad  $c$  de material en  $V$  es igual a la tasa del flujo de material  $J$  a través de  $S$  a  $V$ , más el material creado en  $V$ , es decir,

$$\frac{\partial}{\partial t} \int_V c(x, t) dv = - \int_S J \cdot ds + \int_V f ds, \quad (1.1)$$

donde  $f$  representa la fuente del material, la cual puede ser una función de  $c$ ,  $x$  y  $t$ . Aplicando el teorema de la divergencia a la integral de superficie y suponiendo que  $c(x, t)$  es continua, tenemos que

$$\int_S J \cdot ds = \int_V \nabla \cdot J dv,$$

de aquí que la ecuación (1.1) se puede expresar como,

$$\int_V \left( \frac{\partial}{\partial t} c(x, t) + \nabla \cdot J - f(c, x, t) \right) dv = 0. \quad (1.2)$$

Dado que el volumen  $V$  es arbitrario y la integral de volumen es cero, el integrando es cero, entonces tenemos la ecuación de conservación

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot J = f(c, x, t). \quad (1.3)$$

Esta ecuación es válida para un transporte de flujo general  $J$  ya sea por difusión o algún otro proceso.

Si se considera que la difusión clásica es, por ejemplo,

$$J = -D\nabla c,$$

entonces la Ec. (1.3) se puede ver como,

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \nabla \cdot (D\nabla c) + f(c, x, t), \quad (1.4)$$

donde  $D$  puede ser función de  $x$  y  $c$ ; y  $f$  función de  $x$ ,  $c$  y  $t$ .

Situaciones en donde  $D$  es espacio-dependiente, generalmente aparecen en modelos de importancia biomédica desde la difusión de organismos genéticamente modificados en ambientes heterogéneos hasta los efectos de materia blanca y gris en el crecimiento y esparcimiento de tumores cerebrales.

Con el objetivo de construir un laboratorio numérico para poder experimentar con la Ec. (1.4) y mostrar algunos ejemplos de patrones espacio-temporales que se obtienen al resolver numéricamente ésta ecuación, hemos implementado el método de diferencias finitas para resolverla. Consideremos el problema con dominio espacial,  $[-200, 200] \times [-200, 200]$  y dominio temporal,  $[0, 200]$ , dado por

$$\begin{cases} \frac{\partial c}{\partial t} = D\nabla^2 c + f(c) \\ c(t_0, x, y) = g(x, y) \end{cases} \quad (1.5)$$

donde  $f(c)$  es, por ejemplo,  $f(c) = \cos(c) \sin(c)$ .

Si consideramos la condición inicial  $g(x, y) = \sin(x^2 - y^2)$  obtenemos los patrones que se muestran en la Figura 1.1.

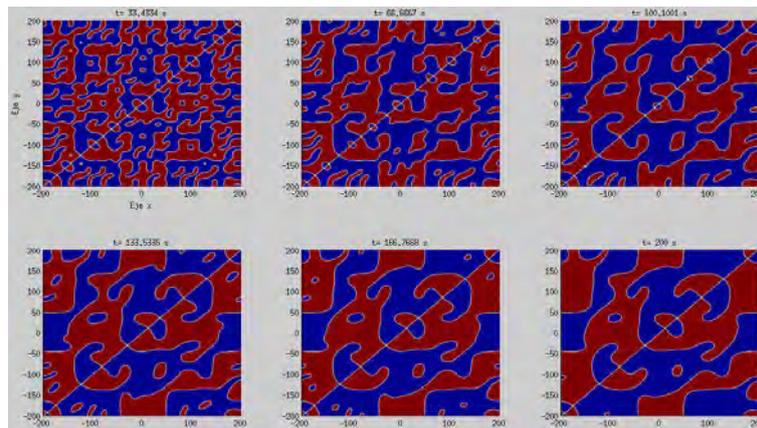


Figura 1.1: Solución para diferentes tiempos usando  $g(x, y) = \sin(x^2 - y^2)$ .

Por otro lado, si consideramos la condición inicial  $g(x, y) = \cos(x^2 - y^2)$  obtenemos los patrones que se muestran en la Figura 1.2.

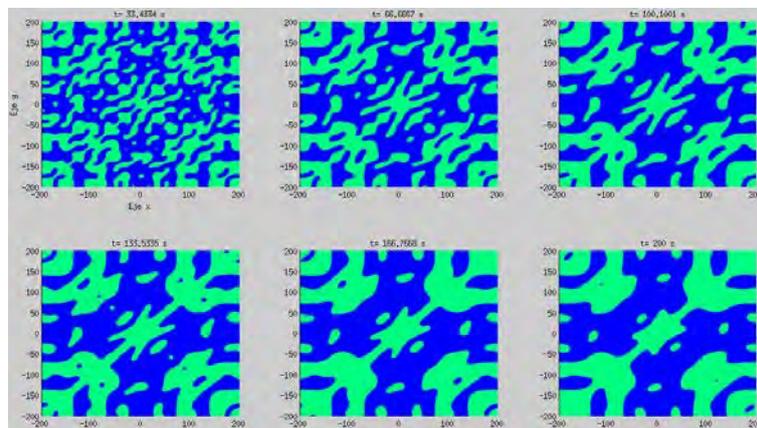


Figura 1.2: Solución para diferentes tiempos usando  $g(x, y) = \cos(x^2 - y^2)$ .

Finalmente, en nuestros experimentos pudimos ver que si consideramos la condición inicial  $g(x, y) = \frac{\sin(x^2 - y^2)}{x^2 - y^2 + 1}$  obtenemos el patrón que se muestra en la Figura 1.3, el cual como podemos ver, se asemeja al patrón espacial que se forma en la piel de un leopardo.

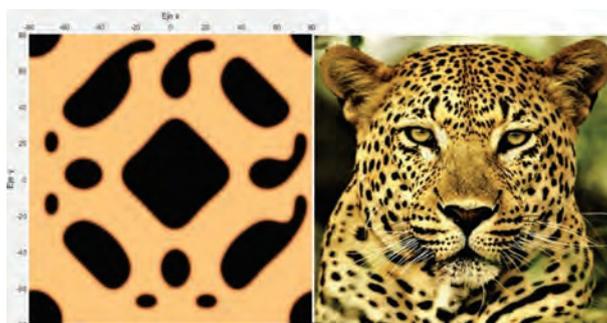


Figura 1.3: Solución en  $t = 27$  usando  $g(x, y) = \frac{\sin(x^2 - y^2)}{x^2 - y^2 + 1}$ .

Como ya mencionamos anteriormente, la Ec. (1.4) aparece en muchos modelos de importancia biomédica. A continuación vamos a mostrar una aplicación más controlada y detallada sobre un modelo de reacción-difusión tipo Turing dado por Stuart A. Newman and H. L. Frisch (1979) que consiste en un modelo que describe la formación del patrón esquelético durante la formación de extremidades en un ave [13].

## 1.2. Un modelo para la formación del patrón esquelético en el desarrollo de extremidades de un ave

¿Por qué se estudia la formación de extremidades vertebradas de un ave? El desarrollo de la formación de las extremidades de un ave provee un excelente sistema para estudiar esta pregunta, pues el número de distintos tipos de terminales celulares es pequeño ([15]-[1]), suficiente material esta disponible para permitir la caracterización bioquímica de agentes morfogenéticos [22, 10], y, lo más importante, los eventos macroscópicos del proceso de formación de patrones en el crecimiento de las extremidades de un ave están entre las más profundamente descritas de cualquier sistema vertebrado.

### Descripción fisiológica

La extremidad de un ave, al igual que las extremidades de otros vertebrados, se desarrolla a partir de la pared del cuerpo embrionario como un brote suave de células mesenquimales cubiertas por una capa delgada llamada ectodermo. El brote de la extremidad se hace plano y alargado en dirección de un espesamiento ectodérmico, esta es la cresta ectodérmica apical (apical ectodermal ridge, AER).

Durante el crecimiento de la extremidad la diferenciación del cartílago continúa en dirección proximodistal, dando lugar a los esbozos del esqueleto que muestran características proximodistales, anteroposteriores, y polaridades dorsoventrales. Las direcciones que acabamos de mencionar corresponden a los ejes que se muestran en el primer inciso de la Figura 1.4.

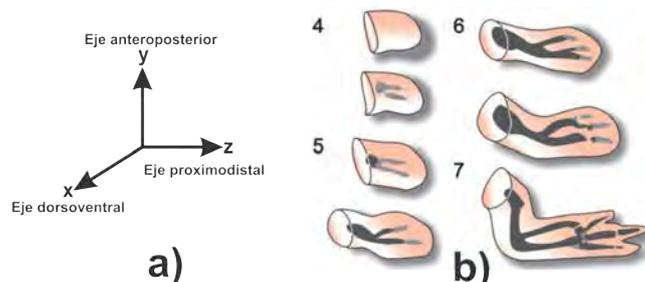


Figura 1.4: a) Ejes proximodistal, anteroposterior y dorsoventral. b) Proceso de condrogénesis en la formación de la extremidad de un ave entre 4 y 7 días de embriogénesis. Las regiones sólidas oscuras representan cartílago definitivo; las áreas punteadas representan cartílago tierno. Los elementos esqueléticos emergen en orden proximodistal [14].

El proceso de formación de patrones, que empieza un poco después de que la punta de la extremidad emerge de la pared del cuerpo a los 3 días de incubación, está esencialmente completo a los 7 días de incubación, cuando todo el esqueleto se ha formado. Después de esto los elementos cartilaginosos son gradualmente reemplazados por hueso y el patrón de la extremidad continúa incrementando en tamaño.

### El problema a tratar

El comportamiento fisiológico de este problema sugiere que es razonable pensar que existe una sustancia química (morfológeno) que estimula el contacto célula a célula, la cual puede ser responsable para la iniciación del foco condrogénico capaz de formar cartílago que más tarde se convertirá en hueso y cuya estructura formara un patrón.

El problema de la formación de patrones puede ser planteado como encontrar un esquema dinámico para el cual esta molécula puede estar distribuida en concentraciones apropiadas en tiempos y lugares adecuados dando la base para el esqueleto emergente de la extremidad. Newman y Frisch propusieron tal esquema [13].

### 1.2.1. Características generales del modelo

Por conveniencia matemática se ha tratado el brote de la extremidad, la cual realmente tiene una sección transversal ovalada en el plano perpendicular a al eje proximodistal, como un paralelepípedo con una sección transversal rectangular, esta estructura se define como “cámara de difusión”. La Figura 1.5 muestra el dibujo del brote del ala de un polluelo de 5 días de incubación y a un lado se muestra la esquematización matemática de la cámara de difusión.

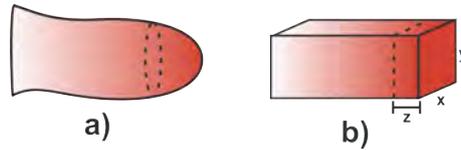


Figura 1.5: (a) Dibujo del brote de una ala de 5 días. (b) Representación esquemática del brote de una ala con los ejes de la “cámara de difusión” distal indicados. Los ejes  $x$ ,  $y$ , y  $z$  de la representación corresponden a los ejes dorsoventral, anteroposterior y proximodistal de la extremidad, respectivamente.

La extremidad cambia lentamente entre 3 y 7 días de incubación, agregando sucesivamente elementos esqueléticos proximodistalmente, cuando éste incrementa en tamaño a lo largo del eje  $z$ . La punta del ala, que mide alrededor de 0,7 milímetros de longitud en el día 4 justo antes de que el primer elemento esquelético se haga evidente, es de aproximadamente 5 milímetros de longitud en el día 7, cuando el patrón esquelético esta esencialmente completo.

#### Formulación del modelo

Los resultados están basados en un esquema de reacción-difusión, gobernado por la ecuación de estado estacionario para la cámara de difusión de tamaño discreto,

$$D\nabla^2 c + rc = 0, \quad (1.6)$$

donde  $c$  esta relacionada al desplazamiento de la concentración de cierto morfógeno  $M$  desde un valor transitorio espacialmente homogéneo,  $D$  es el coeficiente de difusión del morfógeno en la matriz extracelular y  $r$  es una tasa linealizada constante para la biosíntesis.

### 1.2.2. Solución analítica del modelo

Para poder obtener información sobre el comportamiento del modelo, a continuación veremos la solución analítica de la Ec. (1.6).

Supongamos que existe un simple morfógeno  $M$  cuya concentración es  $C$  y sea  $R(C)$  la tasa a la cual se produce  $M$  (y que es producida por células mesenquimales).

Antes de que comience el brote de la extremidad,  $M$  se distribuye homogéneamente en las futuras regiones de las paredes de la extremidad.

En algún tiempo inicial  $t_0$  cuando el valor espacialmente homogéneo de  $C$  es  $C_0$ , se establece el carácter espacial de la punta de la extremidad y se fija el valor de  $C$  en  $C_{tip}$ .

Cuando el modelo de la extremidad brota bajo la influencia de su punta, cierta cantidad de  $M$  es absorbido por las otras superficies que limitan la cámara de difusión:  $x = 0$ ,  $x = l_x$ ,  $y = 0$  y  $y = l_y$ , (donde  $l_x$ ,  $l_y$  son longitudes constantes sobre los ejes dorsoventral y anteroposterior, respectivamente) de tal manera que ahí se mantiene una concentración fija  $C_b$ .

Dentro del modelo de la extremidad,  $C$  no es espacialmente homogénea, pero está descrita por la ecuación de reacción-difusión para  $t > t_0$ ,

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D\nabla^2 C + R(C) \quad (1.7)$$

Después de un transito corto, se alcanza un estado estacionario en el que  $\frac{\partial C}{\partial t} = 0$ , es decir la Ec. (1.7) se simplifica como:

$$D\nabla^2 C + R(C) = 0 \quad (1.8)$$

Asumimos que la desviación de  $C$  con respecto a  $C_0$ ,  $\hat{c}$ , es suficientemente pequeña de tal forma que podemos expandir  $R(C)$  en una serie de Taylor alrededor de  $C_0$ ,

$$R(C) = R(C_0) + \left( \frac{dR}{dC} \right)_{C_0} \hat{c} + O(\hat{c}^2) \approx R(C_0) + r\hat{c},$$

$$r = \frac{1}{\tau} = \frac{dR}{dC}(C_0), \quad (1.9)$$

donde los términos de orden superior se pueden omitir.

La desviación de  $R$  con respecto a  $R(C_0)$  se describe por una tasa constante  $r$  que tomamos como positiva. El caso para  $r$  negativa no se discute aquí pues el signo de  $r$  depende en forma detallada de la función de tasa biosintética  $R$ , lo cual no se presenta en este trabajo. El caso negativo no corresponde a lo que se quiere observar durante la formación del patrón [13].

La tasa constante  $r$  también puede ser igual al recíproco de la relajación del tiempo  $\tau$  para nuestra reacción.

Sea

$$a = \frac{R(C_0)}{r}, \quad c = a + \hat{c}. \quad (1.10)$$

Se asume que  $a$  es pequeño.

Ahora la Ec. (1.9) se puede escribir como

$$R(C) = r(a + \hat{c}) = rc \quad (1.11)$$

Sustituyendo la Ec. (1.11) en la Ec. (1.8) y renombrando

$$C = C_0 + \hat{c} = C_0 - a + c,$$

tenemos que

$$D\nabla^2 c + rc = 0 \quad \text{o} \quad \nabla^2 c + \left(\frac{r}{D}\right)c = 0 \quad (1.12)$$

que corresponde a la Ec. (1.6).

Las condiciones de frontera son  $C_b = C_0 - a$  (esto es  $c = 0$ ) sobre todas las superficies que limitan la cámara de difusión, excepto la punta  $z = d$ , y el final proximodistal de la cámara de difusión  $z = 0$ .

Sobre los dos planos posteriores  $C = C_0 - a + \beta c_0$  (es decir  $c = \beta c_0$ ) y  $C = C_0 - a + c_0$  (es decir  $c = c_0$ ), respectivamente. El número  $\beta c_0$  se considera suficientemente pequeño de tal forma que la aproximación de la Ec. (1.9) sea válida para  $\hat{c} = \beta c_0 - a$ .

Ahora buscaremos una solución de la forma

$$c = X(x)Y(y)Z(z) \quad (1.13)$$

Sustituyendo ésto en la Ec. (1.12) obtenemos:

$$YZ \frac{d^2 X}{dx^2} + XZ \frac{d^2 Y}{dy^2} + XY \frac{d^2 Z}{dz^2} + \frac{r}{D} XYZ = 0.$$

Dividiendo por  $XYZ \neq 0$ , obtenemos:

$$\frac{1}{Z} \left( \frac{d^2 Z}{dz^2} \right) + \frac{r}{D} = - \left( \frac{1}{X} \frac{d^2 X}{dx^2} + \frac{1}{Y} \frac{d^2 Y}{dy^2} \right) \quad (1.14)$$

Las partes izquierda y derecha de la ecuación anterior, son funciones de variables independientes, las cuales deben tener un valor constante, que llamamos  $k^2$ .

De la parte izquierda de la Ec. (1.14) obtenemos:

$$\frac{d^2 Z}{dz^2} + \left( \frac{r}{D} - k^2 \right) Z = 0, \quad (1.15)$$

y de la parte derecha de la Ec. (1.14) tenemos,

$$-\frac{1}{X} \frac{d^2 X}{dx^2} = k^2 + \frac{1}{Y} \frac{d^2 Y}{dy^2} = k_x^2,$$

pues otra vez, ambos lados son funciones de variables independientes.

Así,

$$\frac{d^2 Y}{dy^2} + k_x^2 Y = 0, \quad (1.16)$$

y

$$\frac{d^2 Y}{dy^2} + (k^2 - k_x^2) Y = 0 \quad \text{o} \quad \frac{d^2 Y}{dy^2} + k_y^2 Y = 0, \quad (1.17)$$

entonces

$$k^2 = k_x^2 + k_y^2.$$

De la Ec. (1.15), si  $\frac{r}{D} - k^2 = -\lambda^2 < 0$ , entonces

$$Z(z) = c_0 e^{\lambda z}.$$

De las Ecuaciones (1.16) y (1.17) tenemos que:

$$X(x) = \sin \frac{m_x \pi x}{l_x}, \quad m_x = 1, 2, \dots$$

$$Y(y) = \sin \frac{m_y \pi y}{l_y}, \quad m_y = 1, 2, \dots$$

donde,

$$k_x = \frac{m_x \pi}{l_x} \quad \text{y} \quad k_y = \frac{m_y \pi}{l_y}.$$

La solución en las direcciones  $x$  y  $y$  que coinciden con nuestras condiciones de frontera son simplemente números integrales de onda semi senoidales.

Finalmente sustituyendo las expresiones de  $X(x)$ ,  $Y(y)$  y  $Z(z)$  en la Ec. (1.14), obtenemos:

$$\frac{r}{D} = \frac{m_x^2 \pi^2}{l_x^2} + \frac{m_y^2 \pi^2}{l_y^2} - \lambda^2. \quad (1.18)$$

Esta relación es fundamental en el análisis del modelo.

### 1.2.3. Constantes de reacción-difusión: El número de Saunders

A continuación veremos una cantidad fundamental que nos ayuda a determinar las constantes que controlan el comportamiento de la solución de la Ec. (1.6), tales constantes también son responsables de reproducir el patrón que se forma durante el desarrollo de la extremidad.

Como vimos anteriormente, la solución de la Ec. (1.6) esta dada por el producto de las expresiones,

$$X(x) = \sin \frac{m_x \pi x}{l_x}, \quad m_x = 1, 2, \dots \quad (1.19)$$

$$Y(y) = \sin \frac{m_y \pi y}{l_y}, \quad m_y = 1, 2, \dots \quad (1.20)$$

$$Z(z) = c_0 e^{\lambda z} \quad (1.21)$$

En las expresiones para  $X(x)$  y  $Y(y)$ ,  $l_x$  y  $l_y$  en el denominador de los argumentos, son las longitudes constantes a través de los ejes dorsoventral y anteroposterior, respectivamente; y  $\lambda$  en la expresión para  $Z(z)$  esta relacionada a  $d$ , la longitud proximodistal de la cámara de difusión la cual tomará valores discretos cuando ocurra la aproximación de la diferenciación.

El producto de las expresiones

$$X(x)Y(y)Z(z),$$

es igual a  $c$ , que es el desplazamiento ajustado de la concentración de  $M$  desde un valor característico transitorio espacialmente homogéneo de la mesénquima antes de que inicie el crecimiento de la extremidad.

La relación entre los valores de los argumentos permisibles para la unión de la Ec. (1.19) con la Ec. (1.21) y las constantes de reacción-difusión del sistema están dados por

$$\frac{rl_y^2}{\pi^2 D} \equiv S = \frac{m_x^2}{(l_x/l_y)^2} + m_y^2 - \frac{\lambda^2 l_y^2}{\pi^2} \quad (1.22)$$

la cual es deducida de la Ec. (1.18). Nos referimos al número  $S$  como el *número de Saunders*, debido a que J. W. Saunders fue quien descubrió la formación del patrón esquelético de la extremidad en la secuencia proximo-distal de la extremidad [17]. Ésta es la cantidad fundamental a la que nos referimos anteriormente.

En [13] Newman y Frisch estimaron el valor de  $D$  en la Eq. (1.22) con el orden de  $2 \times 10^{-7}$  centímetros cuadrados por segundo, que es alrededor de dos tercios del valor del coeficiente de difusión en el agua para una proteína con peso molecular de  $4,4 \times 10^5$ .

Una medida promediada del valor de  $l_y$  para el brote de la extremidad del ave es  $1,4 \times 10^{-1} cm$ , por lo cual  $l_y^2$  es  $2 \times 10^{-2} cm^2$ . El cuadrado de  $\pi$  esta alrededor de 10, y  $r$ , que puede ser considerado como el inverso del tiempo de relajación característica del proceso de la formación del patrón, en el cual cambios detectables toman lugar hora tras hora, es del orden  $6 \times 10^{-4} sec^{-1}$ . Estas cifras establecen un valor físicamente aceptable como  $S \approx 6$ .

Ahora proporcionaremos estimaciones de los valores de los parámetros físicos del lado derecho de la Ec. (1.22). Valores promediados para las cantidades  $l_x$  y  $l_y$  de  $0,4mm$  y  $1,4mm$ , respectivamente, están disponibles en el trabajo de Stark y Searls [19]. Los valores de la longitud  $d$  de la cámara cuando varios elementos esqueléticos están contemplados, se pueden deducir de las medidas hechas por Stark y Searls [19], y Summerbell [20].

Por último, la elección de un valor para  $\lambda$  determinará directamente la relación entre el tamaño de la cámara y número de modos (formas en el patrón) en el lado derecho de la Ec. (1.22), teniendo en cuenta que el lado izquierdo es constante. La interpretación física de  $\lambda$ , la cual puede ser conjeturada de la Ec. (1.21) y de la Figura 1.6 (a), es que  $\lambda$  fija el radio de los valores máximos permitidos para  $c$  en las caras distal y proximal de la cámara de difusión.

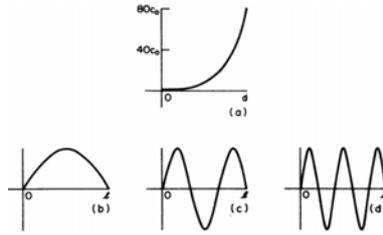


Figura 1.6: Gráficas de las funciones que constituyen conjuntamente las soluciones de la Ec.(1.6). (a) Componente  $Z(z)$  de la solución; (B) Componentes  $X(x)$  o  $Y(y)$  donde  $m = 1$ ; (C) Componentes  $X(x)$  o  $Y(y)$ , donde  $m = 3$ ; y (d) Componentes  $X(x)$  o  $Y(y)$ , donde  $m = 5$ .

#### 1.2.4. Formación del patrón durante el brote de la extremidad

A continuación describiremos el proceso de desarrollo de las extremidades que se rige por la ecuación de reacción-difusión, Ec. (1.6), sujeto a las limitaciones físicas adecuadas Ec. (1.22) y las limitaciones biológicas sobre la disponibilidad de células condrogénicamente competentes. Vamos a omitir los criterios biológicos de la condensación precondrogénica pero se pueden consultar en [13].

Para empezar, suponemos que se establece un gradiente lineal proximo-distal de una sustancia  $I$  que actúa como una fuente para iniciar el foco condrogénico en la etapa inicial del proceso. En esta etapa el brote de la extremidad mide aproximadamente  $0,7mm$  de longitud. Usando este valor para  $d$  en la Ecuación (1.22) y haciendo  $l_x = 0,4mm$ ,  $l_y = 1,4mm$  y  $\lambda = 4,4/d$ , obtenemos que

$$S = 12,5m_x^2 + m_y^2 - 7,8 \quad (1.23)$$

Si  $m_x$  y  $m_y$  se toman de tal forma que sean 1, esto dará un valor para  $S$  de 5.7, el cual es del orden de magnitud previamente estimado para el número de Saunders. En esta etapa el húmero se hace evidente por primera vez.

Con esta elección para las  $m$ 's, la forma funcional asumida por  $X(x)$  y  $Y(y)$  se muestra en la Figura 1.6 b). Por lo tanto en cualquier nivel a lo largo del eje  $z$ , los valores de  $c$  para los cuales se puede generar diferenciación celular en cartílago, se encuentran en una región en el centro de la sección transversal, tal como se especifica por el producto de  $X(x)$  e  $Y(y)$  que se muestra en la Figura 1.7 a). El húmero comenzará a formarse en el campo de

las células competentes en el tercio proximal de la extremidad, reduciendo repentinamente el tamaño de la cámara de difusión.

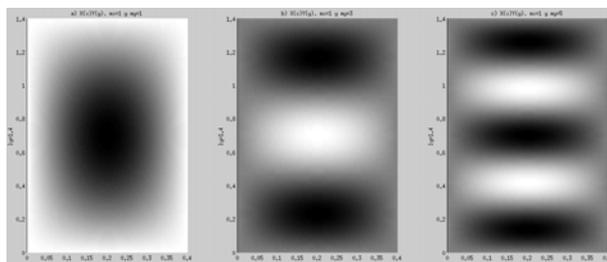


Figura 1.7: Producto de funciones  $X(x)Y(y)$  vistas en dirección del eje  $z$ . Se representan las funciones de la Figura 1.6, cuando (a)  $m_x = 1$ ,  $m_y = 1$ ; (b)  $m_x = 1$ ;  $m_y = 3$ ; (c)  $m_x = 1$ ,  $m_y = 5$ . Ese producto de funciones indica la distribución del morfógeno  $M$  en el corte transversal de la cámara de difusión en varios tiempos del desarrollo.

Los detalles del desarrollo para el resto del proceso dependerán críticamente del tamaño real de la cámara de difusión en el momento en que se establezca un nuevo gradiente lineal para la producción del morfógeno. El proceso sólo cesará cuando se reduce la producción de  $I$ , posiblemente por una atenuación de la actividad en la punta de la extremidad. Entonces todas las células en la cámara se vuelven competentes para responder a  $M$ , agotando cualquier potencial para la adición posterior de elementos. El patrón temporal y espacial de los elementos esqueléticos generados por el modelo analizado se representa en la Figura 1.8.



Figura 1.8: Patrones condrogénicos predichos por el modelo descrito en etapas sucesivas del desarrollo. El alargamiento de los “elementos esqueléticos” se basa en mediciones empíricas. La parte sólida oscura representa cartílago o condensación de precartílago; la parte punteada representa la distribución hipotética del morfógeno  $M$  en el tejido anterior evidente de la condrogénesis. Los números indican las etapas Hamburger-Hamilton del modelo [8].

Finalmente, cabe mencionar que el problema con este modelo es que el patrón que se genera no es capaz de construirse como una evolución a través del tiempo, pues como ya vimos, depende en mayor parte del número de Saunders, el cual depende directamente de la longitud de la cámara de difusión. Sin embargo en años posteriores (2007), Newman ajusta su modelo con el nuevo enfoque de activación-inhibición para solucionar este problema [14]. En el siguiente capítulo veremos a que nos referimos con este nuevo enfoque.

## Capítulo 2

# Mecanismo de activación-inhibición

### 2.1. El sistema de activación-inhibición

En este capítulo nos concentraremos en la generalización de la Ec. (1.4) en el caso cuando existen, por ejemplo, varias especies o sustancias químicas interactuando para determinar un fenómeno específico, en este caso tenemos un vector  $u_i(x, t), i = 1, \dots, m$  de densidades o concentraciones, cada una difundiéndose con su propio coeficiente de difusión  $D_i$  e interactuando de acuerdo al vector de término fuente  $f$ . Entonces la Ec. (1.4) se vuelve,

$$\frac{\partial u}{\partial t} = f + \nabla \cdot (D \nabla u), \quad (2.1)$$

donde  $D$  es una matriz de difusividades la cual, si no hay cruce de difusión entre las especies, es simplemente una matriz diagonal. En la Ec. (2.1)  $\nabla u$  es un tensor por lo cual  $\nabla \cdot (D \nabla u)$  es un vector. Nos referimos a la Ec. (2.1) como *sistema de reacción-difusión*. Este mecanismo también fue propuesto como un modelo para la base química de la morfogénesis por Turing (1952) [23]. Tales sistemas han sido estudiados desde alrededor de 1970. Las generalizaciones cuando  $D$  no es diagonal o hay términos integrales en  $f$  aparecen en algunos modelos que involucran mutación de células cancerígenas. Para más ejemplos puede ver [11].

Para tener una idea más clara sobre el comportamiento de este tipo de sistemas, a continuación trataremos con modelos para dos sustancias químicas,

digamos  $A(r, t)$  y  $B(r, t)$ . Entonces el sistema de ecuaciones es de la forma,

$$\begin{aligned}\frac{\partial A}{\partial t} &= F(A, B) + D_A \nabla^2 A, \\ \frac{\partial B}{\partial t} &= G(A, B) + D_B \nabla^2 B,\end{aligned}\tag{2.2}$$

donde  $F$  y  $G$  representan las cinéticas, que siempre serán no lineales.

Turing (1952) dijo que en la ausencia de difusión (cuando  $D_A = D_B = 0$ ),  $A$  y  $B$  tienden a un estado estacionario linealmente estable [23], entonces bajo ciertas condiciones, patrones espacialmente no homogéneos pueden evolucionar a causa de la difusión inestable si  $D_A \neq D_B$ .

Cabe mencionar que durante la construcción de modelos a menudo es útil y de ayuda intuitiva expresar los mecanismos cinéticos en términos esquemáticos con alguna convención para indicar autocatálisis, activación, inhibición, degradación y difusión desigual. Por ejemplo, si consideramos el mecanismo de activación-inhibición sugerido en 1972 por Gierer y Meinhardt [6] en donde proponen una teoría sobre la formación de patrones biológicos, la cual dice que las concentraciones máximas de sustancias que forman patrones están generadas por “auto-reproducción local” además de inhibición de largo alcance. Este mecanismo, propuesto por Gierer y Meinhardt, es equivalente al sistema,

$$\begin{aligned}\frac{\partial u}{\partial t} &= a - bu + \left(\frac{u^2}{v}\right) + \nabla^2 u, \\ \frac{\partial v}{\partial t} &= u^2 - v + d\nabla^2 v,\end{aligned}\tag{2.3}$$

donde  $u$  representa la concentración de un morfógeno que se auto-activa (gracias al término  $u^2$ ) y  $v$  determina su inhibición [12]. Una representación esquemática para éste sistema se muestra en la Figura 2.1.

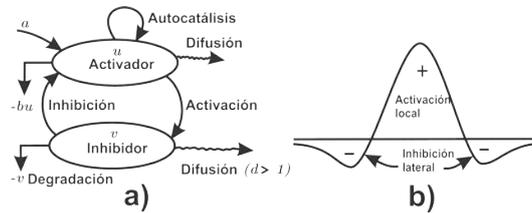


Figura 2.1: a) Representación esquemática del sistema activador-inhibidor (2.3). b) Representación espacial de activación local y rango lateral de inhibición.

Una aplicación más concreta de los mecanismos de reacción-difusión por inhibición lateral se puede ver en el trabajo de Gierer (1991) en donde se estudia la regulación y reproducibilidad de la morfogénesis [7].

## 2.2. Regulación y Reproducibilidad de la morfogénesis

Como mencionamos en la introducción de este trabajo, los procesos de formación de patrones están determinados por la producción de sustancias químicas o morfógenos que se distribuyen en ciertas regiones. En 1991 A. Gierer estableció mecanismos requeridos para generar estructuras complejas bien definidas por medio de sistemas activador-inhibidor que modelan la regulación y reproducibilidad de morfógenos. Dichos mecanismos regulan la generación de concentración espacial de patrones que aparecen por interacción de activación de rango corto y efectos inhibidores de rango largo; una vez que se establecen las concentraciones, pueden funcionar como “campos morfogenéticos” que dirigen la organización espacial en células y tejidos capaces de generar estructuras complejas definidas. A continuación vamos a mostrar el modelo propuesto por Gierer.

### 2.2.1. Regulación y generación de modelos

El mecanismo propuesto por Gierer dice que la regulación del desarrollo morfogenético resulta si el rango de inhibición excede el tamaño total del campo en donde se produce un morfógeno; y si la cinética de la activación del morfógeno es tal que la concentración de activador no puede exceder localmente un nivel de saturación; bajo esas condiciones la activación invade el campo hasta alcanzar cierto nivel de inhibición. Esto ocurre en una proporción fija del área activada en relación al tamaño total del campo, llevando a una regulación morfogenética que define un patrón.

Las condiciones para la formación de patrones por autocatálisis e inhibición lateral se pueden expresar matemáticamente si se aproxima la producción y eliminación cinética para un activador  $a(x, t)$  y un inhibidor  $h(x, t)$  por términos con potencias, y se asume la degradación o tasas que sean proporcionales a  $a$  y  $h$ , respectivamente. El modelo propuesto por Gierer es un

sistema activador-inhibidor que tiene la siguiente forma,

$$\begin{aligned}\frac{\partial a}{\partial t} &= c \frac{a^k}{h^l} - \mu a + \mu r_a^2 \frac{\partial^2 a}{\partial x^2} \\ \frac{\partial h}{\partial t} &= c' \frac{a^m}{h^n} - \nu h + \nu r_h^2 \frac{\partial^2 h}{\partial x^2},\end{aligned}\tag{2.4}$$

con constantes de difusión  $D_a$  y  $D_h$  para el activador e inhibidor, respectivamente, los rangos están dados por  $r_a = \sqrt{D_a/\mu}$  y  $r_h = \sqrt{D_h/\nu}$ .

Las constantes adecuadas para éste modelo determinan la regulación y reproducibilidad de la morfogénesis en términos de la concentración espacio-temporal de un morfógeno que actúa como activador y otro que actúa como inhibidor. La interpretación detallada del modelo se puede estudiar en [7].

### 2.2.2. Evolución de caminos morfogénéticos reproducibles

Mediante muchos procesos de desarrollo se han detectado propiedades características que regulan campos morfogénéticos, pero el grado de su ocurrencia aún no es conocido. Haciendo énfasis sobre los aspectos evolutivos de la formación de patrones, se sugieren las siguientes conclusiones:

- Las concentraciones espaciales de patrones que actúan como campos morfogénéticos se requieren para desarrollos reproducibles complejos; los mecanismos basados en diferenciación celular, movimiento celular e inducción contacto-mediado pueden implicar que pequeñas desviaciones en etapas tempranas pueden desorganizar el desarrollo posterior. Es muy probable que la morfogénesis pierda el grado de reproducibilidad funcionalmente necesaria y se puedan adquirir características caóticas.
- Se pueden reproducir procesos bio-químicos que nos son procesos tiempo-controlados. Más bien aparecen como una aproximación a estados de equilibrio estables.
- Al menos algunas de las características reguladoras parecen estar basadas en campos morfogénéticos que pueden surgir por la interacción de activación e inhibición entre y a través del tejido en desarrollo.

# Conclusiones

Como pudimos ver en el Capítulo 1, con un simple morfógeno es posible generar patrones tan complejos como los que se mostraron en nuestros experimentos numéricos, sin embargo considerando suficiente información sobre el comportamiento biológico de algún fenómeno, podemos construir modelos para generar patrones que se forman durante procesos biológicos de la vida real; tal es el caso del modelo que revisamos sobre la formación del patrón esquelético en el desarrollo de extremidades de un ave [13].

Por otro lado, como vimos en el Capítulo 2, podemos generalizar el mecanismo propuesto en [13] para poder construir modelos en donde interactúan diferentes morfógenos. Esto es de gran utilidad ya que, por lo general, en los fenómenos biológicos interactúan diferentes morfógenos. En este caso, hemos considerado sólo dos morfógenos interactuando entre si, uno actuando como activador para que cierto fenómeno ocurra y otro actuando como inhibidor del fenómeno. Posteriormente se han hecho trabajos en donde se estudia la parte teórica de estos sistemas, por ejemplo Dockery (1992) muestra la existencia de ondas estacionarias como soluciones para un sistema de reacción-difusión, usando como herramienta el análisis de perturbación singular [4].

Finalmente con respecto al impacto de investigación actual sobre el tema de la formación de patrones, cabe mencionar que se han hecho algunas generalizaciones sobre los mecanismos tipo Turing, realizadas por investigadores de la UNAM, tal es el caso del trabajo hecho por Ramón Plaza, Pablo Padilla, Faustino Sánchez y R. A. Barrio, en donde se estudia este tipo de mecanismos en dominios que crecen y que tienen diferentes geometrías [16]. Con respecto a la no autonomía de los mecanismos tipo Turing, uno de los trabajos más recientes (2016) sobre los sistemas de reacción-difusión, es el trabajo “A three-scale model of spatio-temporal bursting”, realizado por Alessio Franci *et al.* en donde también se aplica el análisis de perturbación singular [5].

# Bibliografía

- [1] A. Caplan *Exp. Cell Res. Hall, Developmental and Cellular Skeletal Biology*, Academic Press, New York, (1978).
- [2] D. S. Dawd and J. R. Hinchliffe, J, *Embryol. Exp. Morphol.* 26, 401, (1971).
- [3] S. R. Dienstman, J. Biehl, S. Holtzer, H. Holtzer *Dev. Biol.*, 39, 83 (1974).
- [4] J. D. Dockery, *Existence of standing pulse solutions for an excitable activator-inhibitory system*, Journal of Dynamics and Differential Equations, pp. 231-257, (1992).
- [5] A Franci and R. Sepulchre, *A three-scale model of spatio-temporal bursting*, SIAM J Appl Dyn Syst. (2016) (<http://arxiv.org/abs/1510.08938>)
- [6] A. Gierer, H. Meinhardt, *A theory of biological pattern formation* , Kybernetik, 12:30±39, (1972).
- [7] A. Gierer, *Regulation and reproducibility of morphogenesis*, Seminars in developmental biology, Vol 2, pp. 83-89, (1991).
- [8] V. Hamburger and H. L. Hamilton , *J. Morphol.*88, 49, (1951).
- [9] S. A. Kauffman, R. M. Shymko, K. Trabert, *Science* 199, 259, (1978).
- [10] C. A. Lewis, R. M. Pratt, J. P. Pennypacker, J. R. Hassell, J. Gross *Dev. Biol.* 64, 31, (1978).
- [11] J. D. Murray , *Mathematical Biology I: An introduction* Third Edition, Ed. Springer (2002).
- [12] J. D. Murray , *Mathematical Biology II: Spatial Models and Biomedical Applications* Third Edition, Ed. Springer (2003).
- [13] S. A. Newman and H. L. Frisch, *Dynamics of skeletal pattern formation in developing chick limb*, Science, Vol. 205, pp. 662-668, (1979).

- [14] S. A. Newman and R. Bhat, *Activator-Inhibitor Dynamics of Vertebrate Limb Pattern Formation*, Science, Vol. 205, pp. 662-668.
- [15] S. A. Newman *in Vertebrate Limb and Somite Morphogenesis*, D. A. Ede, J. R. Hinchliffe, M. Balls, Eds. (Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1977), p. 181.
- [16] R. G. Plaza, F. Sánchez-Garduño, P. Padilla, R. A. Barrio, and P. K. Maini, *The Effect of Growth and Curvature on Pattern Formation*, Journal of Dynamics and Differential Equations, Vol. 16, No. 4, (2004).
- [17] J. W. Saunders, Jr., J. , *Exp. Zool.* 108, 363, (1948).
- [18] R. L. Searls , *Dev. Biol.* 11, 155, (1965).
- [19] R. J. Stark and R. L. Searls, *Dev. Biol.* 33, 138 , (1973).
- [20] D. Summerbell , *ibid.* 35, 241 , (1976).
- [21] P. V. Thorogood and J. R. Hinchliffe, *J. Embryol. Exp. Morphol.* 33, 581, (1975).
- [22] B. P. Toole, G. Jackson, J. Gross *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 69, 1384, (1972).
- [23] A. M. Turing, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* 237, 32, (1952).