



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

FACULTAD DE CIENCIAS

INSTITUTO DE FÍSICA

UNAM

**Mecanismos morfogenéticos de los patrones de color en  
vertebrados**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**DOCTORA EN CIENCIAS**

PRESENTA:

**LORENA DEL CARMEN CABALLERO CORONADO**

**TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS:**

**DR. GERMINAL ADONIS COCHO GIL. INSTITUTO DE FÍSICA, UNAM.**

**COMITÉ TUTORAL:**

**DRA. DENÍ CLAUDIA RODRIGUEZ VARGAS. FACULTAD DE  
CIENCIAS, UNAM.**

**DR. PEDRO EDUARDO MIRAMONTES VIDAL. FACULTAD DE  
CIENCIAS, UNAM.**

MÉXICO, D.F. Enero de 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.



## **Agradecimientos**

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

Al CONACYT por la beca que me otorgó para realizar mis estudios de doctorado  
y al comité tutorial conformado por:

Dr. Germinal Adonis Cocho Gil.

Dra. Dení Claudia Rodríguez Vargas.

Dr. Pedro Dduardo Miramontes Vidal.

## Agradecimientos

Al posgrado en ciencias biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme realizar mi posgrado.

Al CONACyT por la beca otorgada.

A la facultad de Ciencias y en particular a la oficina del posgrado por todos los trámites y por su buena voluntad para hacerlos.

Al Instituto de Física de la UNAM del cual soy estudiante asociada y he recibido un lugar de trabajo, muchos amigos y muchísimo apoyo.

A Germinal Cocho, por lo increíblemente brillante, por sus grandiosas ideas y por lo generoso que es al compartirlas, por su incansable curiosidad; por sus enseñanzas, amistad y cariño.

A Dení Rodríguez por sus consejos tan valiosos, por su amistad e interés por mi formación no sólo académica.

A Pedro Miramontes por que sin su influencia no estaría en estos lugares.

A Elena Alvarez-Buylla por todo su cariño y rescates varios.

A Denis Boyer, Octavio Miramontes y Arturo Becerra de quienes he aprendido mucho.

Al Seminario de Biología Teórica.

A Natalia, Dani, Checo, Victor, Barbara, Felix, Octavio, Alex, Karen, Mayo, Andreita, Lorea, Vale, Esther, Eli, Euge, Alma, Denisse y Julio, a Sandrita porque los quiero un chorro.

A Marianita por tantas cosas incontables que me hacen quererla profundamente.

A mi mamita tan lejos y tan cerca, siempre cerca. A Bob por supuesto, siempre dándome ánimos y teniendo tanta fe en mi.

A mi Papito y Alice, por su cariño siempre.

A mi hermanita que por suerte la tengo, la adoro es hermosa en todo, a sus preciosos hijos, y a Jaime por su apoyo en muchos sentidos.

A los Sánchez Miranda por aguantarme, por cuidar con tanto amor a mis hijos.

Al Dr. Bárcenas por su apoyo medico, emocional y laboral.

Al Herminio, Willy, Norma y Marita, a sus maestros por enseñar y querer a mis hijos.

Al IE por su enorme cariño que se reproduce ahora en mis hijos.

A los que ya no están y serían felices por mis logros, mis abuelos, mi tío Jaime y Miguel.

Y a lo más importante de mi existencia, a Arturo de quien soy su fan, lo admiro, amo y agradezco eternamente por estar conmigo.

Martina y Patricio que con palabras no se describe lo que los amo.

# Índice

|  |    |
|--|----|
| Agradecimientos.....   | 4  |
| Resumen.....   | 8  |
| Abstract.....  | 9  |
| Introducción.....  | 10 |
| El universo de los patrones.....   | 11 |
| <b>Capítulo 1</b>  |    |
| La biología teórica y la biología conceptual como modelo de análisis en biología.....                  | 19 |
| 1.1 Propuesta metodológica.....  | 20 |
| 1.2 Los mecanismos morfogénéticos.....   | 25 |
| 1.3 Las bases químicas de la morfogénesis, los patrones de Turing y el modelo que hemos propuesto..... | 30 |
| <b>Capítulo 2</b>  |    |
| Mecanismos epigenéticos de los patrones de color.....  | 35 |
| 2.1 Morfogénesis: Adhesividad diferencial y matriz extracelular.....                                   | 39 |
| 2.2 Morfogénesis y tensegridad: estabilidad tensional en las formas vivas y los patrones de color..... | 42 |
| 2.3 Morfogénesis: interacción epitelio mesénquima y los patrones de color.....                         | 49 |
| <b>Capítulo 3</b>  |    |
| Un modelo acerca de la morfogénesis de los patrones de color.....                                      | 53 |
| 3.1 Patrones de color en Urodelos .....  | 60 |
| 3.2 Morfogénesis y modelación de patrones de color.....  | 62 |
| 3.3 Especificación del modelo Físico .....   | 69 |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Cohesión: tensión lineal .....</b>  | <b>70</b> |
| <b>Interacciones uniformes de mojado con el fondo .....</b>  | <b>72</b> |
| <b>Tensión lineal .....</b>  | <b>74</b> |
| <b>3.4 Modelo matemático. Una descripción matemática de la gota .....</b>  | <b>77</b> |
| <b>Tabla 1. Evidencia físicas y biológicas que apoyan la analogía de las gotas de líquido y el modelo mecanoquímico propuesto.....</b> | <b>81</b> |
| <b>3.5 Potenciales de adhesividad asociados a los patrones de color .....</b>  | <b>82</b> |
| <b>Discusión .....</b>   | <b>88</b> |
| <b>Conclusión.....</b>   | <b>91</b> |
| <b>Bibliografía.....</b>   | <b>93</b> |
| <b>Apéndices</b>   |           |

## Resumen

Los patrones de pigmentación en animales se generan generalmente en estados tempranos del desarrollo embrionario, y tienen importancia ecológica, fisiológica, etológica, y evolutiva. A pesar de la simplicidad geométrica de dichos patrones de color, su emergencia depende de procesos multinivel complejos. Por ello los modelos teóricos se convierten en herramientas necesarias para entender cómo este tipo de patrones emerge. Estudios recientes han evaluado la importancia de la epigenética en la formación de patrones en el desarrollo, en conjunto con los factores genéticos. Sin embargo los fenómenos epigenéticos, especialmente los relacionados con los procesos físicos, que podrían estar involucrados en la emergencia de patrones de color, no han sido del todo explorados. En esta tesis, se propone un modelo para estudiar el origen de los patrones de color en el que los aspectos epigenéticos como la migración celular, la interacción tejido-célula, célula-célula, los fenómenos físicos y mecánicos son centrales para entender la morfogénesis. Este modelo considera que las células que migran y se mueven, embebidas en una matriz o mesénquima de características visco-elásticas y fibrosas, pueden deformarse a medida que su propio movimiento genera líneas de tensión. A partir de ello postulo que estas huellas actúan como guías de la subsecuente migración y establecimiento celular, generando interacciones de corto y largo alcance. En este trabajo se describen algunos aspectos generales de los fenómenos de desarrollo con un modelo matemático sencillo con el fin de generar una discusión en el contexto de evidencia experimental y morfológica en reptiles, anfibios y peces, y comparándolo con otros modelos de patrones. De esta manera se proponen predicciones derivadas del modelo y se discute cómo esta propuesta puede constituir un módulo o conjunto generador de patrones dinámicos durante el desarrollo en muchos linajes de vertebrados.



## **Abstract**

Pigmentation patterns in animals generally occur in the early stages of embryonic development, and have ecological, physiological, ethological, and evolutionary. Although geometric simplicity of said color patterns, the emergency dependent complex multilevel processes. Thus the theoretical models become tools to understand how this type of pattern emerges. Recent studies have evaluated the importance of epigenetic pattern formation in development, together with genetic factors. However epigenetic phenomena, especially those related to physical constraints, which could be involved in the emergence of color patterns have not been fully explored. In this thesis, we propose a model of color patterns in which epigenetic aspects as cell migration, tissue-cell interaction, cell-cell interaction, physical and mechanical phenomena are central to understanding morphogenesis. This model considers that the motile cells embedded in a matrix or mesenchyme with visco-elastic and fibrous characteristics can deform and form tension lines. From this postulate that these tracks act as guides for subsequent cell migration and cell-establishment, generating short and long range interactions. This thesis describes some general aspects of development phenomena with simple mathematical model in order to generate a discussion in the context of experimental and morphological evidence in reptiles, amphibians and fish, comparing it with other models of patterns. In this way, predictions derived from the model proposed and considers how this proposal can be a module or a generator set of dynamic patterns during development in many vertebrate lineages.

## Introducción

En esta sección quisiera hablar de la razón por la cual hemos trabajado con los patrones de color en los vertebrados y de los diversos factores que convergen en la generación de dichos patrones.

Esta tesis se enmarca en una visión compleja del problema de la forma por lo tanto hablaré de muchas variables que participan en la biología de los patrones de color, desde luego no se podrá abarcar todas, sin embargo pretendo plantear un modelo completo e integral de las diversas interacciones biológicas que participan. Para establecer este planteamiento es importante mencionar una gran cantidad de información la cual forma parte de los resultados de este estudio y que formará parte de los diferentes capítulos de esta tesis.

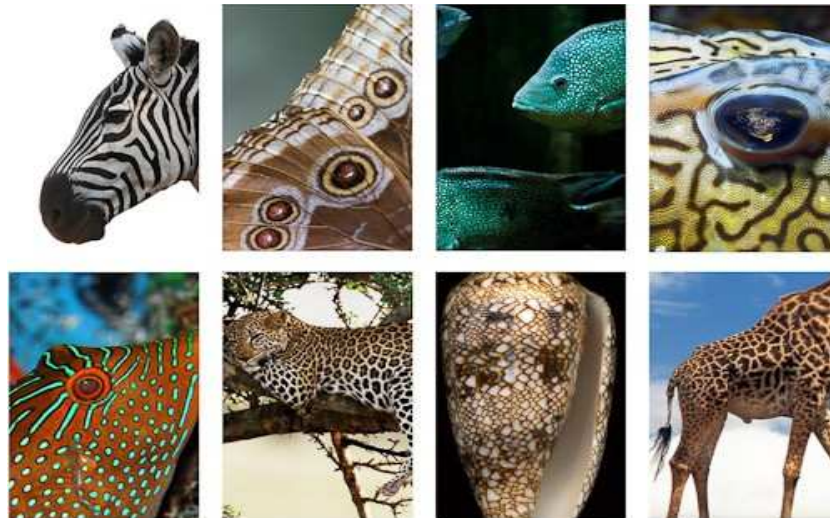
A lo largo de esta tesis se hablará de los patrones de manera general para después a lo largo del trabajo, mencionar los mecanismos implicados en la propuesta de la morfogénesis de los patrones de color desde un enfoque que surge de la interacción de lo biológico con lo físico y de cómo ambos conviven y promueven mecanismos generales en el desarrollo.

Éste es uno de los puntos cruciales en el trabajo, la potencialidad que genera entender los mecanismos del desarrollo, nos abre una gran cantidad de respuestas en las que podemos entender cómo surgen formas geométricas en la piel de los vertebrados y otros organismos, pero a la vez cómo se comunican, conectan, diferencian, y se mueven células y tejido; es decir de cómo podemos cambiar y generar diversos tipos celulares a partir de un mismo genoma, tema central del programa de la biología evolutiva del desarrollo o Evodevo. Para la Evodevo es prioridad entender cómo surgen las formas vivas, cómo se mantienen y evolucionan. Es decir si conocemos las bases biológicas de las primeras interacciones celulares en el desarrollo incluso de organizaciones celulares simples, podemos entender problemas centrales de la vida, de la forma, de la estructura y el tamaño, entre otras (Raff A. R. 2000, 1996; Caballero, 2008b; Benítez, 2011).

Esta tesis está enmarcada en la biología teórica para la cual es fundamental generar información integral que nos ayude a avanzar en el conocimiento de los mecanismos cruciales que participan en la emergencia y evolución de la vida. Este trabajo trata de aproximarse a una idea simple de la

biología de los patrones, que creemos será muy útil para avanzar en la comprensión de las interacciones que existen entre los sistemas vivos y físicos en el desarrollo y mantenimiento de tejidos, estableciendo una dimensión distinta de información, un sistema de comunicación eficiente que orchestra las complejas redes de genes, las relaciones proteicas y las leyes que rigen la materia.

## El universo de los patrones



Fotos de algunos patrones de color que observamos en los animales, en este caso vertebrados e invertebrados

([http://dthostu.com/alex-k-wolfe/wp-content/uploads/rxd\\_nature1.jpg](http://dthostu.com/alex-k-wolfe/wp-content/uploads/rxd_nature1.jpg))

*“..El grado en que uno puede comprender un sistema complejo mediante la búsqueda y descripción de la simetría de sus formas es realmente muy limitada. Resulta que sólo hay unas pocas formas en las que la simetría se pueden producir, y esto significa que hay relativamente pocos tipos posibles de simetría.”<sup>1</sup>*

*C. H. Waddington en Tools for Thought, pag. 38, 1977*

Una de las cosas de las cuales podemos tener certeza en la naturaleza es de la existencia de patrones, de estructuras, de figuras hermosas como podemos ver en la imagen que abre esta sección. En función de ello es posible inferir que esta es una de las razones por la cual la

---

<sup>1</sup> The degree to which one can understand a complex system by finding and describing a symmetry of its shapes is really very limited. it turns out that there are only a few ways in which symmetry can be produced, and this means there are relatively few possible types of symmetry.

humanidad a lo largo de la historia, ha desarrollado sistemas de pensamiento que nos ayudan a reconocer, clasificar, entender, e incluso reproducir los patrones existentes en el universo. Es decir, la existencia de patrones es considerada como universal. Definir que es un patrón, por lo tanto, podría ayudarnos a comprender por qué los sistemas naturales generan patrones.

Un patrón es cualquier estructura con un orden espaciotemporal. Este orden espaciotemporal puede presentarse a diferentes escalas y niveles de organización que van desde niveles microscópicos como son por ejemplo las partículas, los átomos, las moléculas; microscópicos como las células, y macroscópicos como los organismos, los tejidos, los sistemas, los ecosistemas, los sistemas solares, galaxias, etc (Koch y meinhardt, 1994).

Si tratamos de pensar en las formas que nos vienen a la mente en cada uno de los ejemplos mencionados en el párrafo anterior, podremos definir estructuras genéricas y por lo tanto patrones. Pero ¿cuál es la razón de que en la naturaleza existan patrones?, ¿por qué parece tan creativa, mostrándonos una increíble capacidad para generar orden espacial? éstas son las preguntas que los científicos se hacen constantemente y ha sido en buena medida gracias al desarrollo de los estudios en sistemas complejos que se ha avanzado vertiginosamente en la comprensión de la emergencia de patrones en la naturaleza (Kauffman, 1993).

El pensamiento complejo ha estado presente en la historia de la biología (Caballero, 2008 a), facilitando la integración de acercamientos en el marco de las ciencias de la complejidad para el estudio de fenómenos de diferente naturaleza en un marco de estudio conjunto. Asimismo el avance en el estudio de los sistemas complejos ha permitido identificar mecanismos básicos comunes como características inherentes a los sistemas complejos; siendo uno de ellos el fenómeno de emergencia.

La emergencia de propiedades colectivas a partir de mecanismos generadores en sistemas complejos puede observarse en distintas escalas, desde las galaxias en el universo hasta las redes de genes dentro de una célula, así como en diferentes tipos de sistema, físicos, biológicos, sociales y culturales (Goodwin 1994; Martínez-Meckler y Cocho 1998). La comprensión de los seres vivos como sistema complejo requiere explorar la emergencia de las formas biológicas,

considerando las relaciones entre sus elementos celulares, y ambientales, que como partes del sistema se regulan entre sí (Caballero, et al., en prensa).

Podemos definir la emergencia como “el surgimiento de novedosas y coherentes estructuras, patrones y propiedades durante el proceso de autoorganización en los sistemas complejos” (Goldstein 1999 en Corning 2002:7 mi traducción). Sus características pueden ser definidas como eventos o cosas no vistas con anterioridad, orden, estructuras en niveles globales perceptibles, producto de un proceso dinámico.

Frecuentemente, la idea de emergencia se explica considerando la interrelación entre niveles de organización en la naturaleza (por ejemplo individuo, población, comunidad y ecosistema), cuyas características emergen a partir de las interacciones que establecen los elementos del nivel inmediatamente más bajo, e incluso, en un proceso de retroalimentación estas características pueden afectar a los componentes de otros niveles de la organización. Una de las características de las propiedades emergentes consiste en que no están centralizadas o codificadas en uno o unos pocos elementos del sistema, sino que son propiedades extendidas que se distribuyen en todos los componentes. Un aspecto importante de la formación de patrones es la universalidad, en la biología vemos rayas en la piel y dunas en el desierto siguiendo los principios de simetría y estabilidad, por lo que son relativamente pocas las formas en los sistemas no lineales (Goodwin, 1994; Lewontin, 2000; Oyama, 1985).

En los sistemas vivos la emergencia es un proceso central para el origen de formas y estructuras. En este proceso interaccionan tanto elementos genéticos como no genéticos. Si bien los genes, regiones del DNA que se heredan de generación en generación, y sus proteínas asociadas son fundamentales para el desarrollo de los seres vivos, durante el desarrollo se observan fenómenos no vinculados directamente con la información genética, como son los fenómenos físicos y químicos de diversa índole: procesos de minimización de la energía, influencia del área y forma del cuerpo de los organismos, tensión superficial, visco-elasticidad, etcétera (Newman, et al., 2006; Trichet, et al., 2012; Di Leonardo, et al., 2008; Beysens et al., 2000; Forgacs et a., 1998). Es por ello imposible aislar el componente genético del resto y es fundamental para este trabajo.

Para entender qué es emergencia podemos utilizar un ejemplo que esclarezca dicho concepto. Si pensamos en un sistema generado por una parvada de aves o un cardumen de peces podemos observar que cada pájaro, pez o individuo vuela o nada a una distancia mínima promedio en un lugar particular de los otros con una dirección promedio igual a la de todos los individuos de la parvada o cardumen. Si juntamos a todos los pájaros o peces que la conforman, podemos ver figuras definidas que evolucionan de manera colectiva en la inmensidad del horizonte o en las profundidades del mar. Esto implica que gracias a la relación de elementos que interaccionan, podemos producir comportamientos colectivos que emergen y forman un patrón, un orden espacio temporal de comportamiento predecible (Couzin et al., 2002).

Otro ejemplo, de especial interés en este trabajo es el de las manchas de color que se presentan en la piel de algunos animales. Estas manchas forman patrones, es decir es posible identificar dominios de células que forman manchas redondas, romboidales, hexagonales o como rayas horizontales y verticales, en especies muy diferentes como son las cebras, las serpientes y los tigres, y sin embargo con características similares. Dicha similitud nos permite hablar de patrones de color, patrones que emergen a partir de la interacción entre células de pigmento y que al observarlas en conjunto generan dichos dibujos que se auto reproducen formando patrones característicos para cada especie, e incluso en algunos casos variaciones con respecto al sexo o dimorfismo sexual, a la edad (es decir cambios durante el desarrollo y vida del organismo) y otros factores dependientes, reflejando todo ello la plasticidad en los fenotipos (West-Eberhard, 1989).

La pregunta es cómo la naturaleza genera mecanismos para establecer estos patrones y cuales son los principios físicos o biológicos subyacentes a dichos mecanismos. Las respuestas pueden ser muchas, pero una de ellas y que funciona en este caso, se vincula con la minimización de la energía, ya que las estructuras generales o patrones básicos en algunas situaciones son energéticamente menos costosos; es importante aclarar que en algunos sistemas de patrones no existe una energía que minimizar, como por ejemplo en los sistemas lejanos al equilibrio en los que emergen patrones por aspectos puramente dinámicos. Pero en el caso de los patrones de color en vertebrados si podemos observar fenómenos de minimización de la energía. Para entender esto Imaginemos que existieran infinitas posibilidades en la naturaleza, ¿cómo sería

nuestro universo?. Si pensamos que todos los seres vivos siguieran leyes propias, sería un mundo sin patrones, completamente desordenado e inimaginable. Por lo tanto en los fenómenos naturales, incluida la vida, se generan patrones o “moldes” para estructurarse, para existir y autogenerarse.

Por esta razón cuando se estudian características generales de los seres vivos, es muy útil tomar en cuenta los comportamientos colectivos a todos los niveles de organización en donde tenemos fenómenos que han sido generados por entidades individuales pero que trabajan en conjunto (Couzin, et al., 2002). Por ejemplo durante el desarrollo de los embriones las células que participan tienen información genética, celular y ambiental acerca del patrón de desarrollo que van a seguir y cada una de las células, mediante la coordinación de un conjunto de patrones locales o módulos hace su trabajo para lograrlo.

Ahora quisiera introducir la importancia de estudiar a las formas vivas como patrones biológicos que son de suma importancia en el estudio del desarrollo y la evolución. La manera en la que se estructuran y evolucionan las formas vivas ha llamado la atención de los científicos, formando parte de una gran cantidad de discusiones que a lo largo de la historia de la ciencia y hasta nuestros días, toman forma en las teorías acerca de la evolución y del desarrollo de los seres vivos (véase por ejemplo Darwin, 2002; Thompson, 1992; Waddington, 1957, 1940, 1962; Gould, 2002, 2003). De esta manera, la biología se ha establecido como una ciencia que se basa en la búsqueda de explicaciones de los procesos implicados en el surgimiento, desarrollo y evolución de las formas vivas, como consecuencia han surgido preguntas importantes acerca de cómo se generan, evolucionan, diversifican y mantienen las diferentes arquitecturas o formas vivas que observamos (Thompson, 1992; Gilbert, 2003; Raff, 1996, 2000; Carroll, 2005; Laubichler y Maienschein, 2007).

Uno de los aspectos que ha generado mucho interés es el referente a los patrones cromáticos en la piel en diversos grupos de animales y otras estructuras morfológicas como las formas que surgen en las conchas de los caracoles. Dichos patrones se establecen como manchas, rayas, o parches de diferentes tipos, tamaños y pigmentos, con características geométricas de regularidad sorprendentes. Sin embargo, a pesar de lo cotidiana que resulta la existencia de dichos patrones,

para su comprensión se requiere de un análisis profundo de las características e interacciones que se producen en los sistemas donde se desarrollan estos patrones. Este análisis debe considerar que los organismos están formados por elementos individuales cuya interacción genera comportamientos colectivos, con características determinadas, en el caso de los patrones de color como estructuras geométricas definidas (Tada y Heisenberg, 2012).

Los patrones de color en la naturaleza juegan un papel importante en la interacción de los organismos con el medio ambiente y en los procesos adaptativos, por ejemplo como de camuflaje, selección sexual, dimorfismo sexual, defensa, protección solar, termoregulación, entre otras, cumpliendo con diversas funciones tanto fisiológicas como etológicas, evolutivas, y del desarrollo (Cloudsley-Thompson J.L., 1999). En este sentido, el desarrollo embrionario es crucial para entender los mecanismos básicos que dan origen a procesos emergentes en las formas vivas. En este caso, las formas que surgen de la interacción de diferentes células de color que aparecen en un gran número de animales.

Los patrones de color son entonces, sistemas que nos permiten explorar cómo se estructuran ciertos patrones morfogenéticos. Su estudio nos muestra algunos aspectos importantes de la manera en la que funcionan los mecanismos morfogenéticos en general ya que en ellos observamos mecanismos celulares básicos como la migración y diferenciación en etapas tempranas del desarrollo, adhesión, tensión entre células, establecimiento de las mismas en ciertas zonas, interacciones entre tejidos, procesos de identidad celular, atracción-repulsión entre células y todo esto en un espacio morfológicamente simple formado por capas epiteliales planas y visible debido a que se trata de células con pigmento, es decir observables incluso a simple vista. En este sentido en esta tesis propongo la importancia de establecer las relaciones que existen entre el desarrollo y el establecimiento de patrones de color durante el mismo mediante el uso de la información embriológica como forma de acercamiento al estudio de los patrones de color a partir de las primeras interacciones celulares que se establecen en etapas tempranas del desarrollo.

Para estudiar los patrones de color a partir de sus orígenes embriológicos es importante establecer los componentes críticos que participan en el establecimiento de dichos patrones. En



esta investigación se ha definido un grupo de interacciones indispensables en la formación de dichos patrones, mismas que están basadas en la información embriológica existente, como por ejemplo las interacciones entre células de pigmento y el fondo en el que establecen, la migración celular, las características mecanoelásticas, viscoelásticas de dichos tejidos y otros de los que tratare a lo largo de esta tesis. A partir del establecimiento de estas interacciones fundamentales del desarrollo, he desarrollado un modelo biofísico del sistema, es decir, un modelo en el que participan interacciones tanto biológicas como físicas.

Existen diversos estudios relacionados con los patrones de color en la piel de los animales, ya sea con enfoques puramente biológicos, experimentales, o estudios en los que se plantean modelos matemáticos que reproducen visualmente dichos patrones mediante el uso de ecuaciones diferenciales parciales y herramientas de cómputo (Kondo , 2002; Kondo y Shirota, 2008; Nakamasu, et al., 2009). Sin embargo, con el objetivo de adentrarnos más profundamente en los mecanismos morfogenéticos implicados en el establecimiento de este tipo de patrones, en este trabajo se ha considerado información embriológica de diversas fuentes y con diferentes enfoques, que revele las interacciones que existen entre células y con su medio, así como detalles del proceso de migración celular a partir de la cresta neural, estructura embrionaria en la cual se diferencian las células de pigmento. Además de establecer las relaciones que se generan entre los patrones de color con las distintas características morfológicas de los organismos en cuestión se proponen explicaciones acerca de los controles de tamaño y forma en los procesos morfogenéticos. A partir de toda esta información, se propone un modelo general de los mecanismos implicados en el desarrollo de los patrones en cuestión.

En esta tesis se analiza el comportamiento de los patrones cromáticos en el grupo de las serpientes. La selección de este grupo se hizo considerando que al tener cuerpos de forma aproximadamente cilíndrica poseen geometrías casi unidimensionales y por lo tanto relativamente sencillas. Esto es importante para este trabajo ya que la complejidad de patrones y formas que observamos va a depender de la morfología y tamaño del cuerpo del organismo en cuestión. La hipótesis que he planteado se basa en un modelo embriológico conocido de larvas de dos anfibios. Dicho modelo sirve como base para la comprensión de los fenómenos implicados en el

establecimiento de patrones en otros organismos, su dinámica celular y la relación con el medio embrionario particular.

A partir de dichos antecedentes en esta investigación se plantea una explicación a los patrones de color en organismos con morfologías más complejas pero que hipotéticamente tienen mecanismos morfogenéticos semejantes.

El objetivo general de este trabajo es establecer un modelo teórico basado en evidencia experimental que permita determinar:

- a) la dinámica de los patrones morfogenéticos de color en vertebrados mediante el uso de información embriológica proveniente de la interacción célula-célula y célula-mesénquima, y tomando en cuenta el gradiente de adhesión cromocito-mesénquima a lo largo del cuerpo y
- b) La importancia de las interacciones mecano elásticas en la emergencia de patrones durante el desarrollo.

Mediante el análisis de información embriológica existente, se propone determinar las variables necesarias para el establecimiento de dichos patrones y a partir de ello generar un modelo que incluya los componentes biológicos y físicos del sistema.

## Capítulo 1.

### La biología teórica y la biología conceptual como modelo de análisis en biología.



Fotografía de Conrad Hal Waddington (1905-1975) en <http://www.epigenetica.org>.

Las formas vivas se desarrollan bajo un mundo de restricciones o características que han influido en las posibilidades en las que dichas formas pueden evolucionar. Gracias a estas condiciones se han generado patrones comunes que nos permiten proponer teorías generales y encontrar la existencia de mecanismos básicos. Por lo tanto en este trabajo se propone una metodología a partir de la búsqueda bibliográfica de la gran cantidad de información existente acerca de los mecanismos biológicos, para poder establecer las características generales de la morfogénesis en relación a los patrones de color en vertebrados.

Un punto que se considera importante dentro de este trabajo para la comprensión de los mecanismos morfogenéticos es el hecho de que las posibilidades que existen en la naturaleza para la emergencia de patrones no es infinita sino mas bien limitada, restringida. Este hecho se hizo evidente gracias a las investigaciones realizadas por C. H. Waddington acerca de la importancia del estudio de las restricciones estructurales y dinámicas que las células y moléculas imponen a los procesos de morfogénesis y evolución (1962), quien encabeza este capítulo. Es probable que dichas restricciones estén codificadas en una cantidad relativamente pequeña de información genética que permite que los procesos morfogenéticos no requieran de grandes

cantidades de información genética para llevarse a cabo. Es por ello que es posible encontrar los mecanismos generales de estos procesos. A pesar de que las características morfológicas que observamos son el resultado de una gran cantidad de procesos biológicos, químicos, físicos, no es posible suponer la existencia de una “receta secreta” guardada en la secuencia de genes para la morfogénesis. Es decir, la información está dada por varias fuentes dentro y fuera de las células, del ambiente y de las diversas interacciones que se generan en el sistema, es decir de lo que he mencionado acerca de la complejidad de los sistemas en desarrollo (Solé y Goodwin, 2000). Consecuentemente, para estudiar los patrones de color a partir de sus orígenes embrionarios es fundamental tratar de establecer los componentes que de manera crucial participan en el establecimiento de éstos. Por lo tanto en este trabajo se ha definido un grupo de interacciones indispensables en la formación de dichos patrones y que están basadas en la información embriológica existente, dicha información fue seleccionada tratando de establecer redes de información no conectadas a priori para generar nuevos enfoques en el tema. Por lo tanto el modelo que planeo es visto como el resultado emergente de fenómenos complejos representados en una estructura morfológica que no es el producto lineal de la información contenida a nivel de secuencias genéticas ni de un programa de investigación único, esto permitió explorar las distintas interacciones y sistemas que actúan en el establecimiento de dichos patrones. A continuación se muestra la propuesta de la que parte dicho planteamiento.

## **1.1 Propuesta metodológica**

A partir de la idea de que las formas vivas se desarrollan en un mundo de restricciones que han modelado las posibilidades en las que pueden evolucionar y de que gracias a estas restricciones se han generado patrones comunes que permiten proponer teorías generales y encontrar la existencia de mecanismos básicos, en este trabajo se desarrolla la propuesta metodológica por medio de la cual a partir de la búsqueda bibliográfica de la enorme cantidad de información existente acerca de los procesos biológicos, se establecen las características generales del desarrollo de los patrones de color en vertebrados. Para lograr dicho objetivo se usa como modelo

la propuesta que Waddington formuló para una biología teórica que estableciera el conocimiento de los mecanismos generales de la vida<sup>2</sup> (1972).

La creciente generación de diferentes fuentes de información, tanto escrita como visual en formato digital, permite y hace necesaria su revisión para la creación de modelos que ayuden a procesar los datos existentes independientemente del tipo de información que se trate. Ello me ha permitido integrar múltiples fuentes de una manera semántica. Este tipo de enfoque puede ayudar a evitar que en la investigación de un tema se generen núcleos cerrados de información, en los que difícilmente el investigador se entera de publicaciones en otras áreas que aparentemente no están relacionadas, y que sin embargo podrían generar avances importantes ahorrando tiempo y dinero en los proyectos de investigación. Este tipo de enfoque como ha planteado el Dr. Germinal Cocho (comunicación personal), es una buena estrategia en países con restricciones económicas, como es el caso de México, para así generar ciencia de punta sin la limitante presupuestal.

Con base en las consideraciones antes expuestas el trabajo que presento en su raíz metodológica se basa en el postulado de la biología conceptual (Blagosklonny and Pardee, 2002; Gopalacharyulu, et al., 2005; Bekhuis, 2006; Ananiadou et al., 2006), la cual propone hacer uso de los datos obtenidos por la biología experimental estableciendo redes entre las colecciones de datos con un marco conceptual distinto en el que sea posible revelar conexiones inesperadas y generar una investigación compleja de los fenómenos biológicos:

*La biología conceptual está naciendo. Millones de hechos recuperables fácilmente están siendo acumulados a partir de una gran variedad de fuentes en campos aparentemente no relacionados, y de miles de revistas. Nuevos conocimientos pueden ser generados mediante la 'revisión' de resultados en bases de datos que se construyen guiadas por*

---

2

La definición de biología teórica que conocemos surge a mediados de los años 60, cuando La Unión Internacional de Ciencias Biológicas consideró, que era momento de establecer o formular un programa de conceptos y métodos con los cuales desarrollar una biología teórica, por lo que convocó a la realización de tres simposios en 1966, 1967 y 1968, encabezados por C. H. Waddington. En estas reuniones la intención era discutir y formular conceptos y teorías generales de la biología. las relaciones características de los sistemas vivos en contraste con los sistemas físicos e inorgánicos.

*conceptos, que se unen creando cadenas y redes verificables*<sup>3</sup> (Blagosklonny y Pardee, 2002).

De esta manera la teoría podría alcanzar la relevancia que tiene en el entendimiento de la complejidad como metáfora en la biología e incluso más allá. Como bien explican Gopalacharyulu y sus colaboradores:

*La integración de datos heterogéneos en las ciencias de la vida es un reto bien reconocido y creciente. El problema no es solamente permitir el estudio de estos datos en el contexto de las preguntas biológicas, sino más fundamentalmente, la forma de representar el conocimiento disponible y hacerla accesible [por ejemplo] para la minería* (Gopalacharyulu, et al., 2005).<sup>4</sup>

La biología conceptual ha hecho intentos de formalizar su propuesta mediante la elaboración de redes de conceptos que conectan con publicaciones que contienen las palabras clave generadas en la búsqueda, sin embargo estas bases de datos aún no están completas y siguen restringiendo la información a la que es posible acceder o sólo a algunas áreas de la biología, sin embargo la propuesta y futura elaboración de páginas web que faciliten el acceso a los datos será fundamental en el avance de la biología y en el trabajo teórico y multidisciplinario (ver ejemplos en Gopalacharyulu, et al., 2005).

En concordancia con estas posiciones, a lo largo de esta tesis utilizaré la biología conceptual como marco de integración de la información generada con respecto al desarrollo, la biología celular, los genes involucrados, la histogénesis, de los patrones de color en animales desde la biología, la biología matemática, la física y de otros fenómenos involucrados en la construcción del modelo. Por ejemplo, de qué manera los fenómenos físicos pueden ser fundamentales para entender nuestro planteamiento y así establecer un cuerpo robusto de conocimiento que nos

3

Conceptual biology is being born. Millions of easily retrievable facts are being accumulated in databases, from a variety of sources in seemingly unrelated fields, and from thousands of journals. New knowledge can be generated by 'reviewing' these accumulated results in a concept-driven manner, linking them into testable chains and networks (Blagosklonny y Pardee, 2002).

4 Integration of heterogeneous data in life sciences is a growing and recognized challenge. The problem is not only to enable the study of such data within the context of a biological question but also more fundamentally, how to represent the available knowledge and make it accessible for mining (Gopalacharyulu, et al., 2005).

permita entender la morfogénesis y los procesos asociados al establecimiento de patrones durante el desarrollo.

Debido a que existen diversos estudios relacionados con los patrones de color en la piel de los animales, ya sea con enfoques puramente biológico-experimentales o estudios en los que se plantean modelos matemáticos capaces de reproducir visualmente dichos patrones mediante el uso de ecuaciones diferenciales parciales y herramientas de computo, es importante generar información nueva, y generar redes de conexión entre campos aislados que gestan información significativa para un mismo problema.

En este sentido, con el objetivo de adentrarnos más profundamente en los mecanismos morfogenéticos implicados en el establecimiento de patrones, se ha obtenido información embriológica de diversas fuentes y con diferentes enfoques, que refieren a las interacciones existentes entre células involucradas, de éstas con el medio embrionario circundante, los fenómenos de migración celular que se llevan a cabo a partir de estructuras embrionarias como la cresta neural, la estructura embriológica de la cual surgen las células de pigmento y las relaciones que se establecen entre los patrones de color en función a las distintas características morfológicas de los organismos en cuestión. Asimismo, desde diversas fuentes con objetivos muy diferentes se consideran las características de células y tejidos involucrados, los módulos de información física que son determinantes en la emergencia de patrones y la importancia que tienen los controles de tamaño y forma en los procesos morfogenéticos.

Desde esta propuesta y volviendo a la tesis de Waddington, en la que se establece la necesidad de tener una biología teórica que produjera conceptos generales y relaciones lógicas características de los sistemas vivos en relación con los sistemas inorgánicos, quisiera hacer hincapié en que la labor teórica no debe limitarse solamente a la generación de modelos matemáticos de los problemas biológicos. Si se considera a la biología teórica sólo desde dicha perspectiva nos enfrentaríamos con el problema de que podemos simplemente traducir de un lenguaje a otro, sin entender la complejidad de los sistemas en cuestión y trivializar fenómenos importantes. Por esta razón como práctica de investigación en este trabajo, analizo qué es lo que se necesita para que se considere un estudio teórico en biología, defino cual sería el objeto de

estudio, establezco las intenciones que existen al realizar dicho estudio y los resultados que se obtengan, para de esta manera generar teorías integrales que hablen de procesos fundamentales en los seres vivos, sin sesgar los resultados a un sólo tipo de análisis que podría imponer muchas limitaciones.

Es decir, tomando en cuenta las limitaciones de cualquier modelo he desarrollado un modelo integral de los mecanismos implicados en el desarrollo de los patrones de color en vertebrados a nivel biológico estableciendo un modelo matemático enfocado en mostrar de manera sencilla la emergencia de patrones de color, considerando las restricciones físicas en las que se desarrollan. El objetivo es así plantear una biología teórica que logre integrar la información generada por las distintas áreas de la biología, como podría ser la genética y la biología molecular, celular, del desarrollo, etc., estableciendo métodos que nos permitan lograr la comprensión de los procesos que definen a los seres vivos. Con este fin esta tesis puede considerarse como el inicio de la discusión y análisis de lo que podría generar que la biología teórica ocupe un lugar de mayor importancia dentro de las ciencias biológicas, permitiéndonos así explorar fenómenos biológicos, reflexionando desde diferentes puntos de vista; experimentar con los conceptos, con las ideas, con diferentes teorías y experimentos, considerarse realmente la base teórica de la biología y sugerir el siguiente paso en el avance de la biología misma.

La información contenida a lo largo de este trabajo es el resultado de la práctica que la biología conceptual propone para generar nuevos resultados dentro de la biología, en esta tesis no he generado una plataforma en el computo de la biología conceptual pero si en la puesta en marcha de la idea que la sustenta, por lo tanto la estructura del texto y la información que contiene es la sistematización de dicha práctica. Los temas que aquí se desarrollan son el resultado de encontrar las interacciones biológicas de los patrones de color y tratar de establecer las conexiones incluso más allá, haciendo conexiones con otras disciplinas, en este caso la física. Considero que esta práctica además promueve al desarrollo de la biología teórica que como mencioné en los párrafos anteriores busca encontrar mecanismos generales en los sistemas vivos.



## **1.2 Los mecanismos morfogenéticos**

Los mecanismos morfogenéticos y la formación de patrones en la naturaleza han sido temas centrales para la biología del desarrollo, y recientemente en la búsqueda de la formación y evolución de patrones en el nivel genético y molecular (Parichy, 2006). En este contexto, una estrategia para la comprensión de fenómenos básicos involucrados en la emergencia, mantenimiento y evolución de patrones del desarrollo, es estudiar los posibles mecanismos genéricos usando la modelación u otros acercamientos teóricos.

Los distintos fenómenos implicados en la formación de patrones y en esta tesis de principal relevancia de pigmentación, son resultado de procesos celulares morfogenéticos entre elementos discretos, en este caso, células de un número pequeño de tipos. De hecho es posible hablar de una célula básica que se encuentra en un número finito de estados. Estas células pueden interactuar con otras células vecinas mediante relaciones de corto alcance, debidas a las fuerzas entre las macromoléculas que se encuentran en la superficie celular y mediante interrelaciones entre las células y la matriz extracelular (Gail y Boone, 1972; Cukierman et al., 2002; Lehnert, et al., 2003; Armstrong et al., 2006).

En estudios previos acerca de las interacciones entre células y tejidos durante la morfogénesis se ha visto que el patrón organizativo que favorece la interacción entre células, es diferente del patrón que favorece las interacción de las células con la matriz o el fondo. Por esta razón, surge un conflicto mecánico dinámico que da origen a la competencia entre los patrones asociados a cada una de estas interacciones. El patrón organizativo que resuelve este conflicto depende de la importancia relativa de cada una de las dos interacciones, entre células y de estas con la matriz en la que se adhieren, dando como resultado un patrón morfogenético específico.

En el caso del estudio de las configuraciones anatómicas de los seres vivos, uno de los problemas que ha atraído gran interés es el referente a los patrones cromáticos en la piel y otras estructuras presentes en diversos grupos de animales, dichos patrones se establecen como manchas, rayas, o parches de diferentes tipos, tamaños, formas y células de pigmento, con características estéticas sorprendentes. Sin embargo, a pesar de lo familiar que resulta la existencia de dichos

patrones, se requiere de un análisis profundo acerca de las características e interacciones que se producen en estos sistemas formados por elementos individuales que, a una escala mayor de interacción, generan comportamientos colectivos con características determinadas y con formas geométricamente definidas. En este sentido, comprender el desarrollo embrionario es crucial para entender los mecanismos básicos existentes durante los proceso emergentes de las formas vivas, en este caso las formas que surgen de la interacción de diferentes células de color que aparecen en un gran número de animales.

Los patrones de color son entonces, sistemas que nos permiten identificar la manera en la que se estructuran ciertos patrones morfogenéticos. Su estudio nos muestra algunos aspectos importantes sobre cómo funcionan los mecanismos morfogenéticos en general. Por esta razón y debido a la complejidad que implica la comprensión de la morfogénesis se requiere tomar en cuenta una gran cantidad de componentes que en conjunto participan en el establecimiento de dichos patrones en la naturaleza. En este sentido, como se ha mencionado, la propuesta de este trabajo parte de establecer las relaciones que existen entre el desarrollo embrionario y el establecimiento de patrones durante el mismo, utilizando información embriológica para estudiar los patrones de color a partir de las primeras interacciones celulares, las cuales se establecen en etapas tempranas del desarrollo.

En la siguiente figura se muestra la presencia de patrones de color en las primeras etapas del desarrollo en el pez cebra, organismo modelo en el estudio de los patrones de color, en esta imagen podemos ver la presencia de franjas longitudinales de melanóforos o células que sintetizan melanina, a lo largo del cuerpo del embrión en este caso con orientación longitudinal. Esta imagen nos ilustra una de las razones por la cual podemos estudiar estos patrones de color en el desarrollo; dichos patrones emergen y son visibles en embriones de vertebrados muy temprano, en el caso de organismos ovíparos como los peces donde además los huevos nos permiten ver el desarrollo del organismo a simple vista por su transparencia y donde podemos ver la dinámica que siguen las células y patrones de pigmento a través del tiempo.

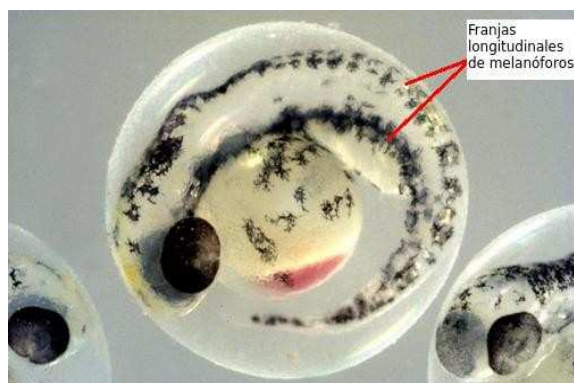


Figura 1. Fotografía de embriones de pez cebra *Danio rerio* en etapas tempranas del desarrollo, donde se pueden ver claramente melanóforos agregados en franjas longitudinales, modificado de imagen en: [http://www.tumblr.com/tagged/danio rerio](http://www.tumblr.com/tagged/danio%20rerio).

Para estudiar los patrones de color a partir de sus orígenes embriológicos es importante tratar de establecer los componentes críticos que participan en el establecimiento de dichos patrones, por lo que en este trabajo se definen un grupo de interacciones que hemos considerado como mínimo necesarias en la formación de dichos patrones y que están basadas en la información embriológica existente como lo son, las interacciones célula-célula, célula-tejidos embrionarios, tiempos migratorios de células de pigmento ya diferenciadas, mecanismos de adhesión entre células y el fondo, mecanismos de corto y largo alcance que generan controles de tamaño y forma y otros que se presentan a lo largo de este trabajo.

A partir del establecimiento de dichas interacciones fundamentales durante el desarrollo, en esta tesis se plantea un modelo biofísico del sistema, que incluye tanto interacciones biológicas como físicas. A partir de ello con la colaboración de Germinal Cocho y Alejandro V. Arzola se desarrolló un modelo matemático por medio del cual se describen dichas interacciones (Caballero et al., 2012).

Como se ha mencionado en la propuesta metodológica, es importante tener en cuenta que para comprender los mecanismos morfogenéticos se requiere considerar que la emergencia de patrones en la naturaleza es limitada, como se ha hecho evidente en las investigaciones sobre las restricciones estructurales y dinámicas que las células y moléculas imponen a los procesos de morfogénesis y evolución (Waddington, 1962). A partir de dichos estudios realizados por C. H. Waddington es posible proponer que estas restricciones estén codificadas en un número

restringido de información genética. Por ejemplo los mecanismos fisicoquímicos acoplados a factores bioquímicos permiten que los patrones y estructuras se modifiquen incluso habiendo pocos cambios en la expresión de un gen (Newman, 2006). Dichos procesos se realizan así a partir de mecanismos generales básicos y no sólo, como se ha considerado en otros estudios en la centralización de la información genética (véase por ejemplo el trabajo de Johnson et al., 1995; Kelsh et al., 2000).

No obstante que podemos afirmar, que para llevar a cabo la morfogénesis las características morfológicas observadas son resultado de una variedad de procesos biológicos, químicos, físicos y otros. Es crucial tener en cuenta que los mecanismos morfogenéticos son procesos complejos, y que para entender las redes que participan en la emergencia de las formas vivas es indispensable considerar una gran cantidad de información que se ha generado a lo largo de muchos años en diferentes estudios. A partir de ellos se hace evidente que dicha complejidad no se limita a la acción individual de los genes sino que es más bien resultado de módulos de genes conservados a lo largo de la filogenia (Bolker 2000; Espinosa-Soto C y Wagner A, 2010).

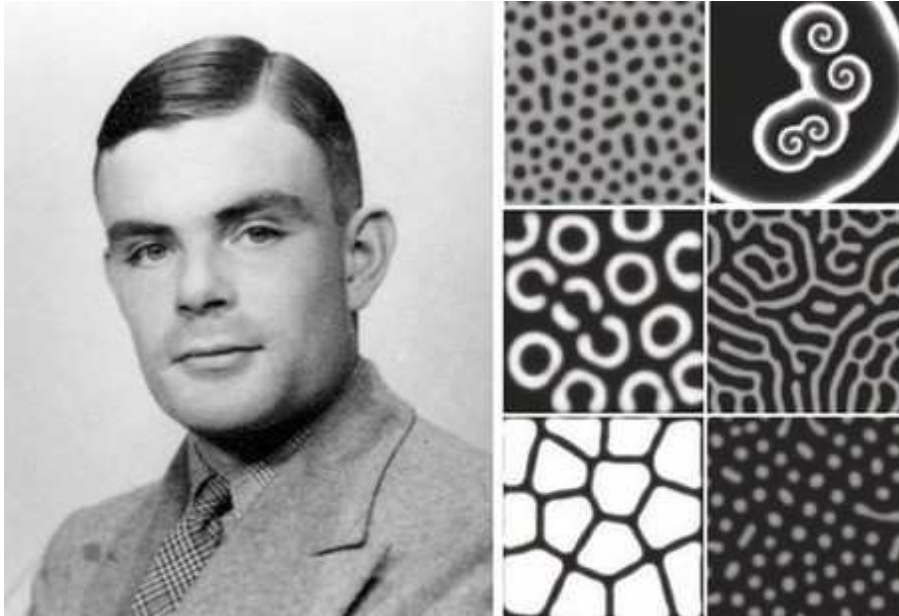
Por lo tanto en este trabajo el problema de la forma es el motor que nos lleva a plantear un modelo acerca de la morfogénesis de los patrones de color en vertebrados. Dicho modelo es visto como el resultado emergente de fenómenos complejos representados en una estructura que no es el producto lineal de la información contenida a nivel de secuencias genéticas, y que nos permite explorar las distintas interacciones y sistemas que actúan en el establecimiento de dichos patrones.

Por otro lado, los modelos teóricos derivados del modelo estándar más aceptados en el análisis de los patrones de color en la piel, están basados en mecanismos de interacción de dos sustancias químicas, una inhibitoria y otra activadora, que al interactuar y difundirse, generan los patrones que observamos (Turing, 1952; Nakamasu, et al., 2009; Kondo, S., y Miura, T., 2010). Estos modelos teóricos asumen la difusión de morfógenos en un medio embrionario sin considerar en gran medida las redes complejas que existen entre los componentes intracelulares y extracelulares en los procesos de morfogénesis. El modelo que aquí se propone introduce

interacciones importantes en el establecimiento de patrones, e integra información relevante acerca de la embriogénesis de dichos procesos.

Por lo tanto en el capítulo siguiente se presenta la propuesta de Alan Turing acerca de la morfogénesis de los patrones de color, la cual es base conceptual de los modelos más aceptados para el estudio de la morfogénesis de los patrones de color y de donde se parte para establecer una propuesta alternativa que pudiera ser complemento de ésta.

### 1.3 Las bases químicas de la morfogénesis, los patrones de Turing y el modelo de patrones de color que hemos propuesto.



*“Sólo podemos ver poco del futuro, pero lo suficiente para darnos cuenta de que hay mucho que hacer” Turing.*

Fotografía de Turing y simulaciones de su modelo acerca de la morfogénesis en: <http://www.wired.com/wiredscience/2011/02/turing-patterns/>

A partir de la publicación del artículo “Los fundamentos químicos de la morfogénesis” escrito por Alan Mathinson Turing en 1952, el estudio de los patrones morfogenéticos dio un giro sorprendente. Turing presenta un modelo que permite entender matemáticamente la manera en la que los patrones emergen durante el desarrollo. El propósito de dicho trabajo era discutir un posible mecanismo por el cual los genes de un cigoto pueden determinar la estructura anatómica del organismo resultante. Para ello él propone que mediante el uso de ciertas leyes físicas conocidas es posible explicar muchos de los fenómenos de la morfogénesis.

Su propuesta plantea que en un sistema de sustancias químicas llamadas morfógenos, (por sus cualidades en la generación de formas):

*...reaccionan juntos, y se difunden a través de un tejido, lo que es adecuado para dar cuenta de los principales fenómenos de morfogénesis. Tal sistema, aunque originalmente puede ser bastante homogéneo, más tarde puede desarrollarse un patrón o estructura*

debido a una inestabilidad del equilibrio homogéneo, que se dispara por perturbaciones aleatorias (Turing, 1952).<sup>5</sup>

En la figura 2 se representa gráficamente el modelo que Turing propone.

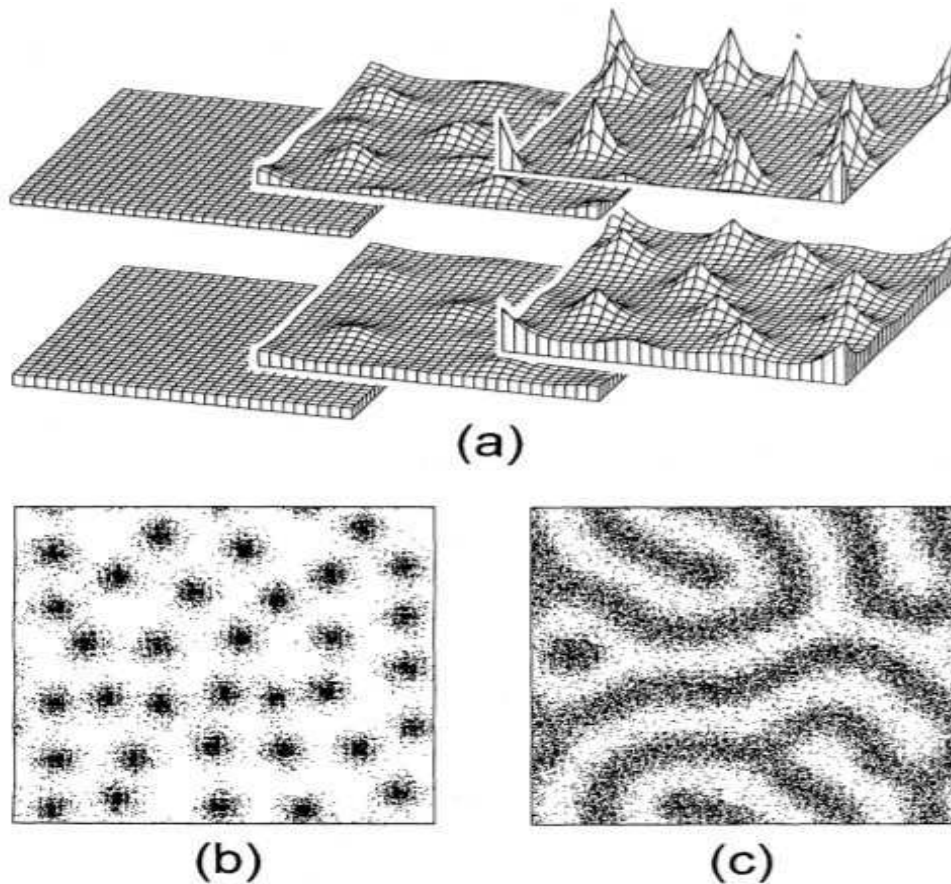


Figura. 2 Imagen que nos muestra la representación gráfica del modelo que plantea Turing, de los patrones producidos por el modelo de activador-inhibidor en el que podemos ver en (a) arriba: activación inicial, intermedia y final. Abajo: distribución de la inhibición. (b) Muestra el resultado de simulaciones similares en sistema de tamaño más grande. Las concentraciones del activador están representadas por la densidad de los puntos. (c) representa la saturación de autocatálisis lo que genera arreglos tipo rayas de células activadas (Koch y Meinhardt, 1994).

Este modelo describe “el estado del sistema”, y dicha descripción se compone de dos partes: la mecánica y la química. La parte mecánica del estado describe las posiciones, masas, velocidades, las propiedades elásticas de las células, y las fuerzas entre ellas. En la forma continua del modelo se genera esencialmente la misma información pero en forma de la tensión, la velocidad, densidad y elasticidad de la materia. Por otro lado, la parte química del sistema está dada por la composición química de cada célula por separado y por la tasa de difusión de cada sustancia

<sup>5</sup> “It is suggested that a system of chemical substances, called morphogens, reacting together and diffusing through a tissue, is adequate to account for the main phenomena of morphogenesis. Such a system, although it may originally be quite homogeneous, may later develop a pattern or structure due to an instability of the homogeneous equilibrium, which is triggered off by random disturbances” (Turing 1952).

entre cada dos células adyacentes. A su vez en la forma continua del modelo, las concentraciones y las tasas de difusión de cada sustancia tienen que estar determinadas para cada punto del sistema y en cada momento.

En su artículo Turing aunque no toma en cuenta todos los puntos que propone en su modelo de reacción-difusión, postula que para determinar los cambios de estado del sistema a estudiar se tienen que tomar en cuenta los siguientes puntos:

- 1.** Los cambios en la posición y velocidad dados por las leyes de movimiento de Newton.
- 2.** Las tensiones generadas por la elasticidad y el movimiento, teniendo también en cuenta la presión osmótica que está dada por la información química.
- 3.** Las reacciones químicas.
- 4.** La difusión de sustancias químicas. Las regiones en las que dicha difusión es posible, están dadas por la información mecánica.

Enfocándose en algunos de estos postulados Turing plantea un modelo matemático basado en ecuaciones diferenciales parciales no lineales con coeficientes constantes, estableciendo las bases para el desarrollo de los modelos que ahora conocemos como modelos de reacción-difusión (ver revisión de Gierer and Meinhardt 1972; Koch y Meinhardt, 1994; Kondo, 2002; Kondo y Shirota 2008).

Al plantear el modelo matemático Turing argumenta que el problema que propone omite muchas características importantes del sistema, como las propiedades eléctricas, la estructura interna de las células, por mencionar algunas, debido a que el problema presentaba una complejidad matemática enorme. En su propuesta advierte que dicha simplificación tuvo que ser necesaria para comenzar a explorar y poder generar resultados que sentarían las bases de la exploración de un tema sumamente complejo e incomprensible, en sus palabras:

*Es importante tomar en cuenta que el problema omite muchas características, por ejemplo, propiedades eléctricas y la estructura interna de la célula. Pero aún así, es un problema de complejidad matemáticamente formidable. Uno no puede en la actualidad tener la esperanza de hacer algún progreso en el entendimiento de estos sistemas, salvo en casos*



*muy simplificados. La interdependencia de los datos químicos y mecánicos añade una enorme dificultad, y por lo tanto, la atención se limita, en la medida de lo posible, a los casos en los que estos pueden ser separados (Turing, 1952).<sup>6</sup>*

A partir del trabajo de Turing se ha generado una larga historia en el estudio formal de la emergencia de patrones en la morfogénesis, incluido el estudio de los patrones de color estudiados mediante modelos genéricos dinámicos de reacción-difusión (RD) (Turing 1952; Gierer and Meinhardt 1972). Los modelos de RD muchas veces no toman en cuenta el ambiente celular y tisular en el que dichos patrones emergen (ver sin embargo, Cocho et al., 1987a,b; Moreira y Deutsch, 2005; Deutsch y Dormann, 2004), por lo que para esta tesis es importante integrar las partes que el modelo de Turing no incluye, con el objetivo de generar una explicación sustentada en evidencia biológica experimental, acerca de los mecanismos implicados en la emergencia y mantenimiento de los patrones de color en vertebrados.

En consecuencia en esta tesis se postula un modelo formal simple que considera: a) la dinámica espacial entre células, b) el sustrato en el que interaccionan y c) las fuerzas de corto y largo alcance que emergen de las propiedades viscoelásticas del sustrato o tejido embrionario mesenquimático como respuesta a la tensión. Se postula que dichas fuerzas en conjunto con las interacciones célula-célula pueden dar lugar a los patrones de color que observamos en diferentes linajes animales.

Es importante destacar que no es la intención de esta tesis rechazar los modelos de reacción-difusión, en este caso más bien se propone incluir información existente en un modelo en el que se integran las interacciones celulares, tisulares y mecanismos físicos involucrados en dichas interacciones, mismas que fueron puestas de lado en la propuesta inicial de Turing, aunque sí se mencionen como importantes para entender el problema general de la morfogénesis:

*La matemática de sólidos elásticos es un tema bien desarrollado, y ha sido aplicada frecuentemente a sistemas biológicos. En este artículo se propone darle mayor atención a*

---

<sup>6</sup> This account of the problem omits many features, e.g. electrical properties and the internal structure of the cell. But even so it is a problem of formidable mathematical complexity. One cannot at present hope to make any progress with the understanding of such systems except in very simplified cases. The interdependence of the chemical and mechanical data adds enormously to the difficulty, and attention will therefore be confined, so far as is possible, to cases where these can be separated.

*los casos en los que puede ignorar el aspecto mecánico y el aspecto químico es el más significativo (“The Chemical Basis of Morphogenesis”: Turing 1952).<sup>7</sup>*

De esta manera este trabajo pone énfasis en la otra cara del sistema, y en cómo esta visión puede ayudar a entender la manera en la que los patrones de color emergen.

---

<sup>7</sup> The mathematics of elastic solids is a well developed subject, and has often been applied to biological systems. In this paper it is proposed to give attention rather to cases where the mechanical aspect can be ignored and the chemical aspect is the most significant (Turing 1952).

## Capítulo 2. Mecanismos epigenéticos de los patrones de color

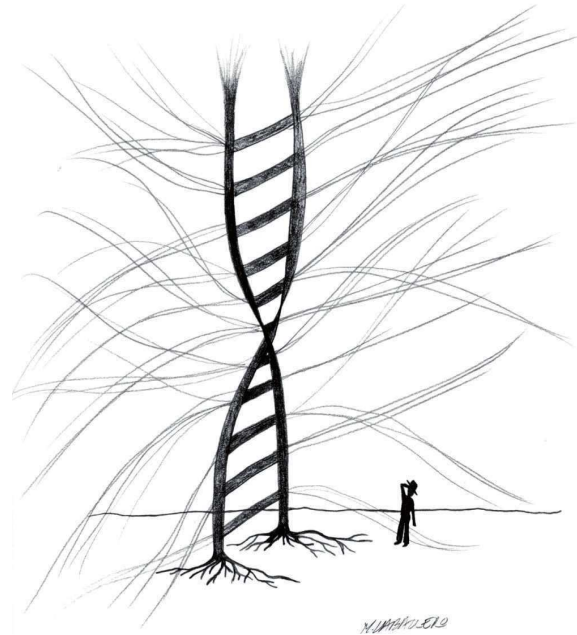


Ilustración de Mariana Caballero en Avendaño, 2012.

Uno de los procesos más importantes con la noción de emergencia de propiedades biológicas es el desarrollo embrionario, en él se da la transformación de una célula simple en un organismo con estructura, organización y funciones complejas. Durante este proceso, las células que conforman al organismo vivo se reproducen, mueren, se desplazan, crecen y adquieren características únicas, se forman los órganos y estructuras individuales, se especifican los planes corporales y ejes de simetría y continúa, incluso en la vida adulta de los organismos en cuestión.

Debido a lo complejo y sorprendente de los procesos del desarrollo, desde que se consolida la biología del desarrollo surge el debate acerca del origen de la información que subyace los procesos de desarrollo. Por un lado se plantea la idea de que la información necesaria para llevar a cabo el desarrollo está de alguna manera codificada en el cigoto o huevo y se hereda en su totalidad, a esta postura se le conoce como postura preformacionista, en la que podríamos incluir a las ideas genocentristas (Pinto, 1997).

En la postura contraria se sostiene que dicha información del desarrollo emerge durante la embriogénesis y se conoce como epigenetista. Ésta última considera a los fenómenos de

emergencia como procesos complejos claves para la explicación de las transformaciones que surgen durante el desarrollo embrionario (Solé y Goodwin, 2000).

En los años treinta del siglo pasado, el embriólogo Conrad Hal Waddington (1957) construyó una propuesta epigenetista que integra aspectos teóricos provenientes de la física, la matemática y de la biología del desarrollo. En ella propuso el término epigenética, para representar una “verdadera síntesis entre los procesos de desarrollo y la acción genética, que en conjunto llevan al organismo a existir”<sup>8</sup> (Van Speybroeck et al., 2002: p. 33), y plantea una metáfora útil para entender los mecanismos epigenéticos.

Dicha metáfora muestra que durante la embriogénesis el embrión o a una parte de éste se representa como un balón rodando hacia abajo sobre una superficie con crestas y valles, como un paisaje. El balón puede tomar diversos caminos en la superficie hasta llegar a la base y con ello a un estado estacionario. La dirección que tome el balón corresponde a una u otra ruta que el embrión siga en su proceso ontogenético hasta llegar a una forma similar a la que tendrá como adulto. Es decir el paisaje epigenético emerge de las interacciones complejas entre genes, células, tejidos, medio ambiente embrionario, otros factores externos, incluso el azar (ver figura siguiente). Por lo tanto la estructura y organización de los individuos o entidades biológicas no está codificada a priori, sino más bien surge para cada individuo a partir de los procesos mismos del desarrollo (Oyama 1985). El ambiente epigenético que actúa en la construcción de los mecanismos morfogenéticos incluye las relaciones de interdependencia que establecen los seres vivos con su ambiente, son “Procesos dinámicos que surgen de la interacción compleja de todos los factores involucrados en las actividades celulares, incluyendo a los genes” (Solé y Goodwin, 2000).

---

8 “a true synthesis between developmental processes and genetic action, which together bring the organism into being”

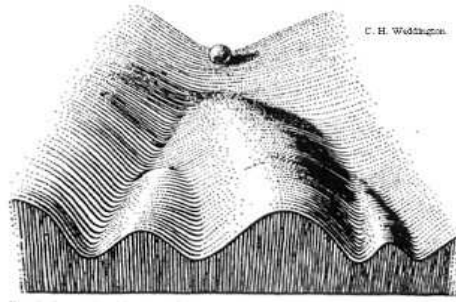


Figura 3. La metáfora del paisaje epigenético de Waddington en la que se representa la manera en la que Waddington establece el camino que sigue un gen o carácter dibujado como un balón recorriendo un paisaje heterogéneo en <http://cienciaexplicada.blogspot.mx>

En la actualidad y partiendo de las ideas germinales de Waddington acerca de considerar las diferentes interacciones que se dan en los sistemas en desarrollo, Eva Jablonka y Marion Lamb (2005) proponen la existencia de aspectos hereditarios que no dependen únicamente de la transmisión de DNA, es decir no sólo de la herencia genética, la llamada herencia epigenética. Entre los aspectos que la conforman están los mecanismos de regulación genética, el marcaje molecular de regiones del DNA en respuesta al ambiente, los procesos genéricos físicos y químicos, las interacciones ecológicas y en el caso de los seres humanos, los aspectos económicos, sociales y culturales.

A partir del resurgimiento de las ideas acerca de la información epigenética en la biología han emergido una gran cantidad de resultados acerca de cómo pueden darse dichas interacciones, y una de las cosas que ha dado muchos resultados que apoyan como actúa dicha información en los procesos biológicos es el marcaje del DNA. Dicho marcaje es uno de los mecanismos celulares y moleculares que parece ser fundamental en la relación entre ambiente y desarrollo. Este mecanismo consisten en la unión de una molécula al DNA, por ejemplo de una molécula conocida como grupo metilo ( $\text{CH}_3$ ) que afecta la expresión de los genes de cierta región del DNA y, a su vez, la anatomía, fisiología o conducta de los organismos. Se ha visto que estas marcas cambian durante el ciclo de vida de los organismos, muchas veces en función de condiciones ambientales como la falta de agua, de nutrientes o distintos tipos de estrés (Jaenisch y Bird 2003). Uno de los aspectos más significativos de este tipo de marcas es que en ciertas ocasiones pueden mantenerse también en las células germinales (óvulos y espermatozoides) y, pasarse a

generaciones subsecuentes, lo que permite heredar una cierta respuesta al ambiente (Jablonka y Raz 2009).

En los últimos años se han detectado una gran cantidad de marcas químicas epigenéticas específicas distintas a la metilación, lo que nos habla de la importancia de este tipo de mecanismos en la comprensión del desarrollo. Además de dichas marcas químicas se ha constatado que la información epigenética incluye no sólo los mecanismos de marcaje sino numerosos procesos moleculares, ecológicos y sociales (Jablonka y Lamb 2005; Jaenisch y Bird 2003). Retomando las ideas planteadas por la biología del desarrollo, en donde la emergencia de nuevos patrones resulta de la interacción entre una gran diversidad de procesos moleculares, celulares, y epigenéticos (Newman y Muller, 2003), las ideas modernas de la epigenética cobran relevancia.

Por lo tanto es importante destacar la necesidad de generar información de las interacciones no codificadas directamente en la secuencia de genes, que son fundamentales para entender el establecimiento de patrones y por lo tanto de la relevancia de este trabajo en el que el término epigenético, refiere a un amplio rango de mecanismos e interacciones y no sólo a las modificaciones heredables del DNA. Es decir hemos considerado como mecanismos epigenéticos a procesos por los cuales se genera estabilidad estructural en los sistemas, lo que se traduce en sistemas mecánicos tales como la tensión-compresión o atracción-repulsión, elásticos y adhesivos junto con otros mecanismos fisicoquímicos conocidos. También se incluyen procesos tales como la comunicación celular, las interacciones célula-ambiente y cuestiones estructurales de las cuales hablare más adelante asociadas a las tensiones en las células y tejidos (Ingber, 2000, 2003, 2004, 2006, 2010), que son fundamentales para el establecimiento de patrones de color en la piel de reptiles, peces y anfibios, y que postulo como posibles procesos genéricos a través de los distintos linajes evolutivos (Waddington, 1962; Newman y Muller, 2003).

Por lo tanto para entender en que sentido se habla de la epigénesis en esta tesis, de acuerdo con Van Speybroeck y coautores (2002), "la epigénesis puede ser vista como el acercamiento a la pregunta de la organización orgánica en términos de la dinámica interna y de la interacción,

centrándose en el proceso y el cambio"<sup>9</sup> (Van Speybroeck et al., 2002: p. 33). En otras palabras, es importante establecer a los fenómenos mecano-cito-histológicos como parte de un sistema epigenético que actúa durante el desarrollo de patrones y formas. Dichos mecanismos genéricos pueden explicar, al menos parcialmente, algunos de los patrones conservados que vemos en la piel de los vertebrados.

En este sentido también se considera, los siguientes procesos epigenéticos en la propuesta:

- a) la migración de las células en cuestión (Epperlein y Löfberg, 1990, 1996; Epperlein, Löfberg y Olsson; 1996),
- b) la atracción y repulsión entre células (Waddington, '62; Newman y Müller, 2003; Ingber, 2000, 2006, 2010 ),
- c) las interacciones mecánicas entre células y tejidos (Odell et al., '81; Murray et al., 1988 ; Wang et al., 2001),
- d) la adhesividad entre células de pigmento y el tejido mesenquimático (Alibardi, 2011; Schöck and Perrimon, 2002; Grainger and Wessells, 1974; Harris et al., 1980; Hay 1981; Harris et al., 1984; Edelman 1988; Takeichi, 1988; Bhatia et al., 1999; Schöck y Perrimon, 2002; Duguay et al., 2003; Thiery 2003b; Yamada et al., 2005; Steinberg, 2007; Acloque et al., 2009; Grinnell and Petroll, 2010; Harris and Tepass, 2010 ) y
- e) las interacciones de largo alcance que controlan el tamaño y la forma en los sistemas en desarrollo (ver revisión de Conlon y Raff, 1999; Lecuit y Le Goff, 2007).

A continuación se hará una descripción más detallada de dichos componentes que son fundamentales para explicar nuestra propuesta.

## **2.1 Morfogénesis: Adhesividad diferencial y matriz extracelular**

La manera en la que se agrupan y adhieren las células durante el desarrollo es fundamental para la morfogénesis. La adhesión es un proceso que permite que las células fijen sus interacciones

---

<sup>9</sup> "epigenesis can be seen to approach the question of organic organization in terms of internal dynamics and interaction, focusing on process and change"

con otras células, restringen sus movimientos y por lo tanto se generen tejidos o capas (Overton, J., 1979; Edelman, 1984). Esto está regulado por la interacción célula-célula la cual se establece por la afinidad entre moléculas adhesivas. Esta afinidad varía, por ejemplo en células en cultivo. Las células más afines son las que están al centro del cúmulo de crecimiento con respecto a las de la periferia y las que no son afines se agrupan lejanas a las otras generando dos poblaciones distintas de células (Thiery , 2003 a; Duguay , 2003).

Las moléculas encargadas de esta adhesividad son llamadas moléculas CAMs por sus siglas Cadherin-mediated cell adhesion, representadas por un grupo grande de moléculas adhesivas incluidas las Cadherinas, las cuales se expresan en diferentes tipos celulares siendo compatibles con otras moléculas iguales en células del mismo tipo (Fig. 4) (Aplin et al., 1999). En el caso de las células epiteliales las Cadherinas son llamadas E-cadherinas y en las células mesenquimales se expresan otras llamadas N-cadherinas (Takeichi, 1988), dichas células forman parte del mesénquima el cual es el tejido primitivo mesodérmico del que derivan gran parte de los tejidos orgánicos, en conjunto es un tipo de tejido conectivo laxo, de consistencia viscosa, rica en colágeno, fibroblastos, y por lo general poca celularidad (Weiss y Garber, 1952) .

Las CAMs desempeñan un papel central en la morfogénesis, actuando a través de adhesión como reguladores de otros procesos primarios, en particular los movimientos morfogenéticos. Estas moléculas ejercen su papel como reguladores por medio de la modulación local de la superficie celular. Los genes que codifican a las moléculas CAM se expresan antes y son relativamente independientes de los de las redes particulares de diferenciación celular en los diferentes órganos. El control de dichos genes por los genes reguladores modula la diferenciación y generación de planes corporales durante el desarrollo (ver revisión en Öbrink, 1986; Edelman, 1984).

Los movimientos que observamos en la morfogénesis son en parte resultado de la coordinación entre la expresión de las moléculas CAM célula-célula y la adhesión mediada por célula-sustrato por moléculas de adhesión de sustrato (SAMs). Estos movimientos, que se rigen por la modulación de las moléculas CAM, son responsables de generar distintos destinos celulares



dando como resultado diferentes inducciones embrionarias, lo que determinará los pasos subsiguientes del proceso morfogénico (ver Edelman, 1984; Ryan et al., 2001).

Los complejos de adhesión celular actúan como mecanosensores y como mediadores para la transmisión de fuerzas que sirven a las células en el transporte de vesículas, división celular, locomoción, modificación de la matriz extracelular (Oliver, et al., 1994), y como reguladores de comportamientos tales como el laminado (Chang et al., 2000), la difusión y la migración (Beningo et al., 2001), la supervivencia, la proliferación (Chen et al., 1997), y la diferenciación (Engler et al., 2004, 2006); todo ello gracias a la transmisión de fuerzas locales que se propagan a escalas mesoscópicas. Mediante estudios experimentales se han hecho mediciones de las fuerzas que ejercen diferentes tipos celulares sobre fondos con diferentes grados de fluidez, por ejemplo en el caso de los fibroblastos, se ha visto que al moverse ejercen una fuerza de  $\sim 20 \times 10^{-8}$  N, y que pueden generar una fuerza de tracción de 100 a 1000 veces más que la que necesitan para desplazarse (Oliver et al., 1994).

En este punto podemos ver la importancia de las características de la matriz extracelular (ECM por sus siglas en inglés), la cual es fundamental para entender el complejo morfogénico del cual se ha hablado. El conjunto de sustancias de la matriz extracelular da a las células un soporte estructural para la migración celular y la separación e identidad de los tejidos. Dicha matriz está formada principalmente por colágeno, laminina y fibronectina, y se conecta con las células vecinas mediante receptores transmembranales llamados integrinas. Las integrinas se unen con la fibronectina, laminina y otros componentes de la matriz celular (Hay, E. D., 1981; Engel y Chiquet, 2011). Intracelularmente se vinculan con microfilamentos de actina y otros componentes del citoesqueleto con el exterior de las células y de este con otras células, dándole integridad y conectividad al tejido (Adams y Watt, 1993). En la figura 4 se ilustra este proceso.

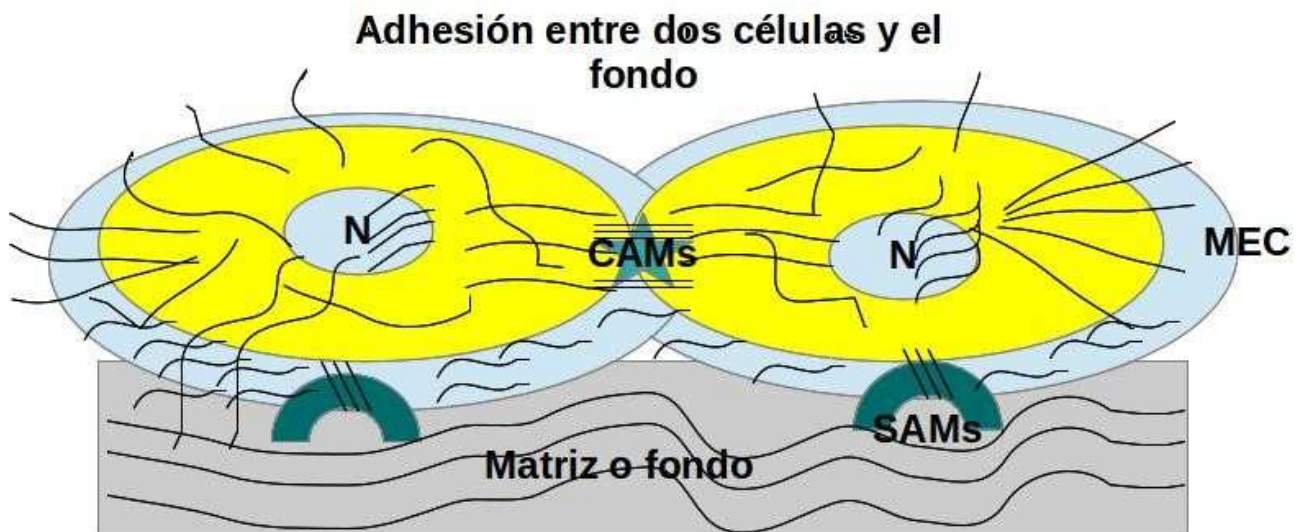


Figura 4. Este dibujo nos muestra la interacción entre dos células y la matriz en la que están adheridas, ambas interacciones están mediadas por moléculas adhesivas específicas CAMs y SAMs respectivamente. La manera en la que dichas células van a comportarse depende de las fuerzas de interacción entre los complejos adhesivos y la red de polímeros fibrosos intra y extracelularmente, en este caso se representan como líneas oscuras desde el núcleo (N) hasta en el fondo en el que se adhieren.

## 2.2 Morfogénesis y Tensegridad: Estabilidad tensional en las formas vivas

La tensegridad es un principio de la construcción de cuerpos rígidos, descrito por primera vez en 1961 por Richard Buckminster Fuller (1895-1993), quien la define tensegridad como estructuras que estabilizan su forma por la tensión continua o integridad tensional en vez de por compresión continua (véase también Ingber, 2003). Dicho término se acuña desde la perspectiva de la ingeniería ya que describe estructuras en las que en la configuración de cuerpos rígidos existe una asociación entre las partes capaces de estabilizar dicha configuración. En otras palabras, la estructura de los cuerpos rígidos puede considerarse una configuración con cualidades de tensegridad si en el sistema existen cuerdas o fibras que sean capaces de conectar y estabilizar la conformación de la estructura de los cuerpos rígidos que la componen.

Bajo esta lupa es posible ver que en ausencia de fuerzas externas, tenemos un conjunto de cuerpos rígidos con formas específicas que tienen conexiones tipo troquel (un ejemplo de este tipo de uniones son las articulaciones en las extremidades de los seres vivos) y que dichas estructuras en conjunto construyen una configuración que puede ser estabilizada por un agregado de elementos de tracción interna conectados con los cuerpos rígidos. Si la configuración dada puede

ser estabilizada por dichos miembros o elementos de tracción interna con cualidades de tensión, entonces tenemos una estructura con características de tensegridad (Skelton y Olivera 2009; Ingber 2003). En la figura 5 se muestran dichas opciones usando como referencia estructuras arquitectónicas.

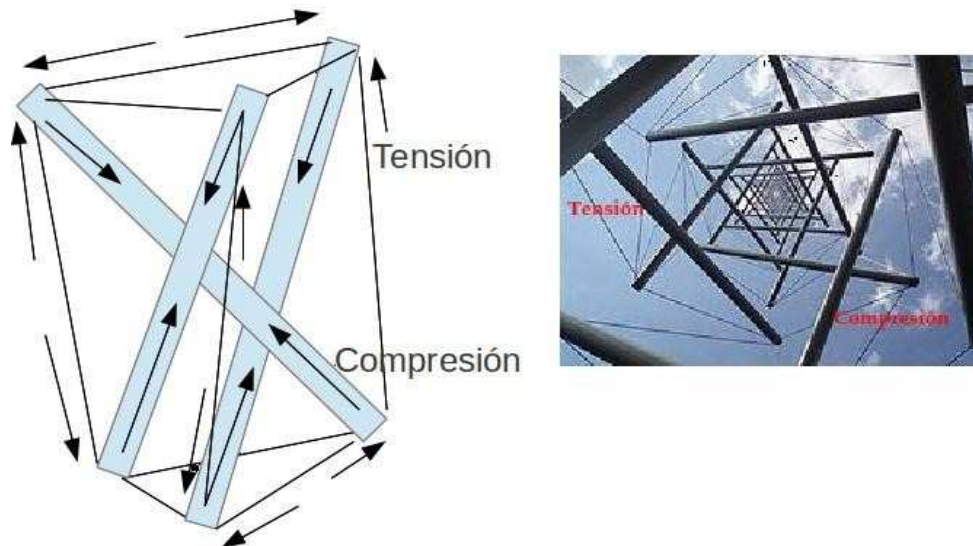


Figura 5. Foto que muestra la escultura flotante del artista Kenneth Snelson en la que se muestra estructuras construidas con los principios de la tensegridad (imagen derecha). Podemos ver que las cuerdas estabilizan a los tubos metálicos generando una estructura estable pero no rígida que se autosostiene en el aire. La simplicidad de esta escultura nos muestra dicha arquitectura, como una red de tensiones entre miembros que conforman la estructura los cuales resisten la distorsión y generan la auto estabilización mediante la incorporación de otros elementos de soporte que resisten la compresión, lo que se muestra en el dibujo de la izquierda.

Tomando en cuenta lo anterior, las estructuras con cualidades de tensegridad no pueden mantener su forma estable cuando son sometidas a tensión mecánica sin la transmisión continua de fuerzas de tensión a toda la estructura, actuando como una entidad en equilibrio de fuerzas (Fuller, 1961). Esto significa que la tensegridad es una característica que poseen ciertas estructuras, cuya estabilidad depende del equilibrio entre fuerzas de tensión y compresión dadas por las partes que conforman el sistema, es decir que existe una tensión pre-existente que permite una forma determinada (Stamenovic e Ingber, 2008).

Los modelos de tensegridad que se han propuesto plantean que la célula en su totalidad es una estructura pre-tensada de tensegridad (Ingber, 1993, 2003, 2006, 2010; Ingber et al., 1981; 1985, 1982; Joshi et al., 1985; Fulton e Isaacs, 1986; Ingber y Folkman, 1989; Ingber, 1993). En dichos modelos las fuerzas de tensión se generan a partir de estructuras como los microfilamentos del citoesqueleto, los microfilamentos intermedios y posiblemente la pared celular en el caso de las

plantas. Dichas fuerza están equilibradas por los elementos estructurales interconectados que resisten la compresión, en particular los microtubulos internos y externos y de manera importante los procesos de adhesividad entre células y con la matriz extracelular. Sin embargo, en diferentes contextos estructurales y diferentes escalas dichos filamentos de manera individual pueden tener funciones duales, ya sea de tensión o compresión (Stamenovic e Ingber, 2009).

Otros elementos pasivos de esta pre-tensión provienen de: a) la distensión celular a través de la adhesión de la matriz extracelular y de otras células, b) fuerzas osmóticas que actúan sobre la membrana celular, c) las fuerzas ejercidas por la polimerización de filamentos gracias a la acción contráctil de la actomiosina (Ingber, 1993), d) los filamentos intermedios que se interconectan en diversos puntos, como los microtúbulos, los microfilamentos y e) la superficie nuclear. Éstos generan la rigidez mecánica de la célula a través de propiedades materiales, que tienen la capacidad de actuar como cables de suspensión que se interconectan y tensionan haciendo rígido el citoesqueleto, y a su vez a la red filamentosa nuclear. De esta manera el citoesqueleto interno se interconecta con la periferia mediante el citoesqueleto cortical localizado por debajo de la membrana plasmática (Ingber, 2008).

Por lo tanto, es posible afirmar que las cualidades de tenseguridad en los tejidos vivos se adquieren gracias a la presencia de estructuras jerárquicas de fibras que conforman los citoesqueletos y matrices extracelulares (Cañadas et al., 2002). Este esqueleto fibroso le confiere al sistema cualidades mecánicas específicas que le permiten tener la capacidad de responder ante las fuerzas de tracción y modificación del medio en el que se establecen. Las propiedades mecánicas del citoesqueleto son consecuencia directa de las propiedades y los arreglos estructurales de dichos biopolímeros (por ejemplo los microfilamentos de actina, los haces de filamentos contráctiles de actomiosina, los microtúbulos y los filamentos intermedios) (ver revisión de Popp y Robinson, 2012; Janmey, P. A. 1991). En la figura 6 se ilustran dichos arreglos estucturales.

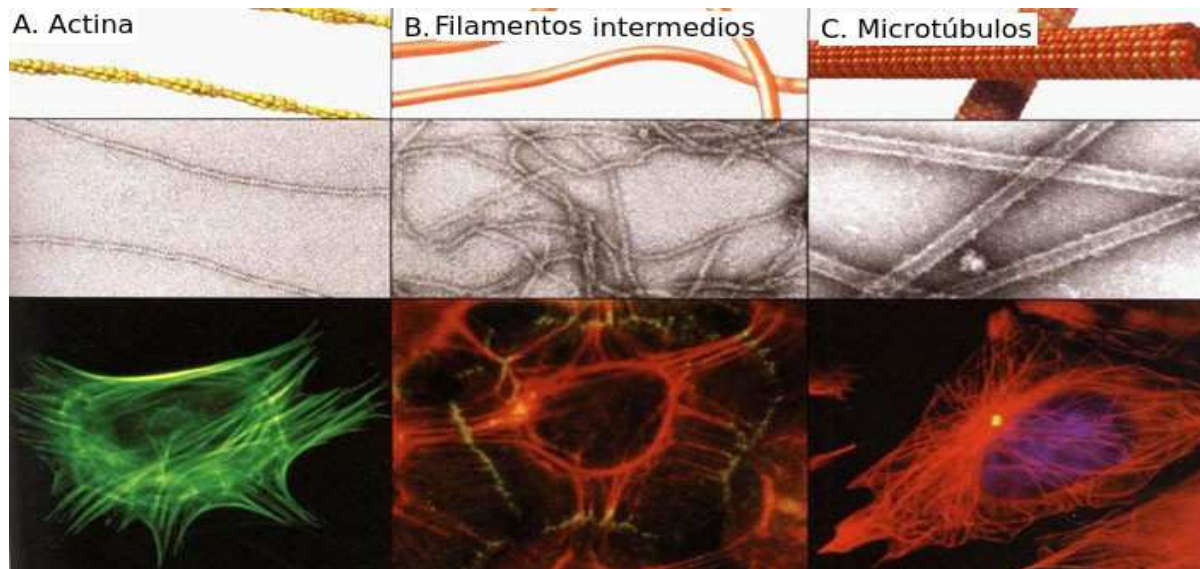


Figura 6. Esquema que nos muestra los tres tipos de filamentos A. Actina, B. Filamentos intermedios, C. Microtúbulos, acompañados de imágenes respectivas de microscopía electrónica. Modificada de [http://www.vibrallife.lu/design/images/images\\_vibrallife/3polymeres.jpg](http://www.vibrallife.lu/design/images/images_vibrallife/3polymeres.jpg)

Si consideramos entonces que el citoesqueleto de las células eucariontes es una red intracelular compuesta por varios biopolímeros filamentosos que determinan la estabilidad de la forma celular, y que se relacionan con otras redes extracelulares que las conectan con otras células en el tejido, se puede inferir que el citoesqueleto de las células eucariontes deben tener un papel fundamental en la integración de los procesos de morfogénesis.

Como se ha descrito en los párrafos anteriores para la estabilización de la forma celular, el citoesqueleto genera activamente fuerzas contráctiles a través de mecanismos de deslizamiento de actomiosina. Estas fuerzas se transmiten vía la tensión del citoesqueleto a todos los elementos estructurales de la célula, por lo que se dice que todo el citoesqueleto está en tensión mecánica. Si experimentalmente se rompe dicha tensión ello se verá reflejado en toda la célula y en el resto del tejido, que a su vez está también ensamblado dentro de esta dinámica de tensión (Stamenovic e Ingber, 2009). Por ejemplo en estudios sobre la inhibición de los complejos de adhesividad entre células y el fondo mesenquimatoso se han identificado drogas que inhiben la actividad motora de las células, por ejemplo la blebistatina. Se ha observado que este tipo de sustancias anulan la respuesta diferencial que se da ante la elasticidad de la matriz, inhabilitando la contracción dentro de la célula al no percibir la elasticidad del sustrato, viéndose al mismo tiempo cambios en la configuración de las células, siendo éstas más pequeñas y redondas (Rehfeldt et al., 2007). En

este sentido es muy importante conocer la relevancia del citoesqueleto en el estudio y aplicación de fármacos que afectan directamente a la estructura y función del mismo a diferentes niveles ya sea inhibiendo genes específicos o actuando directamente en alguna o varias de las proteínas que intervienen en el complejo entramado de dicha red, la cual es fundamental en funciones vitales de las células eucariontes (Hargreaves , 1997).

La figura 7 muestra la integridad tensional que continuamente se presenta en el citoesqueleto.

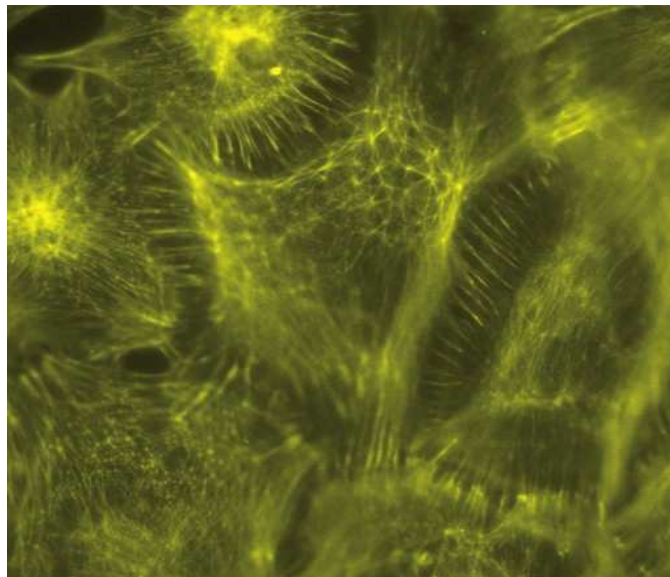


Figura 7. Micrografía de fluorescencia de tejido fibroblástico en cultivo de ratón. En la que se muestra la integridad tensional continua en el citoesqueleto de actina intra e inter celular. Podemos ver que los filamentos de actina marcados en amarillo, generan un mapa de campos de tensión que se establecen entre células. Se observan dichos campos tanto de corto alcance entre células vecinas como de largo alcance con respecto a las células lejanas (micrografía de Julia Sero en Stamenovic e Ingber, 2009).

Estas fuerzas contráctiles continuas de la red del citoesqueleto, transmiten fuerzas mecánicas a elementos moleculares a través del citoplasma, incluido el núcleo, generando una estructura colectiva compleja de tensión en todo el tejido. Por lo tanto, las fuerzas mecánicas pueden provocar distorsión molecular y cambios asociados a las actividades bioquímicas en muchos sitios simultáneos a través de la célula, lo que implica relaciones de corto y largo alcance sin la necesidad de la difusión de morfógenos:

*Como las células utilizan para estabilizarse la tenseguridad, las tensiones mecánicas que se transmiten a través de las integrinas también pueden ser canalizadas a través de elementos del citoesqueleto en el citoplasma y el núcleo. Es importante destacar que las*

*señales mecánicas se transmiten mucho más rápidamente a través de estos elementos discretos de soporte que las señales químicas. por ejemplo, la propagación de onda es mucho más rápida que la difusión química. De hecho, los experimentos han confirmado que la aplicación de estrés mecánico a la superficie de receptores de las integrinas resulta en cambios casi inmediatos en estructuras moleculares en lo profundo del citoplasma y el núcleo, así como la activación de eventos de señalización en estos sitios distantes (por ejemplo la activación de Src Quinasa, la señalización del calcio nuclear) casi tan rápido como los que ocurren en la superficie celular. (Ingber, 2008)<sup>10</sup>*

Algo muy importante de este “módulo de tensiones” generados por la tensegridad es que al interaccionar distintos componentes fibrilares, se mantiene la identidad del tejido. Por ejemplo si una molécula de actina cambia de configuración, genera alteraciones espaciales y moleculares en el tejido, pero al existir otras moléculas fibrilares se genera un balance de fuerzas. Es decir, las células pueden alterar sus formas sin alterar el total de los biopolímeros filamentosos en la célula, o sea, posiblemente sin que existan cambios en la expresión génica. Algunos estudios sugieren que la célula utiliza este tipo de fuerzas balanceadoras para autorganizar y estabilizar el citoesqueleto y para regular la deformación del mismo entre su individualidad y colectividad. Estos mecanismos son clave en los sistemas vivos. (Wang e Ingber, 1994; Mammoto et al., 2007; Stamenovic e Ingber, 2009).

La forma en la que se relaciona la tensegridad con este trabajo, es a través de la comprensión de dichas cualidades en los sistemas vivos para de esta manera ver cómo se definen las relaciones entre células y tejidos que interactúan en la emergencia de patrones en diversos sistemas, específicamente en este caso en los patrones de color en la piel de vertebrados.

---

10 However, because cells use tensegrity to stabilize themselves, mechanical stresses that are conveyed across integrins can also be channeled through load-bearing cytoskeletal elements in the cytoplasm and nucleus. Importantly, mechanical signals are transmitted much more quickly through these discrete load-bearing elements, than are chemical signals (e.g., wave propagation is much faster than chemical diffusion). In fact, experiments have confirmed that mechanical stress application to surface integrin receptors results in almost immediate changes in molecular structure deep in the cytoplasm and nucleus, as well as activation of signaling events at these distant sites (e.g., Src kinase activation, nuclear calcium signaling) almost as rapidly as those that occur at the cell surface (Ingber, 2008).

Existe evidencia directa de que la adhesión diferencial, es decir las variables dinámicas en los procesos de adhesión de células y el fondo, influyen en el posicionamiento espacial entre los tejidos de la capa germinal en el pez cebra (Schötz, et al., 2008). En el trabajo de Schötz y colaboradores se demuestra que la capa embrionaria ectodérmica y mesodérmica generada por la sobre-expresión de ARNm, se comportan como fluidos in-miscibles en escalas de tiempo largas. Dichos autores mezclan experimentalmente células de embriones de pez cebra y observan que las células se segregan en fases discretas en donde el ectodermo adopta una posición interna con respecto al mesodermo.

Entonces podemos afirmar que las células no son únicamente sensibles a las señales bioquímicas sino también a las propiedades mecánicas y geométricas del medio ambiente donde se desarrollan, detectan y responden a estas características físicas a diferentes escalas (Chen, et al., 1997). A nivel sub-celular, las células registran e integran información mecánica mediante las adhesiones locales (Taylor et al., 2012). Estos complejos de proteínas conectan el ambiente extracelular con el citoesqueleto haciendo a las células capaces de aplicar y detectar fuerzas. El estrés del citoesqueleto interno es modulado constantemente por la remodelación de fibras de actina y la contracción del complejo de acto-miosina, dando como resultado homeostasis mecánica en la célula (Heisenberg y Bellaïche , 2013).

Esto a su vez permite que las propiedades geométricas y físicas de la matriz extracelular o el sustrato puedan ser detectadas. Gracias a ello la información es transmitida al núcleo, generando proliferación, diferenciación, apoptosis, dispersión, migración, producción de matriz extracelular, orientación durante la mitosis, y otros. (Bidan et al., 2012). Por lo tanto estas interacciones sirven como información fundamental en la morfogénesis.

A continuación se hablará de la relación que existe entre epitelios y tejido mesenquimático y mediante la cual se puede establecer la importancia de la dinámica celular y su relación con la tenseguridad.



### **2.3 Morfogénesis: Interacción epitelio mesénquima y los patrones de color**

Para entender el modelo que se propone en esta tesis es necesario definir algunos aspectos importantes que explican la emergencia de patrones durante el desarrollo o morfogénesis. Como ya se mencionó la morfogénesis es un proceso complejo en el que intervienen muchos factores tanto físicos como del ambiente celular, y que depende de cómo las células interactúan en los tejidos y cómo estas estructuras se transforman en el tiempo.

Las células en los tejidos en desarrollo se comportan de maneras específicas. Células del mismo tipo tienden a formar grupos que se relacionan físicamente y en donde se generan procesos de maximización del contacto entre células del mismo tipo. Esto es importante porque en etapas tempranas del desarrollo existen básicamente dos tipos celulares, las células epiteliales y las mesenquimales (Thiery, J. P., 2003 b; Thiery y Sleeman, 2006). Ambos tipos celulares tienden a agruparse con sus iguales gracias a procesos de adhesividad diferencial derivados de la afinidad diferencial entre moléculas CAMs (Duguay; et al., 2003). A partir de estos procesos simples las células adquieren durante el desarrollo identidad celular mediante procesos de diferenciación celular. Simultáneamente las células mesenquimales y epiteliales sufren transformaciones inducidas por la interacción de ambos tejidos, generando transiciones epitelio-mesenquimales, es decir pasos intermedios de diferenciación entre ambos tipos celulares, que después permiten que las células puedan migrar a lugares lejanos de los epitelios que les dieron origen, para asociarse por adhesión diferencial con células similares en otras partes del embrión en desarrollo (Thiery, J. P., 2003 b).

Las interacciones entre tejidos embrionarios tienen un papel fundamental en la diferenciación de órganos y tejidos en los vertebrados. Dichas interacciones se han categorizado o clasificado en las que el epitelio controla la diferenciación del mesénquima, como es el caso de la cresta neural (de la cual hablaré más adelante), las somitas y el riñón; y en las que el mesénquima dirige la diferenciación del epitelio, como es el caso del desarrollo de pelo, plumas y glándulas salivales; además de aquellas en las que hay una interacción mutua entre ambos tejidos como en el desarrollo de los dientes y las extremidades (Elsdale y Bardh, 1974; Henderson y Copp, 1997; Thiery y Sleeman, 2006). La naturaleza de estas interacciones se debe tanto a la interacción

célula-célula entre los tejidos en cuestión a través de la membrana basal del epitelio o gracias a la señalización extra celular producida por uno o ambos tejidos.

En este sentido podemos hablar de las diferencias en las características de dichas células. Por ejemplo, las células epiteliales y mesenquimales difieren en diversas características funcionales y físicas o fenotípicas; las células epiteliales forman capas de células que están estrechamente ligadas por estructuras de membrana especializadas, tales como uniones estrechas, uniones adherentes, desmosomas y uniones de hendidura o Gaps (por su nombre en inglés).

Otra característica importante es que las células epiteliales tienen polarización apical-basolateral, que se manifiesta a través de la distribución localizada de moléculas de adhesión como ciertas cadherinas e integrinas, lo que favorece la organización de uniones célula-célula, la organización polarizada del citoesqueleto de actina, y la presencia de una lámina basal en la superficie basal. Las células epiteliales son móviles y pueden alejarse de sus vecinos más cercanos dentro de la capa epitelial, sin embargo en condiciones normales las células no se separan unas de otras, formando así la estructura epitelial característica, la cual se ilustra en la Figura 8.

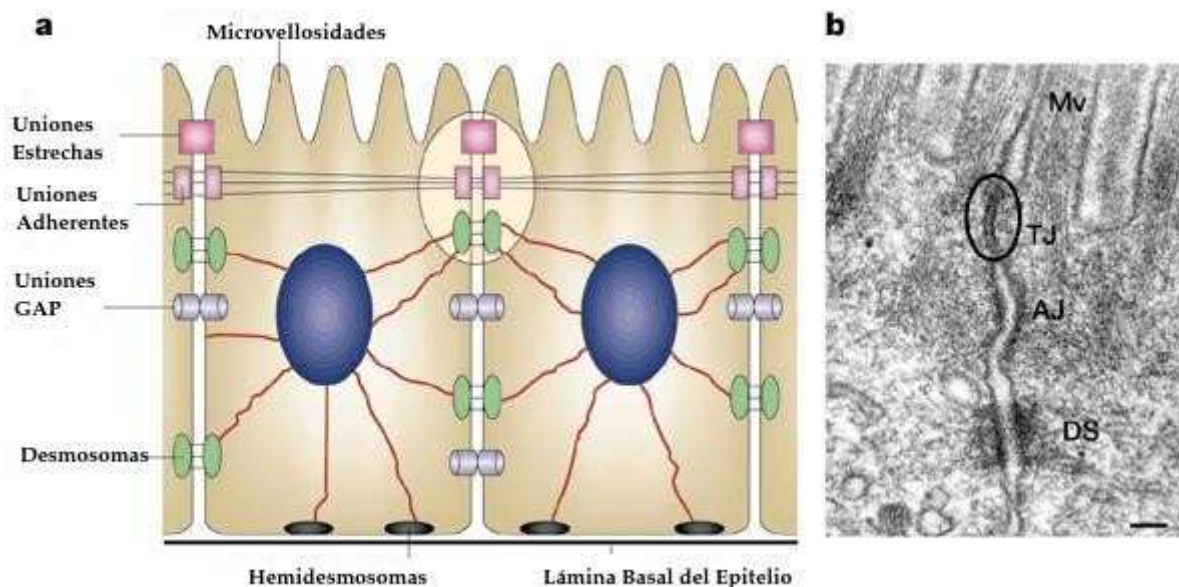


Figura 8. a. Dibujo que muestra la estructura del tejido epitelial en animales, representando gráficamente los complejos proteicos que le dan la integridad estructural característica y b. Fotografía de microscopía electrónica que muestra las estructuras *in situ* : Desmosomas (DS), Uniones Adherentes (AJ), Uniones estrechas (TJ), Microvellosidades (MV). En Tsukita et al., 2001.

El mesénquima o tejido mesenquimal es de naturaleza conjuntiva proveniente del mesodermo del cual se derivan gran parte de los tejidos orgánicos. Es un tipo de tejido conectivo laxo, de

consistencia viscosa, rica en fibras de colágeno y fibroblastos que mediante el proceso de diferenciación dará lugar a los vasos sanguíneos y órganos cardiovasculares, al músculo liso, al mesotelio, sistema linfático y tejido conectivo. Las células mesenquimales no forman una capa de células, ni tienen la misma organización apical-basolateral ni la polarización de las moléculas de la superficie celular y el citoesqueleto de actina, como lo tienen las células epiteliales. Ellas se ponen en contacto con las células vecinas mesenquimales sólo de manera focal y no se asocian con la lámina basal del epitelio. En cultivo, las células mesenquimales tienen una forma de huso, mientras que las células epiteliales crecen en grupos de células que mantienen la completa adhesión célula-célula con sus vecinas.

Existe una cierta plasticidad en la manera en que las células mesenquimales migran, como cadenas de células o como células individuales, de manera ya sea cíclica de extensión-retracción, o de tipo ameboide. Las células epiteliales se pueden convertir en células de mesénquima por medio de un proceso conocido como transición epitelio-mesénquima (por sus siglas en inglés EMT) (Schöck y Perrimon, 2002) . Durante la embriogénesis, un número de señales extracelulares pueden convertir células epiteliales en mesenquimales y viceversa mediante la activación del sistema de transición epitelio-mesénquima. Estos procesos regulan a su vez sucesos importantes durante las primeras etapas de desarrollo de la mayoría de los organismos, por lo que es importante considerarlos al estudiar la emergencia de patrones de color como estructuras epiteliales que emergen durante etapas tempranas de desarrollo dentro de una matriz mesenquimática (Thiery y Sleeman, 2006).

En la imagen siguiente podemos ver una fotografía en la que nos muestran la interacción de los tejidos epiteliales y mesenquimales en embriones de ratón.

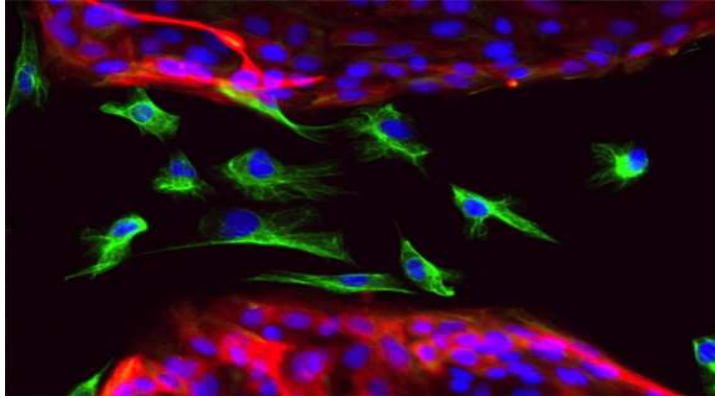


Figura 9. Fotografía que muestra a las células epiteliales en rojo con núcleos azules y células del mesénquima en verde en donde puede verse estos procesos de transición e interacción entre estos dos tipos de células embrionarias. Christina Scheel, laboratorio Whitehead en <http://mit.edu/news/archive>.

A continuación se muestra cómo los mecanismos antes descritos, resultan en la propuesta de este trabajo. En el que vemos que las células embrionarias epiteliales y los tejidos mesenquimáticos con cualidades viscosas y a la vez elásticas, se establecen durante el desarrollo y generan mediante tensiones y fuerzas, formas, patrones, controles de tamaño, información de corto y largo alcance, vitales para la morfogénesis.

## Capítulo 3

### Un modelo acerca de la morfogénesis de los patrones de color



Ilustración de Haeckel titulada Lasertilia en [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Haeckel\\_Lacertilia.jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Haeckel_Lacertilia.jpg)

Para el caso del desarrollo de los patrones de color y el modelo que se presenta, es importante comprender la manera en la que las células interactuantes se comportan siendo fundamental para entender el modelo que proponemos. En esta tesis hemos trabajado con las células de pigmento que se observan en vertebrados pero el modelo se ha formulado con la información de células de pigmento que se encuentran en los anfibios, peces y reptiles. En el caso de los mamíferos, los tipos celulares tienen características diferentes, sin embargo consideramos que nuestro modelo también puede tener relevancia en el desarrollo de los mamíferos, sin embargo la comprobación de dicha suposición está fuera del alcance de esta tesis.

Las células encargadas de generar patrones de color o células de pigmento, migran a partir de la cresta neural y se establecen en un fondo mesenquimático ya diferenciadas, ahí mediante diversos procesos dinámicos establecen patrones de color los cuales son característicos de cada organismo.

Para analizar dichos patrones hemos seleccionado como grupo modelo a las serpientes ya que poseen una geometría simple tanto morfológica como de los patrones de color en sí, los cuales son geométricamente definibles y periódicos. Utilizamos la información embriológica existente principalmente de anfibios la cual ha sido descrita detalladamente por Epperlein y Löfberg (1990), debido a que existe poca información embriológica en serpientes. Sin embargo ambos grupos poseen planes corporales muy parecidos y patrones análogos tanto morfológicos como genéticos relacionados con la cercanía evolutiva que poseen.

Por lo tanto los anfibios urodelos como los reptiles, comparten mecanismos de migración y diferenciación de las células de pigmento a partir de la cresta neural, estructura de transición específica de los vertebrados de la cual derivan varios tipos celulares, como lo son las neuronas y las células de Glia del sistema nervioso periférico, las células endocrinas, componentes del tejido conectivo, y las células de pigmento, como se esquematiza en la Figura 10.

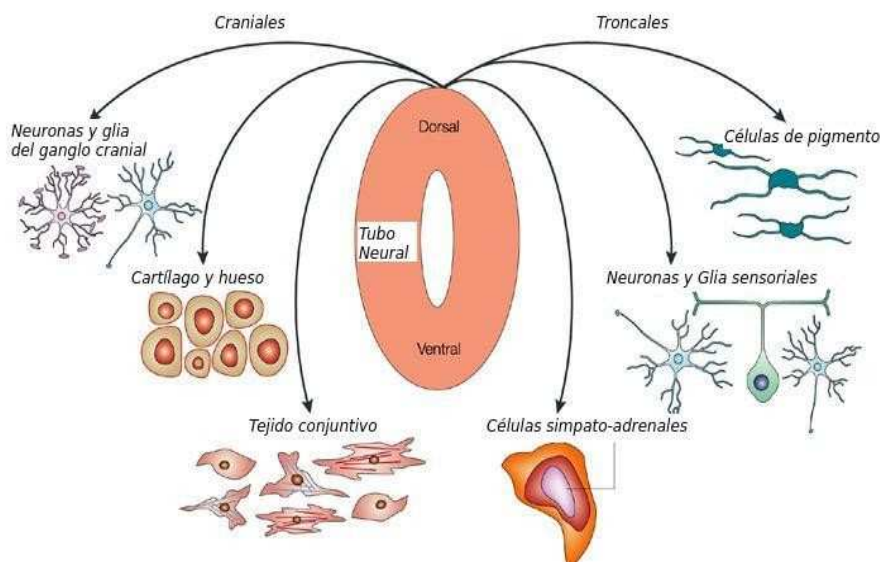


Figura 10. Esquema que muestra a la cresta neural y sus derivados. Las células de la cresta neural migran a través del cuerpo y se diferencian en muchos tipos celulares ya que son células pluripotentes, existen diferencias entre las células ya que son generadas a partir de diferencias anteroposteriores: las células del tronco forman los melanocitos y diferentes tipos de neuronas y células de glia; de la parte cranial o la cabeza surgen derivados del mesénquima como cartílago, hueso y tejido conjuntivo. Imagen modificada de Knecht y Bronner-Fraser, 2002.

Como ya se ha visto, debido a que las células están ligadas mediante interacciones célula-célula y con la matriz extracelular y el sustrato, éstas pueden comunicarse mecánicamente unas con otras y sincronizar decisiones individuales para actuar en colectivo dando origen a patrones celulares, que son de suma importancia para la morfogénesis como se verá a continuación.

La interacción de tejidos es compleja, especialmente la asociación de epitelio-mesénquima embrionario en el caso de los patrones de color en los embriones de vertebrados, ya que implica distintos niveles de interacción, comunicación célula-célula, comunicación entre tejidos que interaccionan a través de la membrana basal del epitelio, o por la comunicación extracelular entre uno o ambos tejidos (Edelman, 1988; Takeichi, 1988; Bhatia et al., 1999).

Para entender la manera en la que emergen los patrones de color en la piel de vertebrados, el modelo propuesto incluye los componente celulares del patrón y la interacción con el tejido de fondo, en este caso las células epiteliales y el mesénquima del organismo en desarrollo. La formación de patrones de pigmento en vertebrados inicia en las primeras etapas del desarrollo y como muchos de los procesos clave del desarrollo, implica la disposición de láminas epiteliales y tipos celulares en relación con el tejido mesenquimático o mesénquima (Schöck y Perrimon, 2002).

El tejido mesenquimático es entonces un tejido embrionario en el que las células de pigmento (cromatóforos en el caso de peces, anfibios y reptiles; cromatocitos en el caso de mamíferos) migran durante la formación de patrones de color. De ahí la importancia para este trabajo. El tejido mesenquimático es de tipo fibroso con baja celularidad, funciona como una matriz bifásica que consiste en partes sólidas, partes fluidas, y viscoelásticas (figura 11), es decir, que exhiben características tanto viscosas como elásticas cuando se deforman, mostrando compresión heterogénea o patrones de tensión a diferencia de otro tipo de tejidos (Grinnell y Petroll, 2010). Por lo tanto, este tipo de tejido presenta un comportamiento intermedio entre lo elástico y lo viscoso, que se observa cuando se le aplica una presión o esfuerzo y luego se deja de ejercer recuperando parte de la deformación aplicada (Forgacs, et al., 1998).

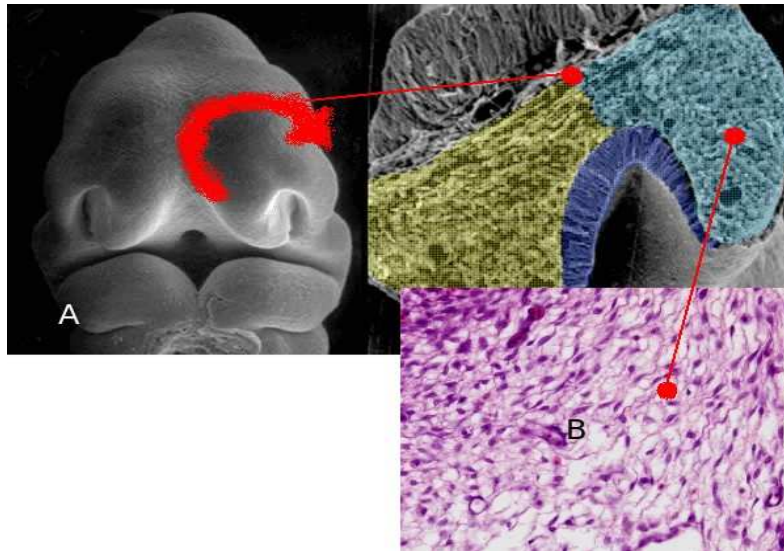


Figura 11. Foto compuesta que muestra la morfología del tejido mesenquimático. A, corte a través de la línea roja del embrión que deja ver el mesénquima en amarillo y azul claro y el epitelio en azul oscuro en un embrión humano. B, foto de microscopia electrónica del tejido mesenquimático de un embrión de pollo.

Teniendo en cuenta las propiedades características del tejido mesenquimático los diferentes tipos celulares que migran durante el desarrollo, se adhieren en el tejido, reorientando las fibras y deformando el fondo en el que se mueven de manera que se generan, gracias a la adhesión diferencial ya antes mencionada y a la dinámica de fuerzas asociadas, líneas de tensión visibles en los tejidos en desarrollo. En la figura 12 podemos ver cúmulos de células que generan conexiones fibrosas unas con otras en un fondo de tipo viscoelástico. Gracias a estudios en los que se observan estos comportamientos se ha demostrado tanto *in vivo* como experimentalmente *in vitro*, que dichas líneas se convierten en guías para la migración celular y la acumulación subsiguiente de éstas en los tejidos en desarrollo (Weiss, 1959; Grinnell y Petroll, 2010; véase fig. 11).



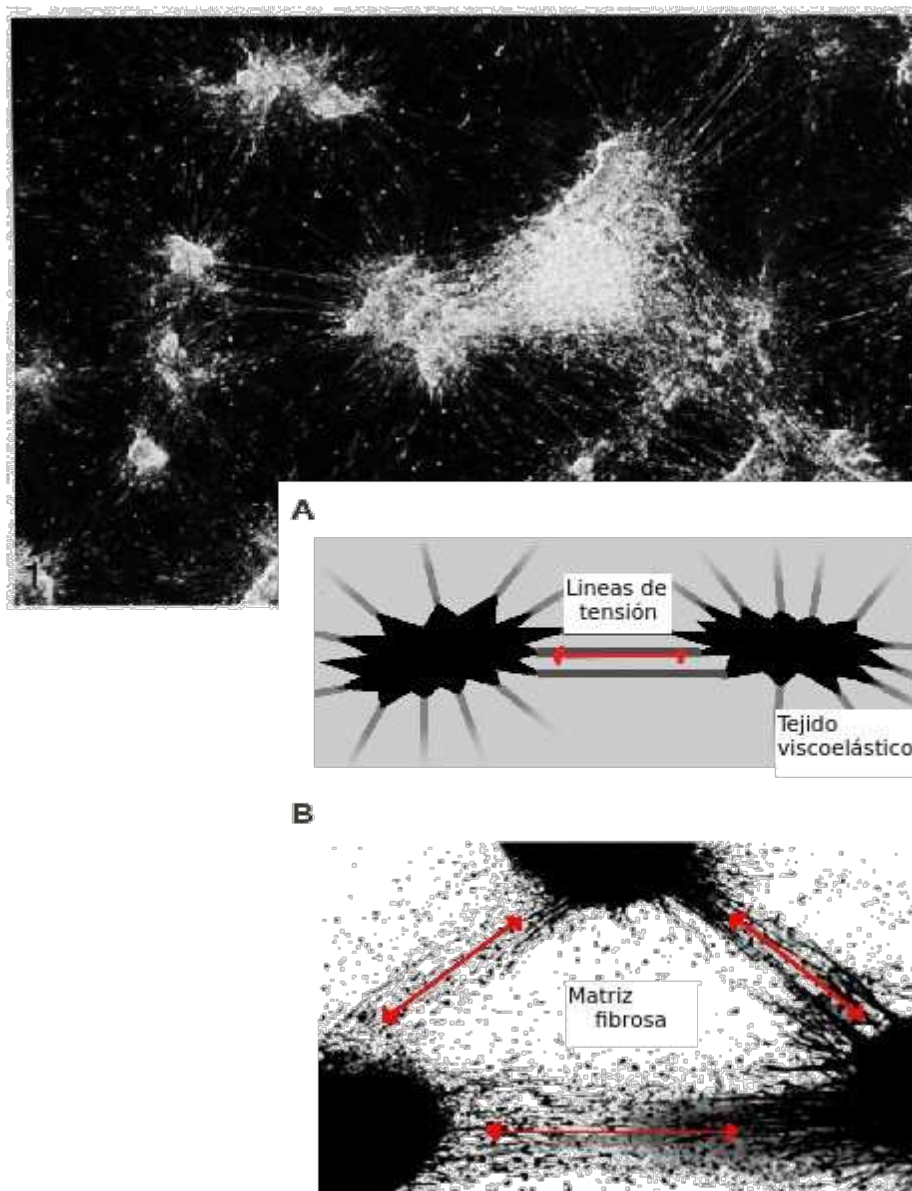


Figura 12. A, fotografía de microscopía electrónica de células de mesénquima creciendo en un sustrato elástico deformable en el que se ejerce una fuerte tracción. La tracción celular deforma el sustrato, produciendo arrugas de compresión entre células, y arrugas de tensión radiales. Las arrugas de tensión se extienden a cientos de células de diámetro. B, en un sustrato como una matriz de colágeno, la tracción celular puede alinear la matriz radialmente en patrones arrugados de tensión (En Oster y murray, 1983; Caballero et al., 2012, Weiss, 1959).

una vez planteado lo anterior, en este trabajo proponemos que la migración de los cromatóforos o células de pigmento epiteliales en el mesénquima genera, mediante la deformación del tejido en el que se establecen, huellas o líneas de tensión en las que las células de pigmento o cromatóforos tenderán o preferirán migrar, por lo que serán más propensos a adherirse y formar patrones de color. En una revisión reciente, Grinnell y Petroll (2010) muestran una explicación detallada de los mecanismos implicados en la adhesión y migración de células embebidas en una matriz

viscoelástica. Mencionan que las células mediante tracción y contracción pueden deformar tejidos viscoelásticos, estableciendo interacciones locales adhesivas que generan la contracción del fondo o tejido donde las células van a establecerse. Es importante destacar que esta deformación da lugar a fuerzas, que en este trabajo hemos definido como fuerzas de largo alcance, las cuales contribuyen en los sistemas en desarrollo generando información local y que puede transmitirse a lugares relativamente lejanos, influyendo en la regulación de la migración, posterior establecimiento celular y otro tipo de procesos no del todo claros (Weiss, 1959; Stopak y A.K. Harris, 1982 ). Como podemos ver en la figura siguiente, las células al interactuar, jalan el fondo viscoelástico en el que han sido cultivadas generando líneas de tensión claramente dibujadas entre dos células separadas físicamente.



Figura 13. Imagen que muestra dos grupos de células cardíacas cultivadas en un gel de colágeno en la que podemos ver como se ha formado un camino de colágeno entre los dos grupos celulares, debido a la tracción que generan entre sí (en Stopak y A.K. Harris, 1982.).

Oster y Murray hace casi 30 años (Oster et al., 1983; Murray et al., 1983; Murray et al., 1988) presentaron lo que ellos llamaban el enfoque mecanoquímico de los patrones biológicos y del desarrollo. Este enfoque considera a las fuerzas mecánicas que actúan sobre células y tejidos como un aspecto clave en la comprensión del origen de los patrones biológicos. En particular, estos autores señalan la importancia del movimiento de células al azar o haptotaxis (movimiento celular en un gradiente adhesivo), la contracción de la matriz extracelular a través de la adhesión celular, la migración, y la orientación por el contacto de células con su sustrato mediante pistas geométricas, las cuales se observan en las figuras 12 y 13 como bandas de tensión que bien podrían considerarse huellas con formas geométricas debidas a la tensión entre cúmulos de células o entre una célula y otra lejana en un mismo sustrato.

A partir de estos trabajos Murray y colaboradores en 1988 formularon un modelo matemático del movimiento y de la agregación celular basado en estas fuerzas mecánicas, poniendo de manifiesto que, para una versión simplificada de su sistema de ecuaciones, que se centra principalmente en la orientación de contacto y la tracción de células, se pueden generar una gran variedad de soluciones que corresponden a los diferentes patrones de concentraciones de células que observamos, incluyendo patrones periódicos de manchas y rayas. Este modelo matemático y sus soluciones analíticas sugieren que la formación de patrones puede tener lugar en medios viscoelásticos en el que migran las células de pigmento, y por lo tanto proporcionar una base matemática sólida para el estudio profundo de la formación de patrones durante el desarrollo.

Aunque en dichos trabajos se menciona que la aproximación mecanoquímica podría ser útil para entender la formación de patrones en el pelaje de animales (Murray et al., 1988), los patrones de pigmento en vertebrados no se han estudiado desde este punto de vista. En este trabajo, se propone avanzar el conocimiento en este aspecto con un modelo fenomenológico que recupera las características biológicas principales de nuestro sistema de estudio y que puede representarse por medio de una ecuación simple del equilibrio de la energía la cual se muestra en el apartado del modelo matemático que se propone en esta tesis.

En el presente trabajo, proponemos que únicamente la afinidad celular que da lugar a la atracción entre cromatóforos similares, puede explicar la formación de manchas circulares y la formación de

anillos de pigmento y que la repulsión entre células diferentes puede generar los cambios de color en el patrón. Sin embargo existen patrones que se alejan de la forma circular o lineal y que es importante explicar, por lo que postulamos que la existencia de patrones alejados de las formas básicas, es decir manchas circulares, bandas longitudinales y anillos, pueden deberse a que la tracción y deformación del mesénquima, debido a la interacción entre células y fondo mesenquimatoso, podría explicar la formación del resto de los patrones que observamos en la piel de los vertebrados, como resultado de variaciones locales en los potenciales de adhesividad celular. En el siguiente capítulo se presenta un enfoque simple y formal para predecir la posición de zonas de acumulación de células, generadas por la deformación del sustrato en ciertos animales.

### 3.1 Patrones de color en Urodelos



Fotografía compuesta que muestra cuatro especies de urodelos donde se muestran diferentes tipos de patrones de color en [www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)

Para estudiar la formación de patrones de color y validar nuestro modelo de formación de patrones, hemos considerado la información proporcionada por los estudios embriológicos en anfibios, específicamente en urodelos, (Epperlein et al., 1996; Epperlein y Lofberg, 1990; 1996; Parichy, 2006), así como la evidencia de diversos patrones de color en serpientes, y algunos datos genéticos con respecto a los patrones y modelos en el pez cebra.

Los urodelos y las serpientes comparten características corporales que los hacen adecuados para el estudio de los patrones de color. Es decir sus cuerpos son largos y casi cilíndricos, al menos en algunas regiones del cuerpo y los patrones de color son geoméricamente bien definidos. Estos animales también poseen migración de células de pigmento y patrones de diferenciación que son análogos a los que ocurren en la cresta neural de otros vertebrados. Los patrones en la piel de las serpientes tienen dinámicas embriológicas similares a los urodelos, ya que son grupos cercanos evolutivamente hablando, por lo que las bases genéticas del desarrollo y diferenciación de células de pigmento están muy conservadas (ver revisión de Braasch et al., 2007). En ambos casos los cromatóforos de dos o más tipos migran entre la membrana basal del epitelio y el mesénquima del embrión (Alibardi, 2011).

A continuación se muestran los procesos migratorios de las células de pigmento a partir de la cresta neural. Como ya se había mencionado antes, la cresta neural es una estructura embrionaria única en los vertebrados y da origen a una gran cantidad de derivados celulares. La cresta neural surge de la región del borde de la placa neural, entre la placa neural y el ectodermo adyacente. Las células de la cresta neural se diferencian gracias a una combinación de señales inductoras que inician durante la gastrulación. Dichas células se mantienen en la frontera de la placa neural durante la neurulación, la placa neural se transforma durante el aumento de los pliegues neurales y, después del cierre del tubo neural, las células de la cresta integran un dominio en el tubo neural dorsal, tal como se puede ver en la Figura 14 (Epperlein et al., 1996; Henderson y Copp, 1997; Nakagawa y Takeichi 1998; Le Douarin y Dupin, 2003; Schmidt and Patel, 2005 ).

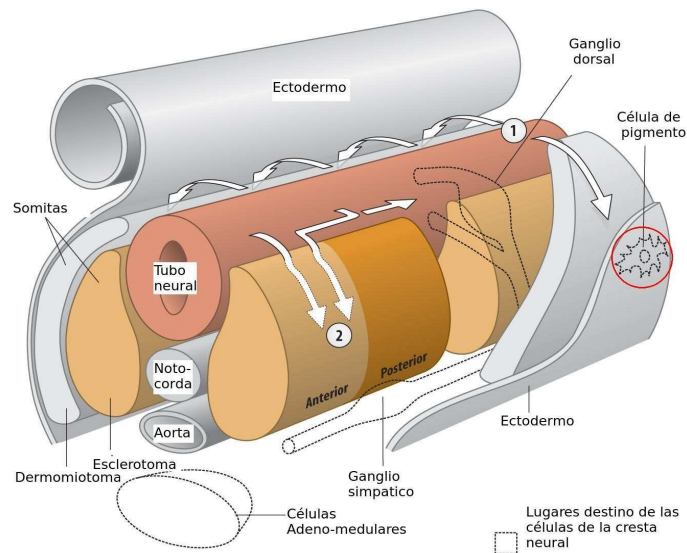


Figura 14. Imagen que muestra el tronco de un embrión de pollo y las vías de migración de las células de la cresta neural. Las estructuras que se punteadas son los lugares destino de dichas células. La ruta señalada por el número 1 nos muestra que a partir de la zona dorso-lateral bajo el ectodermo y entre las somitas va a dar lugar a las células pigmentarias de la piel y las plumas como se muestra en el círculo rojo (modificado de: [http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL3530/DEVO\\_08/ch08f36.jpg](http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL3530/DEVO_08/ch08f36.jpg).)

Las células de la cresta neural primero se vuelven morfológicamente identificables como grupo de células migratorias cuando pierden conexiones con otras células neuroepiteliales durante la fase de delaminación. Esto involucra a su vez una completa o parcial transición epitelio mesénquima (EMT) (Bronner y Le Douarin, 2012). En ese momento las células son multipotenciales, es decir son células madre, las cuales migran a lo largo de vías definidas y se diferencian en los distintos tipos celulares (véase Figura 15). Tras la fase de migración se instalan en diversos destinos y se diferencian en una amplia variedad de tipos celulares, siendo los cromatóforos uno de ellos (Epperlein et al., 1996; Henderson y Copp, 1997; Dupin y Le Douarin, 2003; Schmidt y Patel, 2005).

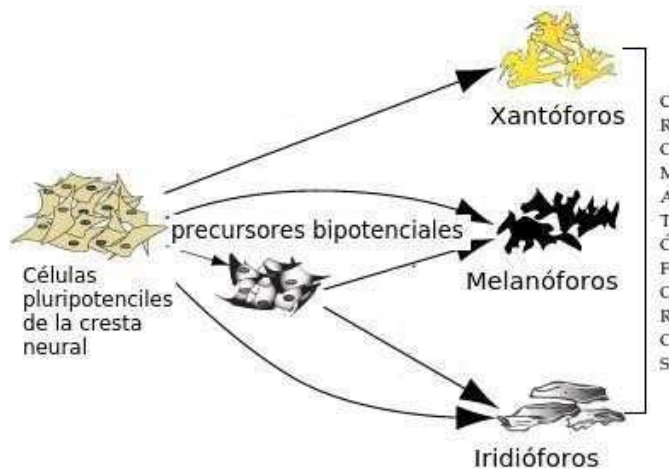


Figura 15. Esta imagen representa la ruta de diferenciación de las células de tipo pluripotencial de la cresta neural y los tipos celulares o cromatóforos a los que dan origen, en este caso los xantóforos en amarillo, melanóforos e iridióforos a partir de precusores bipotenciales, negros y plateados respectivamente (modificado de Curran; et al., 2010).

En el caso de los anfibios, se han identificado cuatro tipos de células de pigmento: melanóforos (negro), xantóforos (amarillo), eritróforos (rojo), e iridioforos (plata). Estos melanóforos generan patrones diferentes, dependiendo de la etapa del desarrollo de la especie en cuestión. Los patrones que surgen pueden incluir franjas horizontales o verticales, manchas circulares, ovaladas o una pigmentación uniforme (Epperlein y Lofberg, 1990).

Para este sistema durante la formación de patrones de pigmento los cromatóforos interactúan físicamente con otros cromatóforos y con el tejido mesenquimático en el que se mueven durante la migración. Con base en ello proponemos que en el caso de las células de pigmento, los patrones de color pueden surgir a partir de “huellas de tensión” generadas durante estados tempranos del desarrollo en los que las células de pigmento al interactuar con el mesénquima jalan generando arrugas. Las células durante el desarrollo presentan divergencias en los tiempos de migración generando a su vez, distintos patrones de tensión y por lo tanto diferencias específicas de cada especie en los patrones de color, por lo que la interacción y dinámica celular juega un papel fundamental en la emergencia de los patrones (ver en Caballero et al., 2012).

Para ilustrar esta idea se considera el caso de los embriones de *Ambystoma mexicanum* y *Triturus alpestris*, los cuales tienen bandas de pigmento alternantes, transversales y longitudinales respectivamente de melanóforos y xantóforos (Fig. 16). Los arreglos de las células

de pigmento en estas especies no son iguales, presentan diferencias a diferentes niveles, por ejemplo en la interacción de melanóforos y xantóforos durante la migración a partir de la cresta neural, diferencias en los tiempos de migración y diferenciación entre otras, lo que apoya nuestra tesis acerca de que las diferencias en la dinámica migratoria y establecimiento de las células y su tejido blanco, son fundamentales para el patrón resultante. De esta manera con base en los trabajos experimentales de la migración celular de dichos anfibios hecha por Epperlein y Löfberg en 1990, a continuación en la figura 16 se representa esquemáticamente la migración celular.

La figura 16 A corresponde a la representación esquemática de la migración de patrones de pigmento en *Triturus alpestris*. Los puntos negros representan los melanóforos y los grises los xantóforos en el estadio del desarrollo 28. Los estadios del desarrollo se fijan según la especie y van de segundos, días, semanas o meses (NC: Neural Crest, Cresta Neural, NT: Neural Tube, Tubo Neural). En los embriones de *Triturus*, melanoforos y xantoforos comienzan a migrar al mismo tiempo formando bandas horizontales. B es la representación esquemática de la migración de células de pigmento en *T. alpestris* en el estadio 28/29. Los embriones de *Triturus* evitan la agregación celular en la cresta neural y forman una capa celular simple. En C. se representa esquemáticamente la migración de células de pigmento en *Triturus alpestris* en el estadio 34. (DF:Dorsal Fin, aleta dorsal). (Dibujos basados en Epperlein Löfberg, 1990). El recuadro D muestra las bandas longitudinales de células de pigmento en larvas de *Triturus*. E es la representación esquemática de patrones de pigmento en *Ambystoma mexicanum* estadio 30/31. Los círculos negros representan los melanóforos y los grises los xantóforos (NC: Neural Crest o Cresta Neural, NT: Neural Tube, o Tubo Neural).

En el *Ambystoma* las células de pigmento son visibles como células diferenciadas en la cresta premigratoria, los melanóforos aparecen varios días antes que los xantoforos. Algunos melanóforos dejan la cresta, y se distribuyen en los costados, mientras que otros esperan en la posición de la cresta premigratoria. F muestra de manera esquemática el desarrollo de los patrones de color en *Ambystoma mexicanum* estadios 35/36. (NC: Neural Crest o Cresta Neural, NT: Neural Tube o Tubo Neural DF: Dorsal Fin o Aleta Dorsal). En contraste con *Triturus*, *Ambystoma* forma una multicapa que facilita el arreglo en grupos de células en la cresta neural.



Los xantóforos pueden estar mezclados con los melanóforos en grupos de cromatóforos. G. Representa el proceso de patronamiento en *Ambystoma mexicanum* en el estadio 41 (DF: Dorsal Fin o Aleta Dorsal; basado en Epperlein Löffberg, 1990). Por último, en el recuadro marcado con H se enfatiza las bandas verticales de células de pigmento en la larva de *Ambystoma* (En Caballero et al., 2012).

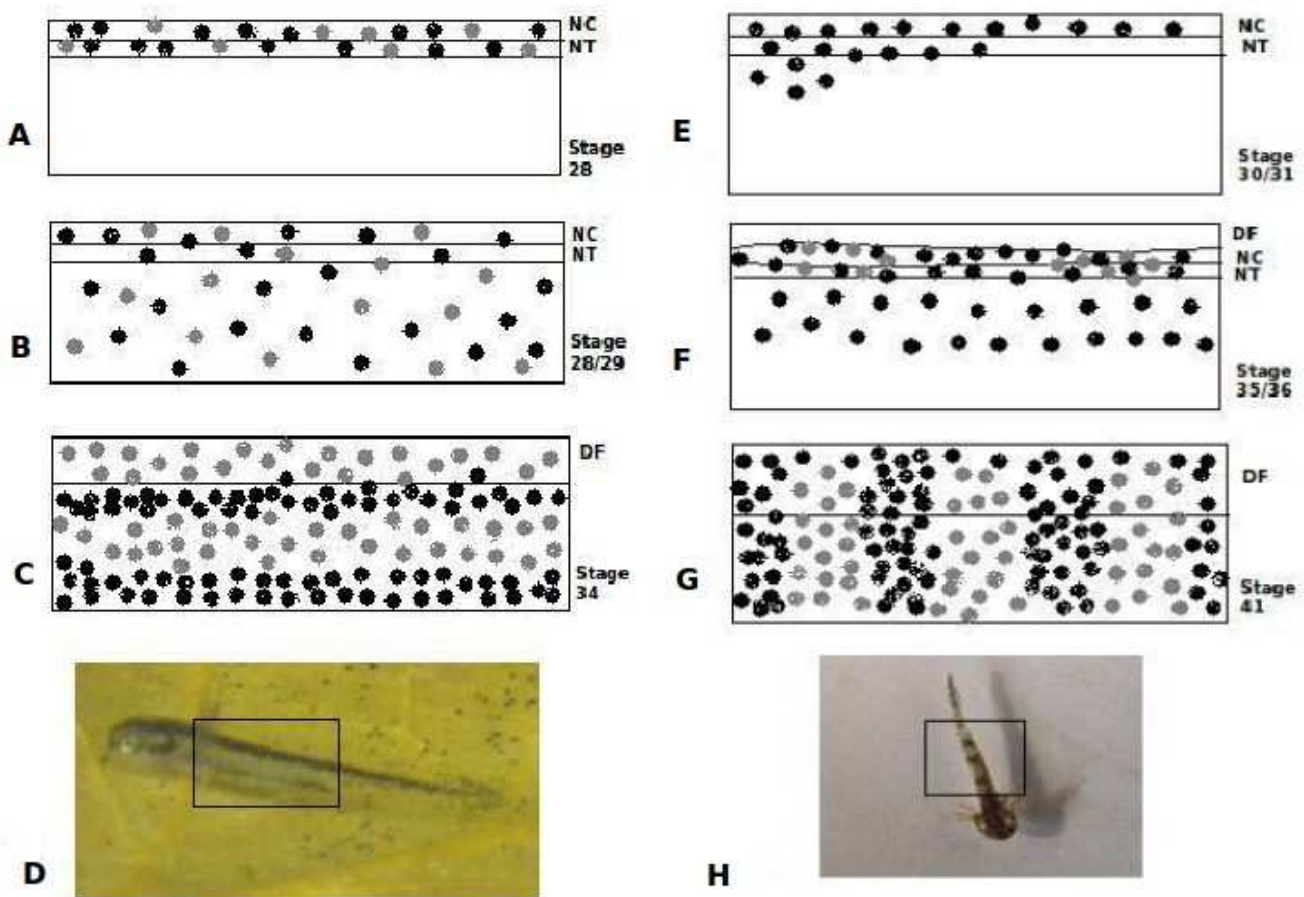


Figura 16. Patrones de pigmento en *Triturus alpestris* y *Ambystoma mexicanum*. En Caballero; et al., 2012.

Una de las condiciones para la migración y la formación de patrones de pigmento en *Triturus* es la presencia de patrones específicos en la matriz extracelular como veremos a continuación (Epperlein y Löffberg, 1990). En las larva de *Triturus*, los melanóforos que en un principio están dispersos, más tarde se agrupan longitudinalmente a diferencia de los embriones de *Ambystoma*, en los que dicho patrón no se observa y las células de pigmento se arreglan en bandas verticales. Experimentalmente puede verse que las células de pigmento tomadas de *Triturus* forman bandas longitudinales en *Ambystoma* (Epperlein y Löffberg, 1990). Si bien pueden formarse bandas

horizontales en ambos organismos, el contraste en los patrones en estas dos especies puede resultar de los diferentes niveles de interacción entre melanóforos, xantóforos, y el fondo en el que se establecen, es decir el tejido mesenquimático.

En la literatura existen otras explicaciones para la formación de patrones de pigmento en la piel de vertebrados, incluyendo entre ellas la propuesta de que las bandas de pigmento podría generarse mediante la existencia de pre-patrones, los cuales guían la migración y el establecimiento celular (Murray, 1981; Parichy, 1996; 2006; 2003). Se ha propuesto que el sistema sensorial o línea lateral presente en el pez cebra, podría ser parte de estos pre-patrones (ver en Parichy, 1996). La línea lateral constituye una "región libre de melanóforos" (Parichy, 1996). Sin embargo, en dicho trabajo también se demuestra que en salamandras la línea lateral no es determinante para la aparición del patrón de color. Ello sugiere que la existencia de la línea lateral no es una estructura suficiente para explicar el establecimiento de bandas horizontales en estos grupos. Desde nuestra perspectiva, las regiones en las que los cromatóforos son más propensos a adherirse no están establecidas previamente al patrón de pigmento, sino que surgen a partir del establecimiento de las células de pigmento como resultado de la dinámica migratoria, la cual es diferente en cada especie.

Otra hipótesis es que los patrones de pigmentación exclusivos de cada linaje surgen de mecanismos reguladores específicos bioquímicos y genéticos, así como de determinadas interacciones de corto alcance entre cromatóforos (por ejemplo ver, Maderspacher y Nusslein-Volhard, 2003). Sin embargo, como se verá más adelante, la aparición de los patrones de pigmentación requiere interacciones no sólo entre los diferentes tipos de cromatóforos, sino también con el sustrato de fondo. Esto es importante ya que se sabe que un mismo genotipo tiene capacidades plásticas para generar muchos patrones distintos en un mismo organismo, esto explica que los patrones durante etapas tempranas del desarrollo no son los mismos que surgen en diferentes etapas del desarrollo del organismo en cuestión, es decir un mismo genotipo se expresa en diferentes fenotipos debido a influencias con el ambiente (Gilbert, 2003).

Sin negar la presencia y relevancia de los mecanismos específicos de linaje o de ciertas señales químicas, se propone un modelo para un mecanismo potencialmente genérico que se basa en las

interacciones célula-célula, tisulares y en las propiedades físicas características de los tejidos en desarrollo. Sin embargo, a pesar del objetivo unificador de este modelo, se reconoce que algunos grupos pueden tener patrones específicos y mecanismos subyacentes que dependen de las interacciones celulares particulares y los procesos de migración durante el desarrollo.

### **3.2 Morfogénesis y modelación de patrones de color**

En esta sección se describirá el modelo que hemos propuesto en este trabajo, el cual está basado principalmente en el postulado de que existen campos de tensión que emergen en el mesénquima debido a su alto contenido de proteínas fibrilares y a la flexibilidad o capacidad visco-elástica (Buxboim et al., 2010) y a las fuerzas mecánicas que ejercen las células. Se ha demostrado experimentalmente que las células en los tejidos siguen huellas mecánicas producidas por ellas mismas en el sustrato en el que se adhieren (ver Harris et al., 1981; Oster et al., 1983; Grinnell y Petroll, 2010 y las referencias en él, ver Tabla 1 sección 3.4, Weiss, 1959). A este fenómeno se le ha llamado orientación por contacto:

*Las células que se adhieren o se dispersan en una matriz en varios puntos de la superficie, ejercen una fuerza de contracción, o tracción en estas adherencias. Si esta fuerza de contracción es más fuerte que las adherencias en otros lugares de la célula, la célula tirará hacia sí en la dirección del vector de la fuerza neta ejercida por estos apéndices. Si el material de la matriz es deformable, estos apéndices que contraen también jalarán a la matriz hacia la célula, comprimiendo y alineándola (Oster et al., 1983).<sup>11</sup>*

Estudios acerca de la dinámica de células en cultivo sobre láminas de silicón (Oliver et al., 1994; 1995; Burton y Taylor, 1997) han mostrado cómo las células pueden modificar el sustrato viscoelástico donde se cultivan y generar huellas de tensión o arrugas que proporcionan una guía

---

<sup>11</sup> "A spreading or migrating cell adheres to the matrix material at various points on its surface, and exerts a contractile force, or traction on these adhesions. If this contractile force is stronger than the adhesions elsewhere on the cell, the cell will pull itself in the direction of the net force vector exerted by these appendages. If the matrix material is deformable, these contracting appendages will also draw the matrix in towards the cell, compressing and aligning it" (Oster et al., 1983).

para la formación de arreglos celulares, actuando así en la migración, acumulación, y adhesión de las células en cuestión. Véase Figura 17 (Maskarinec; et al., 2009, Tabla 1 sección 3.4).



Figura 17. Fotografía de microscopía electrónica de fibroblastos de pollo en cultivo ejerciendo fuerza sobre el sustrato visco-elástico, en este caso láminas de silicón, generando un patrón arrugado que se propaga entre las células vecinas. Harris, et al., 1980.

En el trabajo pionero de Weiss (1959) se muestra cómo la migración celular se lleva a cabo a lo largo de líneas de tensión. En dicho trabajo Weiss y sus colaboradores observaron experimentalmente que mediante la generación de líneas de tensión, lograban conectar tres fragmentos de tejido en crecimiento en una matriz, y observaron que al generar dichas líneas de tensión se convertían en zonas preferenciales en la acumulación celular (ver figura 12).

Como se mencionó anteriormente, los cromatóforos al interactuar con el tejido mesenquimal durante el desarrollo y establecer uniones adhesivas, resultan en la deformación del mesénquima (Weiss, 1959; Grinnell y Petroll, 2010; Hakkinen et al., 2010). Esto nos ha llevado a postular que la guía de contacto puede tener un papel importante durante la migración y la disposición de cromatóforos (Tabla 1 en la sección 3.4). Un ejemplo del mecanismo físico que subyace a estas fuerzas de largo alcance está dado por un experimento llevado a cabo por Di Leonardo y colaboradores (2008). Estos autores mostraron que incluso cuando se colocan partículas

inorgánicas microscópicas en una película líquida delgada, éstas modifican la superficie y, debido a la tensión superficial, emerge una fuerza atractiva de largo alcance entre las partículas.

Para ilustrar estas ideas, se ha mencionado el caso de los urodelos *Ambystoma mexicanum* y *Triturus alpestris*, en donde se observan franjas alternadas de pigmento transversales y longitudinales respectivamente, de melanóforos y xantóforos (Fig.16). Estos arreglos no son los mismos en las dos especies, Como se vio en la sección anterior los experimentos de migración celular realizados por Epperlein y Lofberg en los años 90, muestran la existencia de diferencias importantes en los tiempos de migración de melanóforos y xantóforos y por lo tanto de la interacción espacio temporal entre ambas. Estas diferencias de interacción ocurren desde que inicia la migración de las células a partir de la cresta neural en embriones de las dos especies. Asimismo, se muestra una representación esquemática de los procesos celulares de migración de *A. mexicanum* y *T. alpestris* en diferentes etapas del desarrollo en la figura 16.

Las condiciones para la migración y la formación de patrones de pigmento van a depender de los patrones específicos de la matriz extracelular (Epperlein y Lofberg, 1990). En las larvas de *Triturus* los melanóforos que en un principio se dispersan, posteriormente se organizan longitudinalmente mientras que en el caso de *Ambystoma emergens* bandas verticales. En la literatura disponible se ha probado experimentalmente, que las células de pigmento tomadas de *Triturus* forman bandas longitudinales en *Ambystoma* (Epperlein y Lofberg, 1990) y que las líneas de fondo horizontales pueden formarse en ambos organismos. Esto nos habla de que los distintos patrones en estas dos especies son resultado como se ha mencionado de los diferentes niveles de interacción entre células, con el fondo en el que se adhieren, los tiempos de aparición y ritmos migratorios, lo que genera diferentes dinámicas que no son del todo determinadas genéticamente o pre establecidas.

### **3.3 Especificación del modelo Físico**

En esta sección se presenta un modelo fenomenológico simple que muestra cómo un campo de fondo heterogéneo es decir con variaciones adhesivas locales -que desde nuestra propuesta

corresponde al tejido mesenquimático como sistema biológico modelo- se generan marcas de tensión. Dicho sistema nos permite entender el modo en que se generan los patrones de pigmento observados en los diversos linajes de animales, e incluso dentro de un mismo individuo.

Este modelo surge a partir de la misma representación matemática que plantea el modelo físico correspondiente al comportamiento de gotas de líquido en un fondo mojado (Figs. 18, 20 A). Asimismo, en esta sección se explica la parte cualitativa de nuestra propuesta y se muestra mediante la sección del modelo matemático una representación matemática más detallada.

A continuación se plantea cómo el tamaño y la forma de una gota de líquido estarán determinados por un fondo uniformemente mojado y se utilizará este modelo como analogía para comprender diferentes tipos de patrones de pigmento. Dentro de este modelo la forma y el tamaño de las gotas y por analogía de los patrones de color, están dados por tres componentes principales (Modelo matemático para la definición matemática del modelo de la gota): interacciones uniformes de mojado con el fondo y tensión lineal o cohesión.

### **Cohesión - tensión lineal**

Existen interacciones atractivas de corto alcance entre las moléculas dentro de las gotas de líquido (Modelo matemático, Eq. 1, tercer término). Si consideramos el ejemplo simple de una gota de agua, la atracción cohesiva es causada por la polarización eléctrica de las moléculas de agua. Dadas estas interacciones, cada molécula en el interior de una gota de agua atrae igualmente a las moléculas vecinas en todas las direcciones, lo que resulta en una energía neta de cero. Sin embargo, las moléculas en la superficie de la gota no tienen moléculas vecinas en todos los lados y por lo tanto son atraídas hacia el interior, lo que genera energía de tensión en la superficie del líquido de manera que se obtenga el área mínima. Por lo tanto, las gotas de agua tienden a ser de forma esférica, siendo ésta la forma que minimiza el área de la superficie. En una disposición de dos dimensiones, la forma que minimiza el perímetro es el círculo.

La forma de la gota también puede entenderse en términos de energía. Dada la existencia de fuerzas atractivas de cohesión, las moléculas rodeadas por otras moléculas están en el estado de

energía más bajo (no se necesita ejercer una energía adicional para alcanzar esa configuración), mientras que las moléculas rodeadas por pocas moléculas o no rodeadas, están en un estado superior de energía siendo más fácil separarlas del resto. Las moléculas en el interior de una gota tienen la mayor cantidad de vecinos posible, pero las moléculas del contorno tienen menos vecinos en comparación con las moléculas en el interior y por lo tanto tienen una mayor energía. Esto puede apreciarse en la Fig. 18.

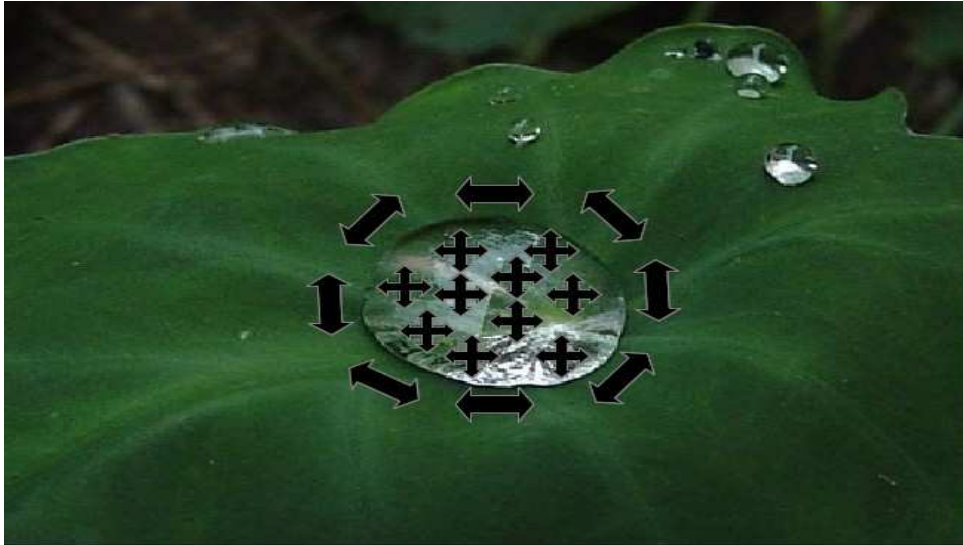


Figura 18. Fotografía de una gota de agua en la que se muestran mediante flechas las interacciones entre las moléculas que conforman la gota, generando fuerzas de cohesión que resultan en gotas esféricas como resultado de la minimización de la energía. Modificado de fotografía en : <http://mindofanil.blogspot.mx/2010/01/amazing-liquid-droplet-art-photography.htm>

El líquido, para minimizar su estado de energía y por lo tanto alcanzar el estado de equilibrio, debe de minimizar el número de moléculas del contorno. La cantidad minimizada de moléculas del contorno da como resultado un área de superficie minimizada. Puesto que cualquier curvatura en la superficie resulta en una mayor área, se forman esferas con curvatura constante en todos sus puntos.

Análogamente a las fuerzas de cohesión, las células de pigmento del mismo tipo se atraen y tienden a permanecer cerca una de la otra como puede verse en la siguiente figura (Fig. 19, Tabla 1 sección 3.4).

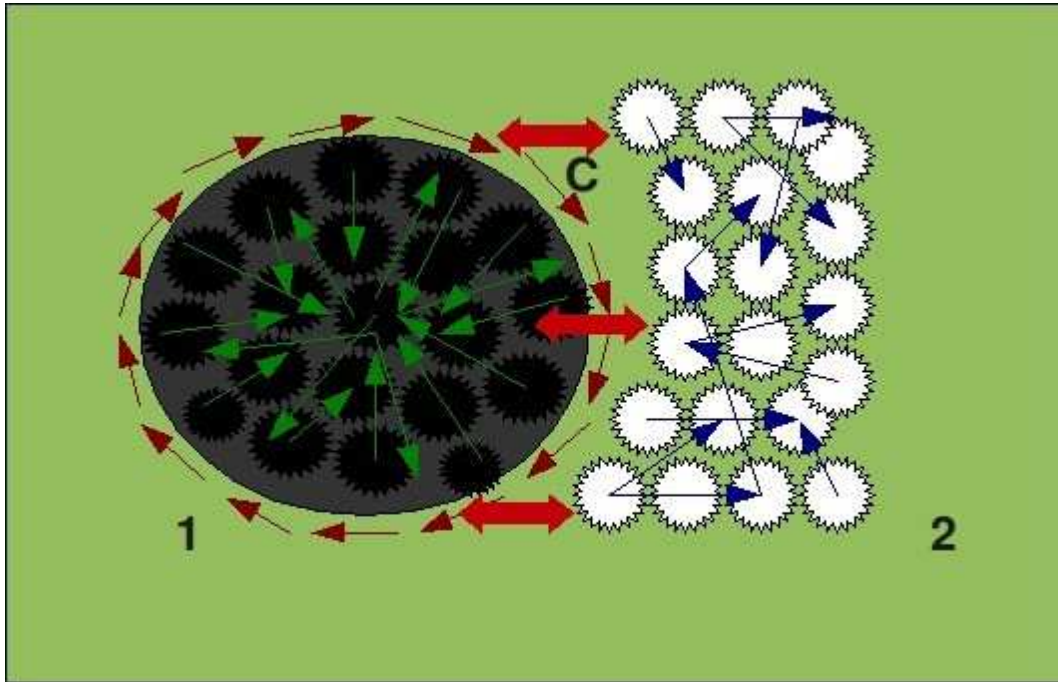


Figura 19. Interacciones celulares involucradas en los patrones de manchas. Esta figura nos muestra los dos tipos básicos de interacción: i) la atracción entre células del mismo color, representadas por las líneas verdes y ii) la repulsión, representada por las flechas rojas, entre células negras y blancas que corresponden a 1 y 2 respectivamente. Dadas solamente estas interacciones, el número de células dentro de cada mancha es proporcional al perímetro de la mancha debido a la tensión lineal la cual representamos como (c).

### ***Interacciones uniformes de mojado con el fondo***

Las moléculas en una gota de líquido se adhieren al sustrato y lo mojan (modelo matemático, ecuación 1, segundo término). Este efecto humectante se opone a las fuerzas de cohesión, lo que es la causa principal de que las gotas se rompan en otras más pequeñas después de alcanzar un cierto tamaño.



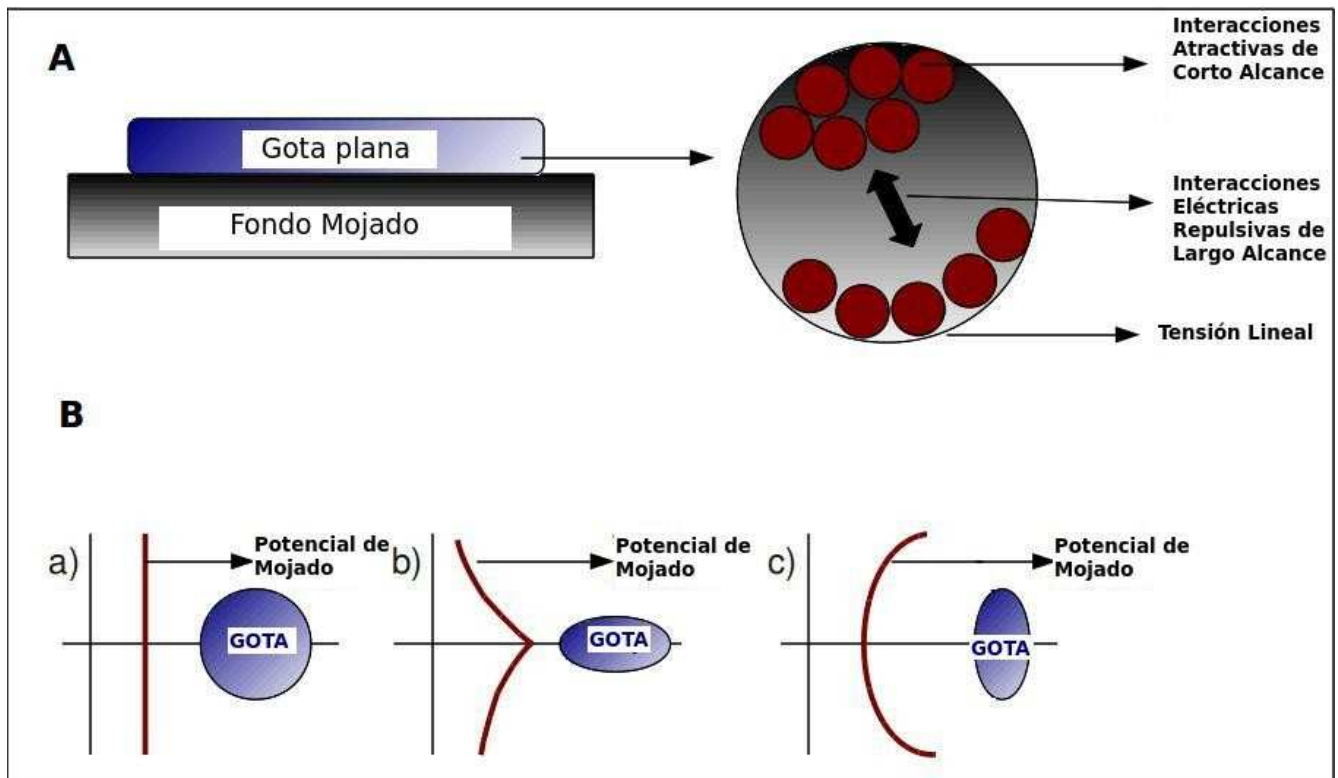


Figura 20. Potenciales hipotéticos asociados a la interacción entre gotas y el fondo mojado, células y mesénquima. A, gota de líquido plana (bi-dimensional) en un fondo homogéneo, y en segundo plano la interacción de moléculas de líquido, dentro de una gota de agua, representada como manchas circulares en rojo: interacciones atractivas molécula-molécula de corto alcance, interacciones repulsivas de largo alcance, tensión "lineal" y de mojado en un fondo heterogéneo. B, representación esquemática de los diferentes tipos básicos de gotas-manchas y los potenciales asociados con la interacción con el fondo. C, los potenciales de mojado están representados por líneas rojas, dependiendo de la interacción de la mancha con el fondo, podemos tener diferentes potenciales y por lo tanto diferentes formas de mancha. Las regiones con curvatura grande se asocian con una banda de interacción fuerte entre las células y el mesénquima (Modificada de Caballero et al., 2012).

En el caso de la gota de líquido, si esto mismo se desarrolla en un fondo homogéneo e incluso si la gota se rompe, van a formarse gotas más pequeñas que también tendrán forma circular. Este efecto de mojado tiende a incrementar la energía del sistema; mientras que la cohesión tendera a atraer a las células entre sí y mantenerlas cerca en el estado de equilibrio de menor energía, la adhesión de las moléculas con el fondo se opone a estas fuerzas (de ahí que el segundo término en el modelo matemático, Eq. 1 tenga un signo opuesto al término asociado con la cohesión).

De la misma manera que las gotas de agua, los cromatóforos también se adhieren al fondo, en este caso al mesénquima. En el caso más simple, el mesénquima es homogéneo, y por lo tanto en conjunto con la acción de la atracción entre cromatóforos (cohesión) y la adhesión al fondo genera manchas circulares. En conjunto con la adhesión con el mesénquima, emergen fuerzas de

largo alcance lo que se espera genere manchas de pigmento más grandes (qué tan grandes sean va a depender de las fuerzas específicas de la cohesión y adhesión de las células), que podrán fragmentarse en manchas más pequeñas que minimicen el perímetro total. Fenomenológicamente, ésto puede verse como fuerzas repulsivas que separan a las manchas unas de otras, por lo que en este punto, considerando un fondo uniforme con las fuerzas de cohesión y adhesión, sólo podemos esperar la emergencia de manchas circulares espaciadas entre sí y anillos.

### ***Cohesión y células de pigmento***

La tensión lineal es una fuerza que surge de las fuerzas cohesivas que actúan en el borde de la gota (Modelo matemático, Eq. 1, tercer término). Para obtener el estado de equilibrio, el sistema compensa dicha fuerza minimizando el perímetro de la gota (Fig. 20 A). Siguiendo la analogía con la formación de gotas de líquido, es posible argumentar que como gotas en un medio uniforme, las células de pigmento que migran en dicho medio también van a organizarse en manchas circulares. Este modelo simple también puede explicar la generación de patrones de pigmento en forma de anillos (ver figura 21 C).

Los patrones en forma de anillo también satisfacen las condiciones de equilibrio ya que tienen bordes en línea recta, y las líneas rectas tienen una curvatura constante o cero. Las manchas circulares y los anillos de pigmento están bien representadas en una gran cantidad de animales, sin embargo, la figura 21 C nos muestra que los patrones pueden variar dependiendo del radio y las características anatómicas del cuerpo que a su vez va a depender del flujo de crecimiento, lo que soporta la idea de que el mismo mecanismo que genera manchas circulares puede generar anillos cuando el tamaño del cuerpo u otros atributos geométricos varían. Esto es visible en la piel de las serpientes, tal como lo muestra la figura 22.

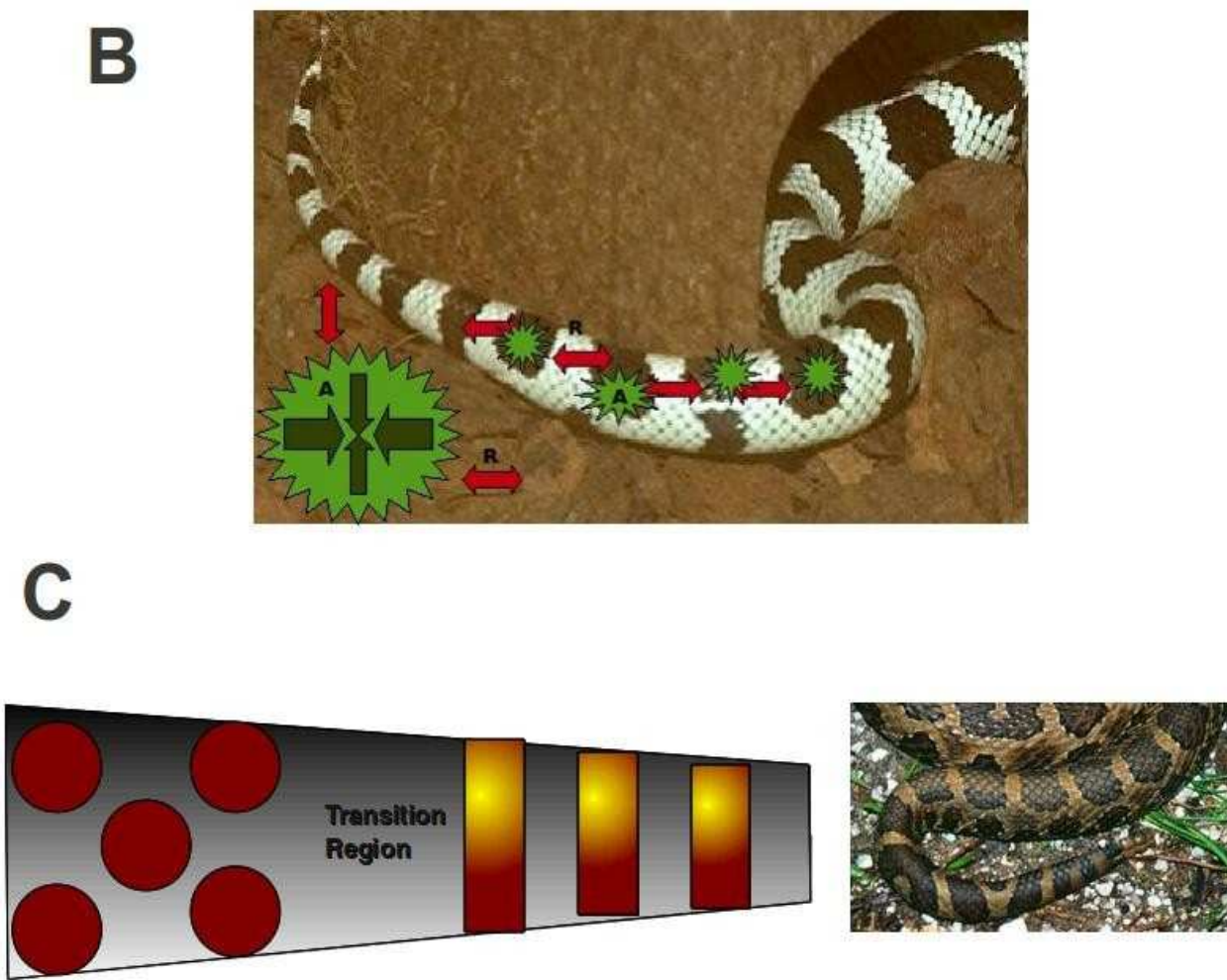


Figura 21. En la imagen B se representa el ejemplo en la piel de la serpiente, en ella la letra A muestra la interacción atractiva entre las células que forman la mancha, y R la interacción repulsiva entre la mancha y el fondo de otro color, generando así el patrón de manchas y bandas. En C, de acuerdo con este esquema básico, los patrones tienden a ser moteados cuando el diámetro del cuerpo es grande, y bandeado cuando se hace más pequeño. En un cilindro dependiendo del radio, el patrón va a ser de círculos para cilindros de radio grande o de anillos para radios pequeños. (Caballero et, al. 2012)

En el modelo de la gota descrito anteriormente hemos asumido que el mesénquima (el fondo mojado) es constante e independiente de la posición, pero para explicar la diversidad de patrones que observamos en vertebrados, es necesario asumir un fondo heterogéneo. Como podemos ver en la Fig. 22, los patrones de color que observamos en serpientes son diversos, manchas circulares, triángulos, bandas horizontales y verticales, rombos y otros aún más complicados. En este trabajo se postula que dichas heterogeneidades en el fondo corresponden a líneas de tensión

que se forman en las fibras de mesénquima a través de la migración de cromatóforos. En este caso, la deformación del mesénquima da origen a regiones con diferentes potenciales de atracción ( $V(y)$  a lo largo del modelo matemático). En otras palabras, se generan regiones de adhesión y acumulación preferencial de células de pigmento.

En este último escenario, la interacción entre cromatóforos y el fondo varía a lo largo del cuerpo, y las células tienden a ocupar la región donde la estimulación es mayor. Si esta estimulación es grande en ciertas zonas, esto se verá reflejado en manchas y anillos modificados, o incluso en bandas horizontales (Fig. 21 B, C y 22; recordar el ejemplo de los urodelos que se muestra en la Fig. 16). La forma particular de estos patrones va a depender de los detalles de la interacción con el fondo dada por ejemplo, por la afinidad característica de cada tipo de célula de pigmento.

A partir de esta propuesta se espera que las células tiendan a moverse en la dirección de la adhesión y de la región de acumulación preferencial, incrementando la curvatura local del perímetro de la mancha en dicha región. Consecuentemente, la curvatura del borde de un patrón dado de pigmento ( $K$  en la sección del modelo matemático) se considera como un indicador del potencial ( $V$  en el modelo matemático). Si el patrón es circular o anillado, entonces la curvatura es una línea recta constante, pero si existen heterogeneidades en el fondo, esto se va a reflejar en la curvatura del patrón de pigmento y la curvatura dejará de ser constante. Cuando el perímetro cambie de dirección abruptamente, habrá una curvatura grande que refleja una fuerte atracción a lo largo de cierta región.

Para el caso general en el que consideremos gotas de líquido o cromatóforos en un fondo de mojado heterogéneo (Modelo matemático; Figuras 21, 22, 24, 25), la forma de la gota o del patrón de color será dado por:

- 1.** Cohesión en la gota de líquido que se asocia con una tensión lineal y la minimización del perímetro de la gota o del patrón de color, análogo a la atracción entre cromatóforos similares en el sistema de patrón de pigmento. (Ver Tabla 1 en la sección 3.4).
- 2.** Interacción de mojado uniforme con el fondo, análogo con la adhesión de los cromatóforos con el mesénquima. (Ver Tabla 1 en la sección 3.4).

3. Interacciones atractivas heterogéneas con el fondo, que corresponde a las líneas de tensión en el mesénquima deformado. (Ver Tabla 1 en la sección 3.4).

A continuación se muestra la descripción matemática de nuestro modelo, dicho modelo fue desarrollado por el Dr. Germinal Cocho y el Dr. Alejandro V Arzola en Caballero et al., 2012.

### 3.4 Modelo matemático. Una descripción matemática de la configuración de la gota

La forma de la gota de un líquido puede ser entendida en términos de la minimización de la energía (de Gennes *et al.*, 2010). En este trabajo se asume una interacción fuerte de mojado entre la gota y el substrato, modelando gotas planas con grosor constante. A continuación se muestra mediante una ecuación de la energía la interacción entre los elementos de la gota o la mancha (Ecuación 1). El equilibrio de energía resultante puede ser expresado por la ecuación de Euler-Lagrange, esta ecuación es útil para entender un sistema variacional en el contexto de la mecánica clásica en relación al principio de mínima acción (Ecuación 2).

$$E = -\lambda \int_0^L dy f(y) + \int_0^L dy f(y)V(y) + a \int_0^L dy \sqrt{1 + \left(\frac{\partial f}{\partial y}\right)^2} \quad (1)$$

Donde el primer término se asocia con las fuerzas cohesivas entre moléculas de líquido, el segundo término con la adhesividad o interacción de mojado entre moléculas de líquido y el fondo, y el tercero con la tensión lineal. La forma de la gota está representada por

$f(y)$  y  $L$  es el tamaño de la gota a lo largo de  $y$ .

En la analogía con los patrones de color, el primer término se asocia con la interacción atractiva célula-célula entre los cromatóforos, el segundo término con la interacción célula-tejido entre los cromatóforos y el mesénquima, y el tercero con la tensión lineal de los patrones de pigmento.

$V(y)$  Corresponde con el potencial que va a definir las zonas de adhesión preferencial y acumulación de moléculas o cromatóforos, que asimismo van a definir las desviaciones a partir de

la forma circular, si las hay. La raíz cuadrada en el término de la tensión lineal corresponde a la diferencia de la longitud del arco de una curva dada, en este caso, del perímetro de un patrón de pigmento.

La forma del patrón se define en el estado de equilibrio, cuando todas las fuerzas se equilibran. Lo que significa  $\delta E = 0$

Aplicando el formalismo del cálculo variacional, en particular la ecuación de Euler-Lagrange, se puede demostrar que  $\delta E = 0$  lo que implica:

$$-\lambda + V(y) - \frac{\beta}{2} \frac{f''}{(1+f'^2)^{\frac{3}{2}}} = 0 \quad (2)$$

Donde  $\frac{\partial f}{\partial y} \equiv f'$ .

Nótese que  $\frac{f''}{(1+f'^2)^{\frac{3}{2}}}$  es la definición de la curvatura local,  $k(y)$  (de Gennes et al., 2010).

Entonces

$$k(y) = \frac{2}{\beta} (V(y) - \lambda) \quad (3)$$

Para concluir, el potencial es proporcional a la curvatura más una constante, lo que significa

$$k(y) \propto V(y)$$

Entonces, el potencial subyacente a la forma de un patrón de pigmento se puede aproximar mediante el cálculo de su curvatura. Teniendo en cuenta que si el potencial es constante, la curvatura es constante también, lo que hace que las formas sean circulares. (Caballero et al., 2012)

De esta manera se propone el uso del modelo físico y su descripción matemática explicada en las secciones anteriores para entender la emergencia de patrones de color dentro de los vertebrados, implicando la existencia de líneas de tensión generadas directamente por las células de pigmento

que se mueven y adhieren en el tejido mesenquimático. Algunos de los parones que pueden predecirse y su relación con la geometría del cuerpo y su tamaño, es validado por los patrones que encontramos en las serpientes. En dichos organismos, las manchas o cilindros se encuentran dependiendo fuertemente del radio del cilindro del cuerpo (Fig. 21 C). Además si la zona de acumulación preferencial es considerada también, podemos esperar anillos modificados y círculos “estirados”, como los que vemos en la figura 21 B y C.



Figura 22. Imagen que ejemplifica la variedad de patrones de pigmentación en la piel de la serpiente. Estos ejemplos evidencian que no sólo podemos observar manchas circulares y anillos en la piel de las serpientes. Esto sugiere que no sólo están en juego las interacciones atractivas y repulsivas entre células similares y disimiles. (A) manchas circulares; (B) manchas semicirculares; (C y D) anillos completos a lo largo de todo el cuerpo; (E, G) manchas poligonales; (F) líneas longitudinales horizontales, y (h) de patrón triangular.

Un aspecto interesante de esta propuesta es que la existencia y posición de regiones parecidas a bandas de acumulación preferencial pueden, en principio, ser inferidas por el potencial - zonas donde las células de pigmento tienden a establecerse ( $V$  en el modelo matemático)- de un patrón de pigmento arbitrario. Consideremos, por ejemplo, los patrones de la Fig. 22. Basándonos en este modelo es posible esperar que la curvatura de los patrones circulares sea constante. Esto se evidencia en la figura 22 A.

En este caso, no vemos una interacción heterogénea con el fondo, en contraste en el patrón que se muestra en la figura 22 B–E tenemos una región con una curvatura grande, y desde estos patrones, podemos predecir la existencia de zonas de acumulación preferencial en la figura (líneas rojas en la gráfica de la Fig. 23 y 22 B–E). El ejercicio de predecir zonas de acumulación preferencial a partir de patrones de pigmentación se hace más difícil en cuanto consideramos patrones más complicados. Sin embargo es posible ajustar una función a una curvatura dada y mostrar con más detalle simulaciones computacionales más detalladas para casos específicos.

En general, dos de los patrones básicos y las características estructurales subyacentes de los animales observados, consistentes con nuestro modelo son:

- a.** En muchos animales con una piel más o menos plana observamos manchas espaciadas del mismo tamaño.
- b.** Si la superficie es cilíndrica con un radio grande, observamos manchas circulares otra vez. Sin embargo si el radio de la mancha es más grande en comparación con el diámetro del cilindro, observamos anillos (Fig. 21 B, C).
- c.** Muchos de los patrones de pigmento que no son manchas circulares o anillos son anillos y manchas ligeramente deformadas (Fig. 22).



En la siguiente tabla (1) se muestran algunas evidencias físicas y biológicas consideradas en la formulación del modelo.

**Tabla 1. Evidencia física y biológica que apoya la analogía de las gotas de líquido y el modelo mecano-químico propuesto.**

|   | <b>Supuestos</b>  | <b>Evidencia</b>  |
|---|---|---|
| Analogía con gotas de líquido minimizando la tensión superficial. | <p>-Atracción de corto alcance (cohesión)</p> <p>-Interacción de “mojado” con el medio (adhesión)</p> <p>-Los tejidos en desarrollo se comportan en algunos aspectos como líquidos inmiscibles, que no se mezclan</p>   | <p>-Interacciones atractivas de corto alcance célula-célula entre cromatóforos (Adams, et. al., 1998; Nakagawa y Takeichi, 1998; Thiery, 2003 a; Maderspacher y Nüsslein-Volhard, 2003; Bhatia, et al., 1999; Armstrong, et al., 2006; Streuli, et al., 1991)</p> <p>-Existen interacciones adhesivas entre las células epiteliales (cromatóforos) y el mesénquima (Takeichi, 1988; Bhatia, et al., 1999; Grainger y Wessells, 1974; Acloque et al., 2009; Hay, 1981; Schöck y Perrimon, 2002; Yamada et al., 2005; Grinnell y Petroll, 2010; Harris y Tepass, 2010; Duguay et al., 2003; Edelman, 1988.; Thiery 2003 b; Steinberg, 2007; Harris et al., 1984; Harris, 1980)</p> <p>-Los tejidos embrionarios generados se comportan a escalas de tiempos largos como fluidos inmiscibles y cuando se mezclan en cultivo, las células se segregan en fases discretas (Shötzt et al., 2008; Beysens et al., 2000; Armstrong, et al., 2006; Newman, et al., 2006 )</p>  |
| Modelo epigenético de los patrones de pigmento                    | <p>-Las células migran en medios viscoelásticos</p> <p>-Las células en movimiento pueden generar fuerzas fuertes en medios viscoelásticos en conjunto con la tracción y contracción</p> <p>-Las fuerzas celulares de tracción deforman el sustrato y generan caminos en los que otras células se adhieren y establecen</p> <p>-La presencia de huellas de tensión pueden dar origen a arreglos celulares no triviales y mecanismos de largo alcance para generar y estabilizar patrones</p> | <p>Biológicas</p> <p>-Los cromatóforos migran en el mesénquima durante la formación de patrones de pigmento (Epperlein, Löfberg y Olsson, 1996; Epperlein y Löfberg, 1996, 1990; Parichy, 1996)</p> <p>-El mesénquima es una matriz fibrosa con propiedades visco-elásticas (Pan et al., 2005; Yu et al., 2010; Newman et al., 2006; Grinnell y Petroll, 2010; Janmey, et al., 1991; Cañadas, et al., 2002)</p> <p>-Las células en movimiento pueden generar fuerzas de tracción grandes en sustratos viscoelásticos, deformando el sustrato (Harris et al., 1980; Oliver et al., 1994; Oster et al., 1983; Grinnell and Petroll, 2010; Harris et al., 1984.; Harris, et al., 1981; Davis y Camarillo, 1995; weiss, 1959)</p> <p>-Varios experimentos han demostrado que la migración y adhesión de células puede ser guiado por pistas de tensión en un sustrato deformado. Particularmente, las células tienden a seguir la alineación de la matriz fibrosa (Elsdale y Bard, 1972; O'Hara y Buck, 1979; Belousov, 1979, 1980; Belousov, et al., 1975; DeHaan, 1964; Katz y Lasek, 1980, Goetz., 2009; Overton, 1979). Weiss (1929) llamó a este fenómeno “dirección por contacto”</p> |
|   |   | <p>Físicas y matemáticas</p> <p>-Un modelo matemático de epitelios embrionarios sugiere que las fuerzas mecánicas pueden coordinar los cambios en la forma en láminas de células, sin la intervención</p>   |

|  |  |   |
|--|--|---|
|  |  | <p>de señales químicas de largo alcance (Odell et al., 1981)</p> <p>-En una versión simplificada del modelo mecanoquímico presentada por Oster y Murray, que se centra en la orientación por contacto y tracción celular, hay una variedad de soluciones, incluyendo patrones periódicos, correspondiente a los diferentes patrones de concentraciones celulares. (Murray et al., 1988)</p> <p>-Los experimentos de partículas inanimadas que deforman una película viscoelástica, muestran la generación de pistas que guían su movimiento (Seul y Andelman, 1995; Di Leonardo 2008)</p> |
|--|--|---|

En Caballero et al., 2012

### 3.5 Potenciales de adhesividad asociados a los patrones de color

En este trabajo se ha hablado de potenciales de adhesión de las células de pigmento y el fondo en el que se establecen, esto se basa en el modelo físico que hemos propuesto. En física se define el potencial como una magnitud que sirve para describir la variación probable de otra magnitud, en este caso un campo físico en donde se establece un patrón de color, específicamente una mancha en la piel.

Para mostrar los posibles potenciales asociados a figuras geométricas que aparecen en las pieles de los vertebrados, en la Fig. 22 y 24 se representan gráficamente las posibles zonas de acumulación preferencial y por lo tanto las zonas de mayor adhesividad celular. Las gráficas representan las formas básicas que encontramos en los patrones de color (Sergio Hernández en Caballero et al., 2013 y gráficas 1,2,3 y 4). Es importante destacar que modificando el potencial de adhesividad podemos obtener variantes de éstas.

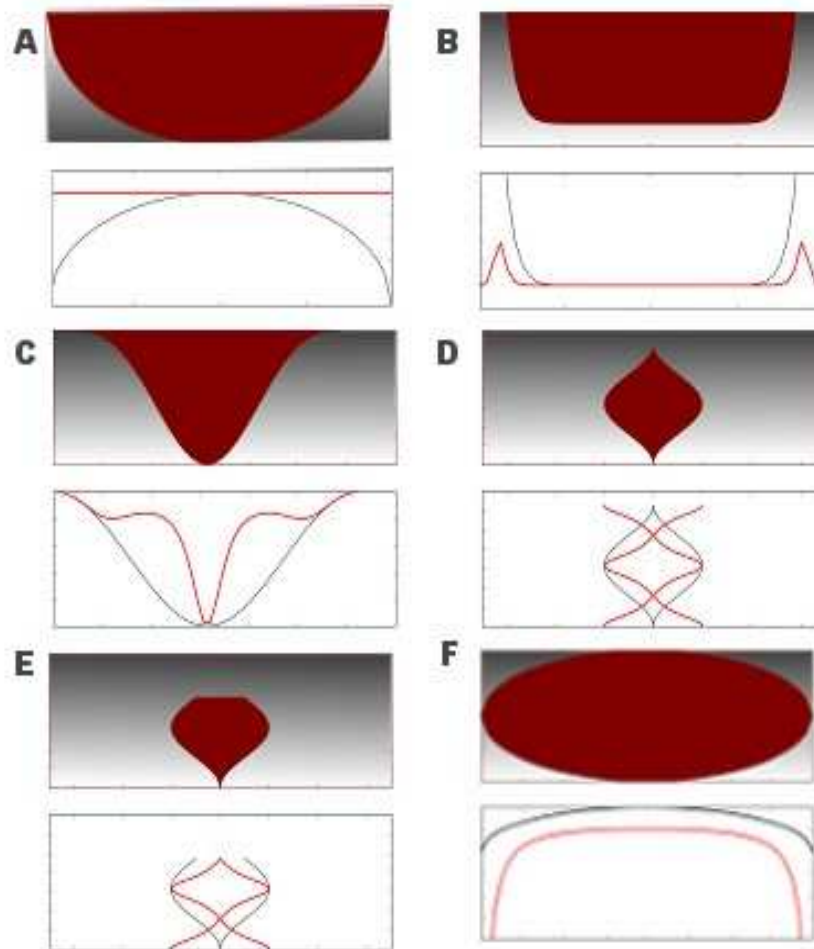


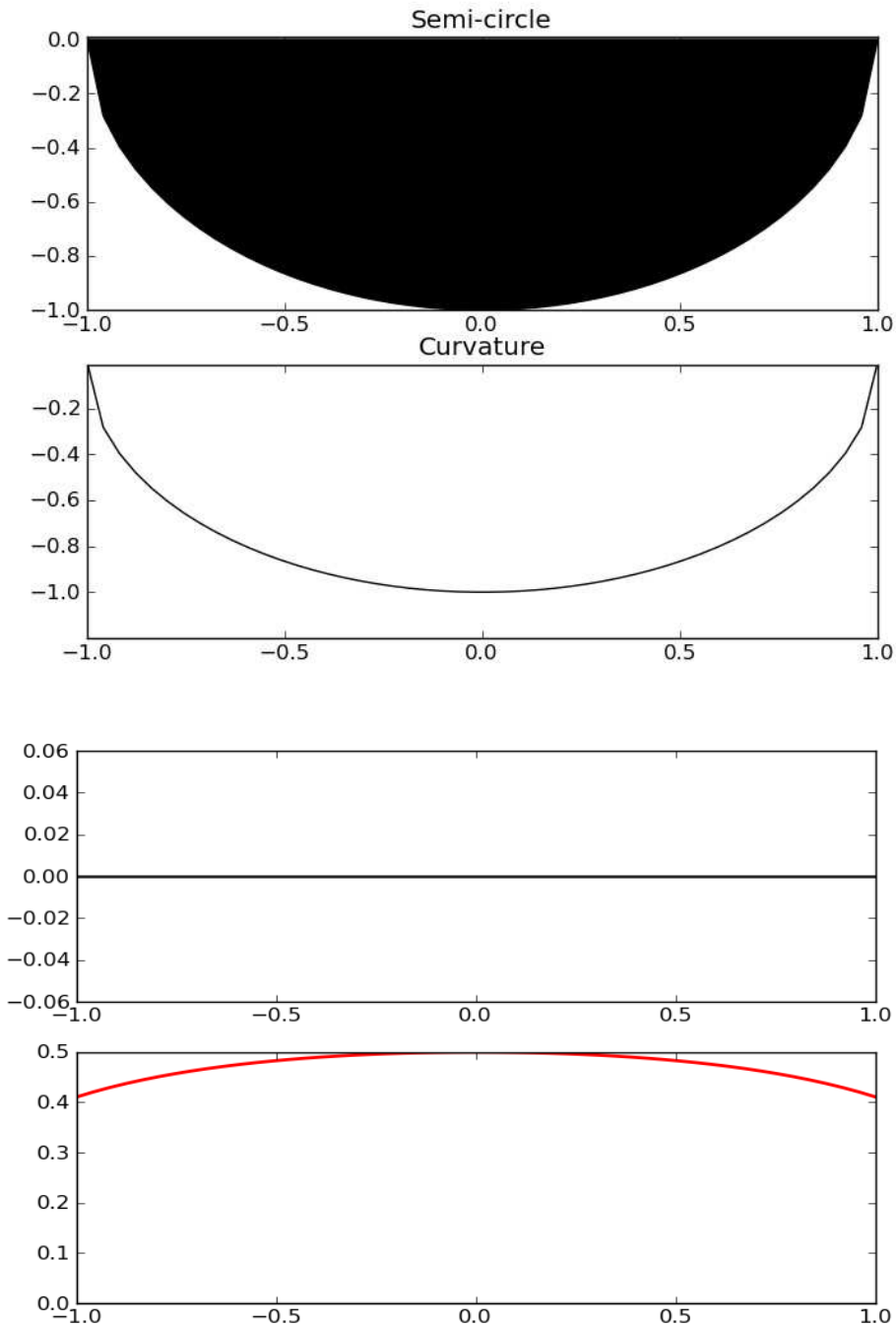
Figura 23. Esta figura nos muestra los diferentes patrones generados por computadora y se muestran junto con las predicciones de las zonas de acumulación preferencia, o potenciales, representados en color rojo por debajo de cada una de las manchas seleccionadas (Caballero et al., 2012).

Con el fin de aclarar dónde se da el máximo potencial la forma de la mancha fue representada gráficamente en el mismo espacio. Las formas se han generado con una función dada  $f(t)$  que se asemeja a un patrón observado en la naturaleza (círculo, cuadrado, triángulo, rombo, rombo truncado y la elipse que se puede observar en la piel de ciertas serpientes) y la curvatura se obtuvo con la expresión que se indica en la ecuación 2.

En el caso del semi-círculo (A) la función usada para generar la superficie fue  $y = \sqrt{1-x^2}$  Como se esperaba la predicción del potencial es constante a través de toda la forma, lo que significa que hay una interacción homogénea con el fondo. El patrón romboidal (D) se ha generado con la función  $y = \sin(t)^2$  y se refleja sobre el eje de simetría, la curvatura muestra tres zonas de acumulación preferencial. El rombo truncado (E) es casi el mismo caso que el patrón romboidal

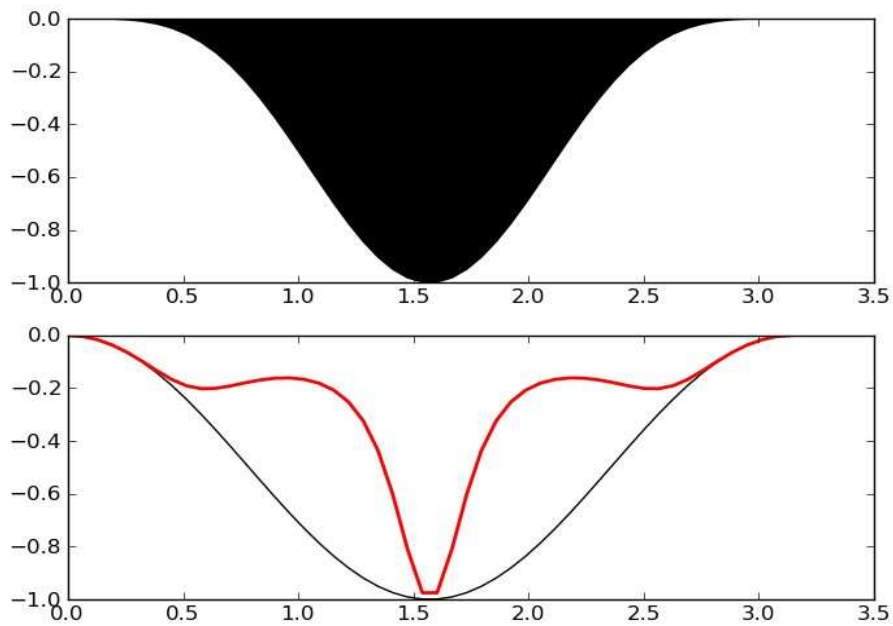
sólo cambiar el dominio donde la función *sen* toma sus valores y se relaciona directamente con el triángulo. La última forma (F) es la curvatura de la elipse.

Ver las gráficas que se muestra a continuación.



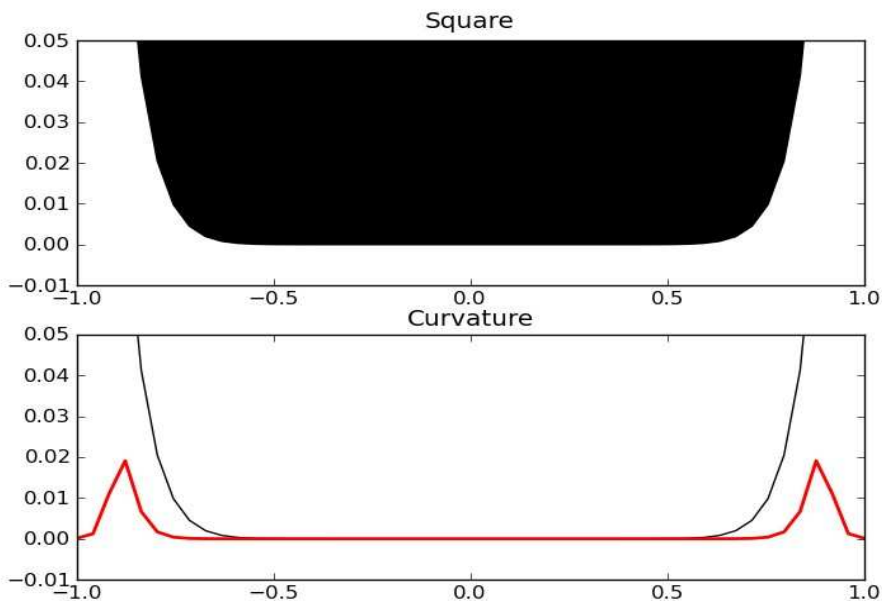
Gráficas 1 y 2. Estas gráficas representan la dinámica del potencial de adhesividad en los patrones semicirculares y circulares, en primer lugar se observa la mancha a partir de la curvatura. La línea recta representa que la interacción con el fondo es cero por lo tanto se generan manchas circulares y el potencial de adhesividad en rojo es menor cuando se generan semicírculos.

El triángulo (C),  $y=\text{sen}(t)^4$  muestra un pico en la curvatura en el medio correspondiente al pico del triángulo. Ver la gráfica 3 que se muestra a continuación.



Gráfica 3. En estas gráficas podemos ver que la interacción con el fondo es mucho mayor que en las gráficas anteriores lo que puede verse con la función en rojo, generando la curvatura y por lo tanto la mancha. Mientras esta interacción aumenta vemos que las manchas circulares se deforman generando Triángulos y Rombos.

A continuación se muestra la gráfica 4 de las manchas cuadradas o semicírculos achatados y sus potenciales de adhesividad.



Gráfica 4. En estas gráficas vemos como pueden generarse las manchas cuadradas, la curvatura que se genera corresponde a los valores de potencial dibujados en rojo.

A continuación se muestran distintas figuras que existen en la piel de las serpientes, donde podemos ver las heterogeneidades que surgen durante la interacción de las células y el fondo en el que se establecen. En este trabajo se ha propuesto que dichas heterogeneidades se generan mediante bandas de adhesión las cuales se establecen a causa de tensiones mecánicas entre las células que interaccionan. (ver imágenes A,B,C y D en la figura 24)



Figura 24. En esta figura se muestra los patrones periódicos en la piel de las serpientes, triángulos (A) Rombos (B), círculos (C) y elipses deformadas.

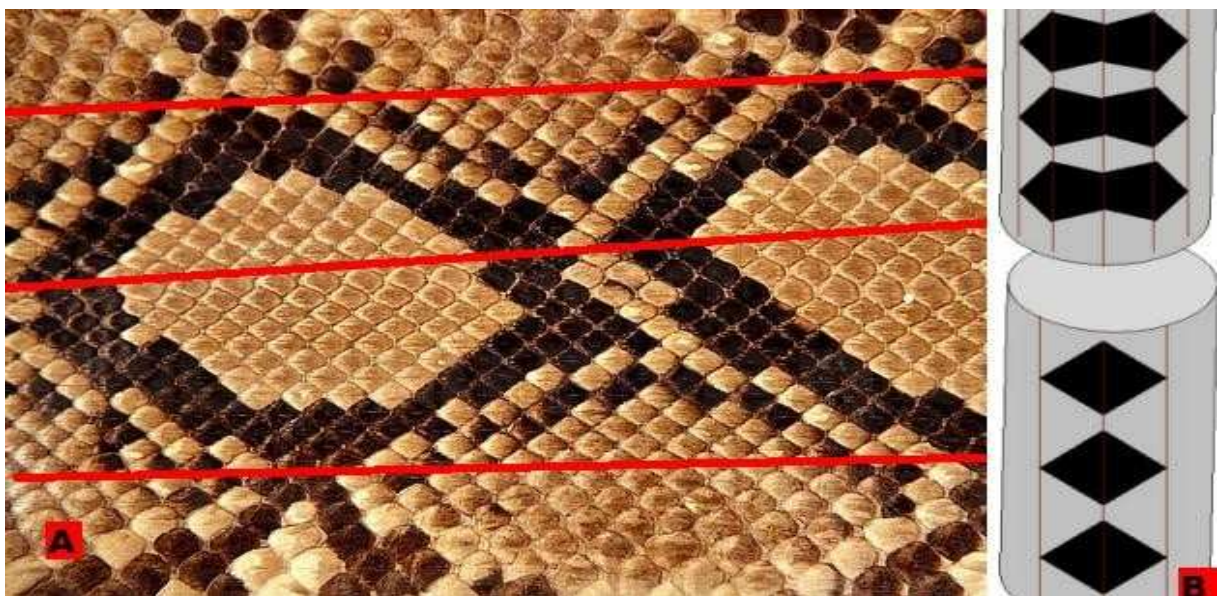


Figura 25. En esta imagen se representa en color rojo en A y B las banda de adhesividad asociadas a la acumulación preferencial de células de pigmento en el tejido en este caso en la piel de una serpiente en la que se generan rombos. En B se dibujan las posibles bandas de adhesividad en los distintos arreglos geométricos en un fondo no homogéneo en serpientes.

En el caso de que el fondo no fuera heterogéneo, es decir que existiera sólo una banda de adhesividad, los patrones serían bandas horizontales y verticales y patrones moteados como podemos ver en la figura 26, en la que se representan tanto la interpretación gráfica (A) como los patrones que podemos encontrar en algunos organismos, en este caso en las serpientes (B).

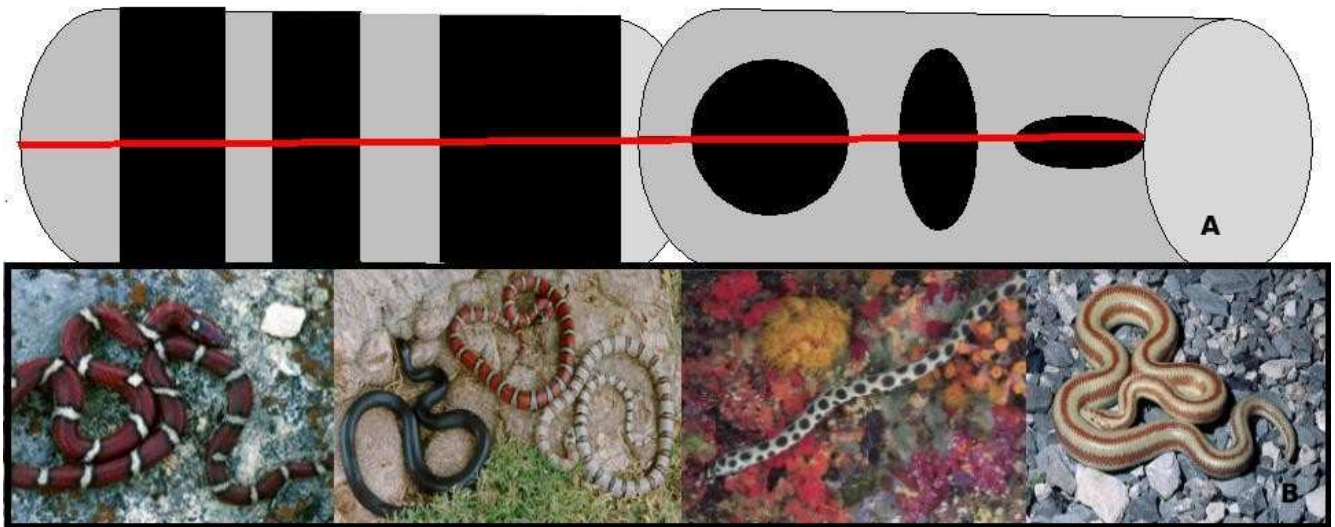


Figura 26. En esta figura se representan los posibles patrones de color en las serpientes en función de que la influencia de las células de pigmento tengan una interacción con el fondo homogénea. En el dibujo A se muestra una línea de adhesividad esquematizada en rojo y los patrones que hipotéticamente surgen a partir de nuestro modelo. En este caso vemos bandas verticales, pigmentación homogénea, círculos, deformados vertical y horizontalmente. B es una muestra de los organismos que poseen dichos patrones (fotos de serpientes tomadas de [www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)).

## Discusión

A lo largo de este trabajo hemos mostrado un modelo biofísico en el que están implicados algunos mecanismos epigenéticos que proponemos pueden ser genéricos en la formación de los patrones de color en la epidermis de diferentes linajes de vertebrados. En dicho modelo se consideran fuerzas de tensión derivadas de las interacciones entre células y tejidos, y pueden ser especificadas por medio de un formalismo simple inspirado en el modelo físico de la formación de gotas de agua (modelo matemático). Si bien este modelo es simple, se considera que es suficiente para explicar algunos mecanismos cruciales para establecer los patrones de color que observamos en animales, como el caso en el que nos hemos enfocado, las serpientes.

Este planteamiento nos permite hacer predicciones específicas que pueden ser probadas experimentalmente. La existencia de una correlación real entre los modelos y los sistemas de estudio para generar una retroalimentación positiva, son fundamentales en el desarrollo de la biología teórica, por lo menos dentro de nuestra perspectiva.



Por ejemplo, si las fibras de mesénquima fueran modificadas experimentalmente de manera que los campos de tensión se alteraran (un caso podría ser aplicando una fuerza externa al tejido), podemos esperar una deformación en el patrón de color en dirección a la fuerza aplicada. O si la geometría de la superficie pudiera ser sistemáticamente modificada en tamaño y forma, podríamos esperar que los patrones cambien de manchas a anillos o viceversa.

En estudios experimentales se ha reportado que mutaciones que afectan la formación del citoesqueleto, a su vez afectan la naturaleza y grado de contracción de la matriz extracelular en donde las células migran (Grinnell y Petroll, 2010). Por lo tanto, el modelo que hemos propuesto permite predecir que en animales con una cierta mutación, podremos observar patrones de pigmento alterados.

Un reto para este planteamiento en el futuro es acoplar este modelo físico genérico con modelos de redes de regulación, incorporando elementos clave en la emergencia de patrones en las diferentes especies de vertebrados, entre otros a los genes, proteínas y sistemas de señalización. Dicho esfuerzo debe ser posible en sistemas modelo donde las bases moleculares de dichos procesos morfogénicos han comenzado a ser caracterizados. Este es el caso del pez cebra, en el que estudios experimentales detallados han descubierto algunos de los componentes genéticos clave que subyacen los patrones de color (ver las revisiones de Rawls et al., 2001; Parichy, 2006; Kelsh et al., 2009).

La manera exacta en la que estos genes y sus proteínas asociadas contribuyen, junto con otras entidades moleculares, al establecimiento de patrones de color aún no es del todo clara. Sin embargo algunos de estos genes (e.g., Wnt, Sox, Mit, and Kit genes, ver la revisión de Rawls et al., 2001) parecen ser ortólogos funcionalmente conservados en otros linajes de vertebrados, en donde también parecen jugar un papel en los patrones de color en la piel, o en estructuras epidérmicas como las plumas y patrones de distribución de folículos en pollos y ratones, respectivamente (Kelsh et al., 2009). Esto sugiere que los mecanismos moleculares de formación de patrones de la epidermis estén muy conservados, y por lo tanto dichos genes podrían permitir los mecanismos genéricos que se proponen (Cadigan y Nusse, 1997; Quigley et al., 2005; Parichy, 2006; Kelsh et al., 2009).

Desde el punto de vista de la modelación, estudios basados en el trabajo pionero de reacción difusión de Turing (1952) también han sido desarrollados en patrones de color. Los modelos de reacción difusión describen concentraciones en espacio tiempo de químicos (morfógenos) que se difunden y reaccionan a diferentes tasas, dando como resultado patrones no triviales de concentraciones de morfógenos, como manchas espaciadas entre sí, bandas paralelas, laberintos y espirales. Kondo (2009, ver también Yamaguchi et al., 2007) ha postulado que en un tipo particular de un sistema de reacción-difusión, dado por la combinación de activación local e inhibición de largo alcance, podría ser la base de la formación *de novo* de patrones de pigmento en animales.

Este tipo particular de sistema de RD, también conocido como sistema activador-inhibidor (AI) (Gierer y Meinhardt, 1972) que como se menciona en el capítulo 2, consiste en un par de morfógenos: el activador que se autoactiva de una manera no lineal, y el inhibidor, el cual es promovido por el activador y tiene un efecto inhibitorio de largo alcance sobre el activador. De acuerdo con la evidencia empírica, este modelo de RD es capaz de explicar patrones que pueden ser regenerados y que pueden ser robustos a perturbaciones transitorias (Kondo, 2009).

El modelo de Turing puede ser especialmente poderoso porque puede integrar el marco de la epigenética de Waddington, que actualmente se ha convertido en tema central en la biología de la epigénesis. Turing sugirió que los evocadores de Waddington podrían ser morfógenos (Waddington 1940; Turing, 1952), y en este trabajo se considera que el modelo que se propone es compatible con los modelos de RD. Sin embargo a diferencia de dicho modelo, en este caso se plantea específicamente que las interacciones de largo y corto alcance pueden ser el resultado de patrones de tensión y afinidad célula-célula en vez de la acción de morfógenos, integrando algunas de las fuerzas mecánicas que parecen tener un rol relevante en la morfogénesis y formación de patrones (Ingber, 2004; Hamant et al., 2008; Schotz et al., 2008).

En este sentido, el modelo que se presenta considera aspectos epigenéticos del desarrollo dentro de un marco más amplio que no excluye la propuesta de Turing. En la misma dirección, Oster y colaboradores (1988) comenzaron con un modelo mecanoquímico, en el que postularon que de cierto modo podía ser conceptualizado como un sistema de RD. También Kondo y Miura (2010)

plantean que los sistemas de formación de patrones de Turing pueden ser tomados como mecanismo modelo de procesos genéricos en los que la inhibición y activación de los elementos del modelo tienen lugar, incluso si estas interacciones no son mediadas por la difusión de reacciones químicas, como originalmente lo propuso Turing. En dichos casos, grupos de moléculas, fuerzas mecánicas u otros factores ejerciendo inhibición de largo alcance o activación de corto alcance, pueden ser conceptualizados como morfógenos.

Nakamasu y colaboradores (2009, también ver la revisión de Kondo y Miura, 2010) realizaron una serie de experimentos en embriones de pez cebra mostrando que la regeneración y supervivencia de las células de pigmento (xantóforos y melanóforos) pueden ser afectados por células de las bandas de pigmento vecinas, por un rango de interacciones cortas o largas. Esta regulación mutua de regeneración y supervivencia celular puede ser en principio suficiente para la generación de los patrones de Turing. Sin embargo el mecanismo preciso que subyace la interacción celular entre dos tipos de cromatóforos no ha sido completamente comprendido.

Es importante destacar que además de la muerte celular y la regeneración de las mismas células, en el caso de este trabajo y probablemente en los procesos del desarrollo, la migración es un fenómeno clave durante la formación de patrones de color en embriones, como puede verse en el pez cebra (en Rawls et al., 2001).

Por otra parte, la especificación del destino celular de la cresta neural en el caso del pez cebra ocurre por lo general antes de la migración (Raible y Eisen, 1994), y presuntamente los precursores de melanocitos normalmente expresan melanina antes de completar la migración (Raible et al., 1992). Por lo tanto, en algunos estadios de la formación de patrones de color, los patrones parecen depender de la migración regulada de células de pigmento ya diferenciadas, en conjunto con la regulación de su regeneración y supervivencia.

En el caso del modelo que se presenta en este trabajo, se postula que las fuerzas mecánicas en conjunto con la deformación del tejido mesenquimático en donde las células migran, podría dar origen a direcciones preferenciales de migración y establecimiento celular, generando controles de tamaño de corto y largo alcance gracias a fenómenos de tensión. Un escenario posible es el que ambos mecanismos, el de Turing y el propuesto por Nakamasu y colaboradores (2009) y que en

función de las fuerzas mecánicas de forma redundante podría actuar durante la formación de patrones. La coexistencia de mecanismos redundantes ha sido postulada para otros sistemas de formación de regularidades o motivos (e.g., Benítez y Alvarez-Buylla, 2010), sería por lo tanto muy importante generar en trabajos posteriores un modelo híbrido que represente dicha redundancia.

Otro problema fundamental en la morfogénesis es cómo el tamaño de órganos y estructuras anatómicas son controlados durante el desarrollo. Interacciones locales célula-célula y la difusión ilimitada de morfógenos no son suficientes para explicar este tipo de controles. El mecanismo que se propone en esta tesis da lugar a fuerzas de largo alcance que están delimitadas por el tamaño del propio potencial que se establece en la dinámica del sistema ( $V$  en el modelo matemático). El hecho de que estas fuerzas estén limitadas o que tengan un rango delimitado de acción pone de manifiesto la existencia de periodicidad de los patrones que observamos en los cuerpos de las serpientes. Es decir, el final de uno de los periodos del patrón y el inicio del siguiente indican la distancia característica de las fuerzas de largo alcance. Por lo tanto se propone la hipótesis de que los mecanismos que se presentan en esta tesis pueden ser relevantes para la futura comprensión no sólo de los patrones de color sino también de otros procesos clave del desarrollo como los controles de tamaño y forma, tema central en la morfogenética y en la biología misma.

A pesar de que las células y los tejidos que construyen son estructuras altamente complicadas pueden estar gobernadas por reglas sencillas, de ahí que se infiere que a partir de las leyes y mecanismos de la física, los seres vivos evolucionaron generando complejidad a partir de lo simple.

Como dijo Darcy Thompson "...El hecho de que la célula germen se desarrolle en una estructura muy compleja no es prueba absoluta de que la célula por sí misma sea estructuralmente un mecanismo muy complicado: ni tampoco es lo que prueba, aunque esto es algo menos obvio, que las fuerzas que trabajan o están latentes dentro de ella son especialmente numerosas y complejas..."

D'Arcy W. Thompson (Growth and Form, 1917)<sup>12</sup>

---

“...The fact that the germ-cell develops into a very complex structure is no absolute proof that the cell itself is structurally a very complicated mechanism: nor yet does it prove, though this is somewhat less obvious, that the forces at work or latent within it are especially numerous and complex...” D’Arcy W. Thompson (Growth and Form, 1917)

## Conclusión

Según lo que se plantea a lo largo de esta tesis, existen patrones generales básicos. La aparente variedad de formas vivas existentes es relativamente más pequeña de lo que parece con respecto a las infinitas posibilidades que podría haber, estas posibilidades están “restringidas” por relaciones robustas entre las leyes físicas que rigen la materia y los sistemas biológicos.

La idea de que las formas pueden ser estudiadas considerando la existencia de patrones generales, emerge dentro de una visión compleja ya sea desde la biología como desde la física dentro de el enfoque de la complejidad.

A partir del enfoque que propone el estudio de la complejidad se pretende explicar los procesos biológicos partiendo no de la reducción de las partes, sino desde un visión mesoscópica y macroscópica resultado de las partes microscópicas pero no de una manera lineal causa efecto. De esta forma desde esta perspectiva, los sistemas vivos pueden entenderse utilizando las herramientas que han generado las áreas experimentales y teóricas, gracias a la gran cantidad de información que ya existe e integrar los mecanismos epigenéticos que he planteado son parte fundamental de los mecanismos de desarrollo.

Por lo que durante este trabajo se ha integrado una gran cantidad de información acerca de la dinámica entre células y tejidos en donde se plantea la necesidad de generar nuevas metáforas en las que los genes, células y tejidos no sean vistos como sistemas aislados sino los actores en los que las interacciones dictan los comportamientos que observamos. Se ha tratado de incluir otros parámetros que existen a nivel biológico como lo son, la interacción entre las diferentes células que participan en el patrón las que poseen características únicas y que tienen efectos distintos a nivel de desarrollo, los controles de tamaño y forma, la interacción con el fondo que se ha visto no es homogéneo, lo que genera gradientes de interacción de las células con el mesénquima estableciendo patrones dinámicos no preestablecidos.

Considero que los modelos para la comprensión del establecimiento de los patrones de color pueden ser alternativos no excluyentes, sin embargo en este trabajo se intenta abordar el

problema de una manera más sencilla matemáticamente hablando y con una mayor cantidad de información biológica.

Existen muchos ejemplos en los sistemas vivos de formación de patrones, los patrones de color en la piel son un claro ejemplo de formación de éstos, sin embargo existen muchos ejemplos en los que vemos estos fenómenos, como por ejemplo los patrones de filotaxis en las plantas, las estructuras florales, la distribución característica de pelos en raíz y hojas, de los estomas, y en general la emergencia de estructuras en las cuales podemos ver la formación de patrones. Esto podemos verlo también en otros sistemas a lo largo de la diversidad biológica. A lo largo de este proceso de investigación se ha visto que es posible que los mecanismos propuestos en esta tesis tengan sus correlaciones en estos otros sistemas los cuales compartan características básicas cómo las que aquí hemos desarrollado.

Para concluir sólo queda decir que los mecanismos que comparten acción en el establecimiento de patrones y formas en la vida son fundamentales para entender la emergencia y evolución de la vida misma. La respuesta como en todo en la biología, no está dada por un gen o una instrucción sino por la dinámica compleja que surge en la interacción de todos los factores.

## Bibliografía

Acloque, H., Adams M. S., Fishwick, K., Bronner-Fraser. M., and Nieto M. A. 2009. Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease. *J Clin Invest.* Volume 119, Issue 6;119(6):1438.

Adams, J. C. y Fiona M. Watt . 1993. Regulation of development and differentiation by the extracellular matrix . *Development* 117, 1183-1198.

Adams, C. L., Chen, Y. T., Smith, S. J., & Nelson, W. J. 1998. Mechanisms of epithelial cell-cell adhesion and cell compaction revealed by high-resolution tracking of E-cadherin-green fluorescent protein. *The Journal of cell biology*, 142(4), 1105-1119.

Alibardi, L. 2011. Observations on the ultrastructure and distribution of chromatophores in the skin of chelonians. *Acta Zoologica*.

Ananiadou Sophia, Douglas B. Kell, y Jun-ichi Tsujii . 2006. Text mining and its potential applications in systems biology. *Trends in biotechnology* Vol.24 No.12.

Aplin Andrew E, Alan K Howe y RL Juliano . 1999. Cell adhesion molecules, signal transduction and cell growth. *Current Opinion in Cell Biology*, 11:737-744.

Armstrong, N. J., Painter, K. J., Sherratt J. A. 2006. A continuum approach to modeling cell-cell adhesion. *Journal of Theoretical Biology* 243. 98-113.

Beysens D. A. G. Forgacs, y J. A. Glazier. 2000. Cell sorting is analogous to phase ordering in fluids . *PNAS.* vol. 97 no. 17. 9467-9471.

Bekhuis Tanja, 2006. Conceptual biology, hypothesis discovery, and text mining: Swanson's legacy. *Biomedical Digital Libraries*, 3:2.

Belousov, L. V., Dorfman, Y. G., Cherdantsev, V. G. 1975. Rapid changes in shape and cell architecture of isolated fragments of amphibian embryonic tissues as an experimental model of morphogenesis. *Sov J Dev Biol.* Jul;5(4):286-93.

Belousov, L. V. 1979. Experiments on changing tensile fields of the axial rudiments in amphibian embryos. *Ontogenez (Sov. J. Dev. Biol.)* 10: 120-129.

Belousov, L. V. 1980. The role of tensile fields and contact cell polarization in the morphogenesis of amphibian axial rudiments. *Development Genes and Evolution.* Volume 188, Number 1, 1-7.

Benítez, M., y Alvarez-Buylla, E. R. (2010). Dynamic-module redundancy confers robustness to the gene regulatory network involved in hair patterning of *Arabidopsis* epidermis. *Biosystems*, 102(1), 11-15.

Benítez Keinrad Mariana, 2011. "Desarrollo: la odisea del organismo". Coplt ArXives, México. TS0009ES. ISBN: 978-1-938128-00-4.

Beningo, K. A., Dembo, M., Kaverina, I., Small, J. V. & Wang, Y. L. 2001 Nascent focal adhesions are responsible for the generation of strong propulsive forces in migrating fibroblasts. *J. Cell Biol.* 153, 881-888.



- Bhatia, S. N., Balis, U. J., Yarmush, M. L. and Toner, M. 1999. Effect of cell-cell interactions in preservation of cellular phenotype: cocultivation of hepatocytes and nonparenchymal cells. *The FASEB Journal* 13:1883-1900.
- Bidan, Cécile M., Krishna P. Kommareddy, Monika Rumpler, Philip Kollmannsberger, Yves JM Bréchet, Peter Fratzl, and John WC Dunlop. 2012. How linear tension converts to curvature: geometric control of bone tissue growth. *PLoS one* 7, no. 5: e36336.
- Blagosklonny, Mikhail V. y Arthur B. Pardee. 2002. Unearthing the gems. *Nature* vol. 416 28 marzo.
- Bolker Jessica A. 2000. Modularity in Development and Why It Matters to Evo-Devo. 40(5): 770-776.
- Braasch, I., Schartl, M., & Volff, J. N. 2007. Evolution of pigment synthesis pathways by gene and genome duplication in fish. *BMC evolutionary biology*, 7(1), 74.
- Bronner, Marianne E., and Nicole M. LeDouarin. "Development and evolution of the neural crest: an overview." *Developmental biology* 366.1 (2012): 2-9.
- Burton, K., & Taylor, D. L. 1997. Traction forces of cytokinesis measured with optically modified elastic substrata. *Nature*, 385(6615), 450-454.
- Buxboim, A., Ivanovska, I. L., & Discher, D. E. (2010). Matrix elasticity, cytoskeletal forces and physics of the nucleus: how deeply do cells 'feel' outside and in?. *Journal of cell science*, 123(3), 297-308.
- Caballero Lorena, 2008a. "La búsqueda del comienzo: El pensamiento complejo en biología". Coplt ArXives, Mexico. TS0005ES. ISBN: 978-0-9831172-7-8  
<http://scifunam.fisica.unam.mx/mir/copit/index.html>.
- Caballero Lorena, 2008b. "Emergencia de las formas vivas: aspectos dinámicos de la biología evolutiva. Coplt ArXives, Mexico. TS0004ES. ISBN: 978-0-9831172-6-1  
<http://scifunam.fisica.unam.mx/mir/copit/index.html>.
- Caballero Lorena, Benitez M, Alvarez-Buylla E, hernández S, Arzola A. V. And Cocho G. 2012. An epigenetic model for pigment patterning based on mechanical and cellular interactions. *J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.)* 318:209–223.
- Caballero Lorena, Mariana Benítez, Gabriela Coronado. En prensa. "Emergencia de las formas biológicas en la complejidad biocultural: Epigenética y Obesidad". En el libro: "Viaje a la Complejidad". Biblioteca Nueva (Madrid) y Siglo XXI México, Argentina.
- Cadigan, K. M., & Nusse, R. 1997. Wnt signaling: a common theme in animal development. *Genes & development*, 11(24), 3286-3305.
- Cañadas, P. Laurent, V. M., Oddou, C., Isabey, D., and Wendling, S. 2002. A Cellular Tensegrity Model to Analyse the Structural Viscoelasticity of the Cytoskeleton. *Journal of Theoretical Biology*. Volume 218, Issue 2, Pages 155-173.
- Carrol Sean B. Endless form most beautiful. The new science of Evo Devo. W. W. Norton & Company, USA. 2005.
- Chang, K. C., Tees, D. F. J. & Hammer, D. A. 2000 The state diagram for cell adhesion under flow: leukocyte rolling and firm adhesion. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 97, 11 262– 11 267.

- Chen, C. S., Mrksich, M., Huang, S., Whitesides, G. M. & Ingber, D. E. 1997 Geometric control of cell life and death. *Science* 276, 1425–1428.
- Cocho G, Perez-Pascual R, Rius JL, Soto F. 1987a. Discrete systems, cell-cell interactions and color pattern of animals. I. Conflicting dynamics and pattern formation. *J Theor Biol* 125:419–435.
- Cocho G, Perez-Pascual R, Rius JL, Soto F. 1987b. Discrete systems, cell-cell interactions and color pattern of animals. II. Clonal theory and cellular automata. *J Theor Biol* 125:437–447.
- Conlon Ian y Martin Raff . 1999 . Size Control in Animal Development . *Cell*, Vol. 96, 235–244, January 22.
- Corning, P. A. (2002). The re-emergence of “emergence”: A venerable concept in search of a theory. *Complexity* 7(6): 18–30.
- Couzin Iain D., Jens Krause, Richard James, Graeme D. Ruxton y Nigel R. Franks . 2002. Collective Memory and Spatial Sorting in Animal Groups . *J. theor. Biol.* 218, 1–11.
- Curran, K., Lister, J. A., Kunkel, G. R., Prendergast, A., Parichy, D. M., & Raible, D. W. 2010. Interplay between Foxd3 and Mitf regulates cell fate plasticity in the zebrafish neural crest. *Developmental biology*, 344(1), 107-118.
- Cloudsley-Thompson J.L. 1999. Multiple Factors in the Evolution of Animal coloration. *Naturwissenschaften* 86, 123–132 .
- Cukierman Edna , Roumen Pankov y Kenneth M Yamada . 2002. Cell interactions with three-dimensional matrices . *Current Opinion in Cell Biology*, 14:633–639.
- Darwin Charles. *El Origen de las Especies*. Biblioteca de los Grandes Pensadores. CAYFOSA-QUEBECOR. España. 2002.
- de Gennes, P-G, Brochard-Wyart F, Quere D. 2010. *Capillarity and wetting phenomena: drops, bubbles, pearls, waves*. New York, USA: Springer.
- Dehaan, R. L. (1964). Cell interactions and oriented movements during development. *Journal of Experimental Zoology*, 157(1), 127-138.
- Deutsch A, Dormann S. 2004. *Cellular automaton modelling of biological pattern formation*. Boston: Birkhauser
- Di Leonardo R., Saglimbeni, F. and Ruocco, G. 2008. Very-Long-Range Nature of Capillary Interactions in Liquid Films. *Physical Review Letters* 100:106-103.
- Duguay, D., Foty, R. A., Steinberg, M. S. 2003. Cadherin-mediated cell adhesion and tissue segregation: qualitative and quantitative determinants. *Dev Biol.* Jan 15;253(2):309-23.
- Dupin, E., & Le Douarin, N. M. 2003. Development of melanocyte precursors from the vertebrate neural crest. *Oncogene*, 22(20), 3016-3023.
- Edelman Gerald M. 1984. Cell adhesion and morphogenesis: The regulator hypothesis . *Proc. NatL Acad. Sci USA* 81.
- Edelman GM. 1988. Morphoregulatory molecules. *Biochemistry.* May 17;27(10):3533-43.

- Elsdale, T., & Bard, J. 1972. Collagen substrata for studies on cell behavior. *The Journal of cell biology*, 54(3), 626-637.
- Epperlein, H.-H and Löfberg. J. 1990. The Development of the Larval Pigment Patterns in *Triturus alpestris* and *Ambystoma mexicanum*. *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.* 118:1-99.
- Epperlein, H.-H and Löfberg. J. 1996. What insights into the phenomena of cell fate determination and cell migration has the study of the urodele neural crest provided? *Int. J. Dev. Biol.* 40:695-707.
- Epperlein, H.-H; Löfberg. J. and Olsson, L. 1996. Neural crest cell migration and pigment pattern formation in urodele amphibians. *Int. J. Dev. Biol.* 40:229-238.
- Elsdale, T., Bard, J. 1972. Collagen substrata for studies of cell behavior. *J Cell Biol.* Sep;54(3):626-37.
- Engel, J., & Chiquet, M. 2011. An overview of extracellular matrix structure and function. In *The Extracellular Matrix: an Overview* (pp. 1-39). Springer Berlin Heidelberg.
- Espinosa-Soto C, Wagner A. 2010. Specialization Can Drive the Evolution of Modularity. *PLoS Comput Biol* 6(3).
- Forgacs Gabor, Ramsey A. Foty, Yinon Shafrir, y Malcolm S. Steinberg . 1998. Viscoelastic Properties of Living Embryonic Tissues: a Quantitative Study . *Biophysical Journal* Volume 74 , 2227–2234.
- Fuller, B. Tensegrity. *Portfolio Artnews Annu.* 4:112–127, 1961.
- Fulton, A.B. and Isaacs, W.B. 1986. Possible tensegrity models for the cytoskeleton. *J. Cell Biol.* 103, 409a.
- Gail M. H. y Ch. W. Boone. 1972. Cell-Substrate A Determinant Adhesivity of Cell Motility . *Experimental Cell Research* 70 (1972) 33-40.
- Gierer A. Y H. Meinhardt. 1972. A Theory of biological pattern formation. *Kybernetik.* Vol. 12, issue 1, pp30-39.
- Gilbert Scott F. 2003. The morphogenesis of evolutionary developmental biology .*Int. J. Dev. Biol.* 47: 467-477.
- Goetz, J. G. 2009. Bidirectional control of the inner dynamics of focal adhesions promotes cell migration. *Cell adhesion & migration*, 3(2), 185-190.
- Goodwin, Brian. *How the leopard changed its spots. The evolution of complexity.* Princeton University Press. Princeton, New Jersey. 1994.
- Gopalacharyulu Peddinti V.; Erno Lindfors, Catherine Bounsaythip, Teemu Kivioja, Laxman Yetukuri, Jaakko Hollmén and Matej Orešic. 2005. Data integration and visualization system for enabling conceptual biology. Vol. 21 Suppl. 1 pages i177–i185.
- Gould, Stephen. J. *The structure of evolutionary Theory.* The Belknap press of Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts and London England. USA. 2002.
- Gould, Stephen. J. *Ontogeny and Phylogeny.* The Belknap press of Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts and London. England. 2003.

- Grainger, R. M., Wessells, N. K. 1974. Does RNA pass from mesenchyme to epithelium during an embryonic tissue interaction?. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1974 Dec;71(12):4747-51.
- Grinnell F. and Petroll, W. M. 2010. Cell Motility and Mechanics in Three-Dimensional Collagen Matrices. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 26:335–61.
- Hargreaves, Alan J. 1997). The cytoskeleton as a target in cell toxicity. *Advances in Molecular and Cell Biology* 20: 119-144.
- Harris Albert K., Patricia Wild & David Stopak. 1980. Silicone Rubber Substrata: A New Wrinkle in the Study of Cell Locomotion . *Science*, vol 208.
- Harris, A. K., warner, P., Stopak, D. 1984. Generation of spatially periodic patterns by a mechanical instability: a mechanical alternative to the Turing model. *J. Embryol. exp. Morph.* 80, 1-20.
- Harris, T.J., Tepass, U. 2010. Adherens junctions: from molecules to morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* Jul;11(7):502-14.
- Hakkinen, K. M., Harunaga, J. S., Doyle, A. D., & Yamada, K. M. 2010. Direct comparisons of the morphology, migration, cell adhesions, and actin cytoskeleton of fibroblasts in four different three-dimensional extracellular matrices. *Tissue Engineering Part A*, 17(5-6), 713-724.
- Hay, E. D. 1981. Extracellular matrix. *The Journal of cell biology*, 91(3), 205s-223s.
- Heisenberg Carl-Philipp & Yohanns Bellaïche. 2013. Forces in Tissue Morphogenesis and Patterning. *Cell* 153, May 23.
- Henderson, Deborah J., y Andrew J. Copp. 1997. Role of the extracellular matrix in neural crest cell migration." *Journal of anatomy* 191, no. 4: 507-515.
- Ingber DE, Madri JA, Jamieson JD 1981. Role of basal lamina in neoplastic disorganization of tissue architecture. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981, 78:3901-3905 .
- Ingber DE, Madri JA, Jamieson JD. 1982. Basement membrane components mediate epithelial cell attachment, spreading, and polarization in vitro. *J Cell Biol*, 95:120a
- Ingber DE, Madri JA, Jamieson JD. 1985. Neoplastic disorganization of pancreatic epithelial cell-cell relations: Role of basement membrane. *Am J Pathol*, 121:248-260 .
- Ingber, D.E. and Folkman, J. 1989. Tension and compression as basic determinants of cell form and function: utilization of a cellular tensegrity mechanism. In *Cell Shape: Determinants, Regulation and Regulatory Role* (ed. Stein, W. and Bronner, F.), pp. 1-32. Academic Press: Orlando, FL.
- Ingber, D. E. 1993. Cellular tensegrity: defining new rules of biological design that govern the cytoskeleton. *Journal of Cell Science*, 104, 613-613.
- Ingber, D.E. 2000. The origin of cellular life. *BioEssays* 22:1160-1170.
- Ingber, D.E. 2003. Tensegrity I. Cell structure and hierarchical systems. *biology, Journal of Cell Science* 116, 1157-1173.
- Ingber, D.E. 2004. The mechanochemical basis of cell and tissue regulation. *Mech. Chem. Biosyst.* 1(1):53-68.

- Ingber, D. E. 2006. Cellular mechanotransduction: putting all the pieces together again. *FASEB J.* 20:811–827.
- Ingber, D.E., 2008. Tensegrity-based mechanosensing from macro to micro. *Progress Biophys Mol Biol.*
- Ingber, D. E. 2010. From Cellular Mechanotransduction to Biologically Inspired Engineering. *Annals of Biomedical Engineering*, Vol. 38, No. 3.
- Johnson S.L., Africa D., Walker C., Weston J.A. 1995. Genetic control of adult pigment stripe development in zebrafish. *Developmental Biology*, 167 (1), pp. 27-33.
- Joshi, H.C., Chu, D., Buxbaum, R.E. and Heidemann, S.R. 1985. Tension and compression in the cytoskeleton of PC 12 neurites. *J. Cell Biol.* 101, 697-705.
- Katz, M. J., Lasek, R. J. 1980. Invited review: guidance cue patterns and cell migration in multicellular organisms. *Cell Motil.* 1(1):141-57.
- Kauffman, Stuart A. *The Origins of Order. Self-organization and Selection in Evolution.* New York, University of Pennsylvania and the Santa Fe Institute. Oxford University Press, 1993.
- Kelsh Robert N., Bettina Schmid, Judith S. Eisen. 2000. Genetic Analysis of Melanophore Development in Zebrafish Embryos *Developmental Biology*, Volume 225, Issue 2, Paginas 277–293.
- Knecht Anne K. y Bronner-Fraser Marianne. 2002. Induction of the neural crest: a multigene process. *Nature Reviews Genetics* 3, 453-461.
- Koch A. J., y H. Meinhardt. 1994. Biological pattern formation: from basic mechanisms to complex structures. *Reviews of modern physics*, vol. 66. No 4.
- Kondo, Shigeru. 2002. The reaction-diffusion system: a mechanism for autonomous pattern formation in the animal skin. *Genes to Cell* 7, 535-541.
- Kondo, S., & Shirota, H. 2009. Theoretical analysis of mechanisms that generate the pigmentation pattern of animals. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 20, No. 1, pp. 82-89). Academic Press.
- Kondo, S. (2009). How animals get their skin patterns: fish pigment pattern as a live Turing wave. In *Systems Biology* (pp. 37-46). Springer Japan.
- Kondo, S., & Miura, T. 2010. Reaction-diffusion model as a framework for understanding biological pattern formation. *Science* 329, 1616–1620.
- Le Douarin, Nicole M., and Elisabeth Dupin. 2003. Multipotentiality of the neural crest. *Current opinion in genetics & development* 13. 5: 529-536.
- Lecuit, T., & Le Goff, L. 2007. Orchestrating size and shape during morphogenesis. *Nature*, 450(7167), 189-192.
- Lehnert Dirk, Bernhard Wehrle-Haller, Christian David, Ulrich Weiland, Christoph Ballestrem, Beat A. Imhof y Martin Bastmeyer. 2003. Cell behaviour on micropatterned substrata: limits of extracellular matrix geometry for spreading and adhesion. *Journal of Cell Science* 117 (1).

- Laubichler Manfred D. y Jane Maienschein editores. From embryology to evo-devo: A history of developmental evolution. The MIT Press Cambridge, Massachusetts. London, England. 2007.
- Lewontin, R. 2000. The Triple Helix: Gene, Organism, and Environment, Harvard: Harvard University Press.
- Maderspacher, F. and Nüsslein-Volhard, C. 2003. Formation of the adult pigment pattern in zebrafish requires leopard and obelix dependent cell interactions. *Development* 130(15):3447-57.
- Mammoto, T. and Ingber D.E. 2010. Mechanical control of tissue and organ development. *Development* 137:1407-1420.
- Martínez Mekler G. y G. Cocho. 1998. Al borde del milenio: caos, crisis y complejidad, en Ciencias de la materia. Génesis y evolución de sus conceptos fundamentales, Luis de la Peña, comp. Siglo XXI, México.
- Moreira Joana y Andreas Deutsch. 2005. Pigment Pattern Formation in Zebrafish During Late Larval Stages: A Model Based on Local Interactions . *Developmental Dynamics* 232:33– 42.
- Maskarinec, S. A., Franck, C., Tirrell, D. A., & Ravichandran, G. 2009. Quantifying cellular traction forces in three dimensions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(52), 22108-22113.
- Müller, G. B. & Newman, S. A. (eds.) 2003. *Origination of Organismal Form: Beyond the Gene in Developmental and Evolutionary Biology*. MIT Press.
- Murray, J. D., Maini, P. K. and Tranquillo, R. T. 1988. Mechanochemical models for generating biological pattern and form in development, *Phys. Reports*, 171, 59-84.
- Murray, J. D., G. F. Oster, and A. K. Harris. 1983. A mechanical model for mesenchymal morphogenesis. *Journal of mathematical biology* 17.1: 125-129.
- Nakagawa, S., & Takeichi, M. 1998. Neural crest emigration from the neural tube depends on regulated cadherin expression. *Development*, 125(15), 2963-2971.
- Nakamasua Akiko, Go Takahashia, Akio Kanbea, y Shigeru Kondo. 2009. Interactions between zebrafish pigment cells responsible for the generation of Turing patterns . *PNAS*. May 26, vol. 106 no. 21. 8429-8434.
- Newman, S. A., Forgacs, G., Muller, G.B. 2006; Before programs: the physical origination of multicellular forms. *Int J Dev Biol*. 50(2-3):289-99.
- Odell, G.M., Oster, G., Alberch, P., Burnside, B. 1981. The mechanical basis of morphogenesis. I. Epithelial folding and invagination. *Dev Biol*. 30;85(2):446-62.
- Ohara, P. T., & Buck, R. C. 1979. Contact guidance in vitro: a light, transmission, and scanning electron microscopic study. *Experimental cell research*, 121(2), 235-249.
- Oliver, T., Lee, J., & Jacobson, K. 1994. Forces exerted by locomoting cells. In *Seminars in cell biology* (Vol. 5, No. 3, pp. 139-147). Academic Press.
- Oliver, T., Jacobson, K., & Dembo, M. 1995. Traction forces in locomoting cells. *Cell motility and the cytoskeleton*, 31(3), 225-240.

- Oster, G. F., Murray, J. D. and Harris A. K. 1983. Mechanical aspects of mesenchymal morphogenesis. *J. Embryol. exp. Morph.* 78, 83-125.
- Overton, J. 1979. Differential response of embryonic cells to culture on tissue matrices. *Tissue and cell*. Volume 11, Issue 1, pages 89-98.
- Oyama, S. 1985. *The Ontogeny of Information. Developmental systems and evolution.* Cambridge University Press.
- Parichy, D.M. 1996. Pigment patterns of larval salamanders (Ambystomatidae, Salamandridae): the role of the lateral line sensory system and the evolution of pattern-forming mechanisms. *Developmental Biology*. 175:256-282.
- Parichy, D.M. 2006. Evolution of danio pigment pattern development. *Heredity* 97:200–210.
- Pinto-Correia, Clara. *The ovary of eve. Egg and sperm and preformation.* The university of Chicago press USA. 1997.
- Popp, D., y Robinson, R. C. 2012. Supramolecular cellular filament systems: How and why do they form?. *Cytoskeleton*, 69(2), 71-87.
- Quigley IK, Manuel JL, Roberts RA, Nuckels RJ, Herrington ER, Mac Donald EL, Parichy DM. 2005. Evolutionary diversification of pigment pattern in Danio fishes: differential fms dependence and stripe loss in *D. albolineatus*. *Development* 132:89–104.
- Raff A. Rudolf. 2000. *Evo- devo: the evolution of a new discipline.* Nature reviews. Volume 1.
- Raff A. Rudolf. *The Shape of Life. Genes, Development, and the Evolution of Animal Forms.* The University of Chicago Press. USA. 1996.
- Raible DW, Wood A, Hodsdon W, Henion PD, Weston JA, Eisen JS. 1992. Segregation and early dispersal of neural crest cells in the embryonic zebrafish. *Dev Dyn* 195:29–42.
- Rawls JF, Mellgren EM, Johnson SL. 2001. How the zebrafish gets its stripes. *Dev Biol* 240:301–314.
- Rehfeldt, F., Engler, A. J., Eckhardt, A., Ahmed, F., & Discher, D. E. 2007. Cell responses to the mechanochemical microenvironment—implications for regenerative medicine and drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 59(13), 1329-1339.
- Ryan Peter L., Ramsey A. Foty, Joachim Kohn, & Malcolm S. Steinberg. 2001. Tissue spreading on implantable substrates is a competitive outcome of cell– cell vs. cell–substratum adhesivity. *PNAS*. April 10, vol. 98 no. 8 4323– 4327.
- Schmidt, C., & Patel, K. 2005. Wnts and the neural crest. *Anatomy and embryology*, 209(5), 349-355.
- Schöck, F. and Perrimon, N. 2002. Molecular Mechanisms of Epithelial Morphogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 18:463-93.
- Schötz, E.M., Burdine, R.D., Jülicher, F., Steinberg, M.S. Heisenberg, C.P. and Foty, R.A. 2008. Quantitative differences in tissue surface tension influence zebrafish germ layer positioning. *HFSP Journal* 2(1): 42-45.

- Seul, M., & Andelman, D. 1995. Domain shapes and patterns: the phenomenology of modulated phases. *Science*, 267(5197), 476-483.
- Solé Richard & Brian Goodwin. *Signs of Life. How Complexity Pervades Biology*. Basic Books, New York, 2000.
- Stamenović, Dimitrije, & Donald E. Ingber. 2009. Tensegrity-guided self assembly: from molecules to living cells. *Soft Matter* 5, no. 6: 1137-1145.
- Steinberg, M. S. 2007. Differential adhesion in morphogenesis: a modern view. *Curr Opin Genet Dev*. Aug; 17 (4): 281-6.
- Stopak, David & Albert K. Harris. 1982. Connective tissue morphogenesis by fibroblast traction: I. Tissue culture observations. *Developmental biology* 90.2: 383-398.
- Streuli, C. H., Bailey, N., Bissell, M. J. 1991. Control of mammary epithelial differentiation: basement membrane induces tissue-specific gene expression in the absence of cell-cell interaction and morphological polarity. *J Cell Biol*. Dec;115(5):1383-95.
- Tada Masazumi & Carl-Philipp Heisenberg. 2012. Convergent extension: using collective cell migration and cell intercalation to shape embryos . *Development* 139, 3897-3904.
- Takeichi, M. 1988. The Cadherins: cell-cell adhesion molecules controlling animal morphogenesis. *Development* 102:639-655.
- Taylor, W. R., Morley, R., Krasavin, A., Gregory, L., Wilkinson, D. G., & Poliakov, A. 2012. A mechanical model of cell segregation driven by differential adhesion. *PloS one*, 7(8), e43226.
- Thiery, J. P. 2003. Cell adhesion in development: a complex signaling network. *Current Opinion in Genetics & Development* 13:365–371. (a)
- Thiery, J. P. 2003. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies. *Curr Opin Cell Biol*. Dec;15(6):740-6. (b).
- Thiery, J. P., y Jonathan P. Sleeman. 2006. Complex networks orchestrate epithelial–mesenchymal transitions . *Nature reviews. Molecular cell biology*. Volume 7 february.
- Thompson, D'arcy W. *On Growth and Form*. New York, Dover, 1992.
- Trichet, Léa, Jimmy Le Digabel, Rhoda J. Hawkins, Sri Ram Krishna Vedula, Mukund Gupta, Claire Ribault, Pascal Hersen, Raphaël Voituriez, and Benoît Ladoux. 2012. Evidence of a large-scale mechanosensing mechanism for cellular adaptation to substrate stiffness. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109, no. 18: 6933-6938.
- Tsukita Shoichiro, Mikio Furuse and Masahiko Itoh. 2001. Multifunctional strands in tight junctions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2, 285-293.
- Turing, A. M. 1952. The Chemical Basis of Morphogenesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 237(641):37-72.
- Van Speybroeck, L. De Waele, D. & Van de Vijver, G. 2002. Theories in Early Embryology. Close Connections between Epigenesis, Preformationism, and Self-Organization. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 981:7-49.



- Waddington, C. H. 1940. *Organisers and Genes. Genes as evocators in development.* Cambridge Univ. Press.
- Waddington, C. H. *The strategy of the genes: A discussion of some aspects of theoretical biology.* Allen & Unwin (London), 1957.
- Waddington, C. H. *New Patterns in Genetics and Development.* Columbia University Press. USA, 1962.
- Waddington, C. H. *Tools for Thought. How to Understand and Apply the Latest Scientific Techniques of Problem Solving.* New York: Basic Books, Inc. 1977.
- Wang, N., & Ingber, D. E. 1994. Control of cytoskeletal mechanics by extracellular matrix, cell shape, and mechanical tension. *Biophysical journal*, 66(6), 2181-2189.
- Wang Ning, Keiji Naruse, Dimitrije Stamenovic, Jeffrey J. Fredberg, Srbojub M. Mijailovich, Iva Marija Tolic Nørrelykke, Thomas Polte, Robert Mannix, y Donald E. Ingber . 2001. Mechanical behavior in living cells consistent with the tensegrity model . *PNAS*. July 3, 2001. vol. 98. no. 14. 7765–7770.
- Weiss Paul & Batrice Garber. 1952. Shape and movement of mesenchyme cells as functions of the physical structure of the medium. *Contributions to a quantitative morphology. Proc. N. A. S. Vol. 38.*
- Weiss, Paul. 1959. Cellular Dynamics. *Rev. Mod. Phys.* 31:11–20.
- West-Eberhard, M. J. 1989. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20, 249-278.
- Jaenisch, R., Bird, A. (2003). Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nature genetics* 33 Suppl: 245–254.
- Jablonka, E., Lamb, M. J. *Evolution in Four Dimensions. Genetic, Epigenetic, Behavioral, and Symbolic Variation in the History of Life.* A Bradford Book. Cambridge, England: The MIT Press. 2005.
- Janmey, P. A. 1991. Mechanical properties of cytoskeletal polymers. *Curr Opin Cell Biol.* Feb;3(1):4-11.
- Jablonka, E., Raz, G. 2009. Transgenerational Epigenetic Inheritance: Prevalence, Mechanisms, and Implications for the Study of Heredity and Evolution. *The Quarterly Review of Biology* 84 (2): 131–176.
- Yamada, S., Pokutta, S., Drees, F. Weis, W. I., Nelson W. J. 2005. Deconstructing the Cadherin-Catenin-Actin Complex. *Cell* 123, 889–901.
- Yamaguchi M, Yoshimoto E, Kondo S. 2007. Pattern regulation in the stripe of zebrafish suggests an underlying dynamic and autonomous mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:4790–4793.

# An Epigenetic Model for Pigment Patterning Based on Mechanical and Cellular Interactions



LORENA CABALLERO<sup>1,2,3\*</sup>, MARIANA BENÍTEZ<sup>3,4,5</sup>,  
ELENA R. ALVAREZ-BUYLLA<sup>3,6</sup>, SERGIO HERNÁNDEZ<sup>3</sup>,  
ALEJANDRO V. ARZOLA<sup>7</sup>, AND GERMINAL COCHO<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Sistemas Complejos Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, DF, México

<sup>2</sup>Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, DF, México

<sup>3</sup>C3, Centro de Ciencias de la Complejidad, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, DF, México

<sup>4</sup>Department of Functional Genomics and Proteomics, Masaryk University, Brno, Czech Republic

<sup>5</sup>CEITEC-Central European Institute of Technology, Masaryk University, Brno, Czech Republic

<sup>6</sup>Laboratorio de Genética Molecular Desarrollo y Evolución en Plantas Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, DF, México

<sup>7</sup>Institute of Scientific Instruments Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno, Czech Republic

## ABSTRACT

Pigment patterning in animals generally occurs during early developmental stages and has ecological, physiological, ethological, and evolutionary significance. Despite the relative simplicity of color patterns, their emergence depends upon multilevel complex processes. Thus, theoretical models have become necessary tools to further understand how such patterns emerge. Recent studies have reevaluated the importance of epigenetic, as well as genetic factors in developmental pattern formation. Yet epigenetic phenomena, specially those related to physical constraints that might be involved in the emergence of color patterns, have not been fully studied. In this article, we propose a model of color patterning in which epigenetic aspects such as cell migration, cell–tissue interactions, and physical and mechanical phenomena are central. This model considers that motile cells embedded in a fibrous, viscoelastic matrix—mesenchyme—can deform it in such a way that tension tracks are formed. We postulate that these tracks act, in turn, as guides for subsequent cell migration and establishment, generating long-range phenomenological interactions. We aim to describe some general aspects of this developmental phenomenon with a rather simple mathematical model. Then we discuss our model in the context of available experimental and morphological evidence for reptiles, amphibians, and fishes, and compare it with other patterning models. We also put forward novel testable predictions derived from our model, regarding, for instance, the localization of the postulated tension tracks, and we propose new experiments. Finally, we discuss how the proposed mechanism could constitute a dynamic patterning module accounting for pattern formation in many animal lineages. *J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.)* 318:209–223, 2012. © 2012 Wiley Periodicals, Inc.

*J. Exp. Zool.*  
(*Mol. Dev. Evol.*)  
318:209–223, 2012

**How to cite this article:** Caballero L, Benítez M, Alvarez-Buylla ER, Hernández S, Arzola AV, Cocho G. 2012. An epigenetic model for pigment patterning based on mechanical and cellular interactions. *J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.)* 318:209–223.

Morphogenetic mechanisms and pattern formation have traditionally been central topics in developmental biology, and more recently in the search of explanations for pattern formation and evolution at the molecular genetic level (e.g., Parichy, 2006). In this context, a valuable strategy for understanding the basic phenomena involved in the emergence, maintenance, and evolution of developmental patterns is to look for potentially generic mechanisms by using modeling or other theoretical approaches.

Color pattern formation has already been studied with generic dynamic reaction–diffusion (RD) models (Turing '52; Gierer and Meinhardt '72). However, such models generally do not take into account the cellular and tissue environments in which color patterns arise (see, however, Cocho et al., '87a,b; Moreira and Deutsch, 2005; Deutsch and Dormann, 2005). In this article, we postulate a simple mathematical model that considers that long-range forces can emerge from viscoelastic and tensile properties of the mesenchymatic tissue, and that these forces, in conjunction with cell–cell interactions, may give rise to color patterns like those observed in different animal lineages. We, nevertheless, do not argue that RD models and the model we postulate here necessarily exclude each other.

Developmental biology recognizes that the emergence of new patterns results from interactions among diverse molecular, cellular, and environmental processes, and that epigenetic interactions play an essential role in development (Newman and Müller 2000). It is important to note that in this work we use the term *epigenetic* to refer to a wide range of mechanisms, and not only to refer to heritable DNA modifications, such as methylation. We regard as epigenetic mechanisms processes such as cell communication, cell–environment interactions, tensegrity, which gives structural stability to a system by means of tension–compression or attraction–repulsion mechanisms, and other physicochemical mechanisms (Waddington, '62; Newman and Müller, 2000; Ingber, 2000, 2006, 2010). According to van Speybroeck and coauthors (2002) “epigenesis can be seen to approach the ques-

tion of organic organization in terms of internal dynamics and interaction, focusing on process and change” (Van Speybroeck et al., 2002: p. 33). The related term epigenetics, which combines epigenesis and genetics, was proposed by Waddington to represent “a true synthesis between developmental processes and genetic action, which together bring the organism into being” (Van Speybroeck et al., 2002: p. 33).

Based on this understanding of the epigenetic phenomena, we analyze some physical mechanisms critical to the establishment of color patterns in the skin of reptiles, fishes, and amphibians, and postulate them as potentially generic processes across evolutionary lineages. These generic mechanisms could explain, at least partially, some of the repeated patterns observed in vertebrates. In this case, we will consider the epigenetic processes of pigment-cell migration and attraction, and the adhesive and mechanical interactions between pigments cells and the mesenchyme.

Pigment pattern formation can be traced to early stages in the development of fishes, amphibians, and reptiles, and like many key developmental processes, it involves the arrangement of epithelial sheets and cells in relation with the mesenchyme (Schöck and Perrimon, 2002). It is important to mention that the mesenchyme, the embryonic tissue on which pigment cells (chromatophores) migrate during color patterning, is a fibrous tissue with few cells. This makes the mesenchyme a matrix that is biphasic (consisting of both solid and uid fractions) and viscoelastic (exhibiting both viscous and elastic characteristics when deformed), which can show heterogeneous compression or tension patterns (Grinnell and Petroll, 2010). Given such properties of the mesenchymatic tissue, cells migrating and adhering to it can reorient its fibers and deform the matrix in a way such that tension lines are formed. This phenomenon has been observed in both in vivo and in vitro experimental setups (Table 1). Moreover, it has been shown that such lines become guides for subsequent cell migration and accumulation (Weiss, '59; Grinnell and Petroll, 2010; Fig. 1, Table 1).

We hypothesize that the migration of chromatophores on the mesenchyme, which is mediated by different types of junctions, such as the adherens junctions (Schöck and Perrimon 2002; Yamada et al., 2005), deforms the mesenchyme and gives rise to tension tracks to which chromatophores will tend to migrate and where these cells will be more likely to establish. In a recent review, Grinnell and Petroll (2010) offer a comprehensive account of the mechanisms involved in the adhesion and migration of cells embedded in a viscoelastic matrix, and mention that cell traction and contraction can deform viscoelastic tissues by establishing adhesive interactions and locally contracting the matrix. Importantly, this deformation results in long-range forces regulating subsequent cell migration and establishment (Weiss, '59; Fig. 1).

Almost 30 years ago, Oster and Murray (Oster et al., '83; Murray et al., '83; Murray et al., '88) put forward what they called

Contract grant sponsor: Posgrado en Ciencias Biológicas; Contract grant sponsor: Centro de Ciencias de la Complejidad, C3; Contract grant sponsor: CONACyT, contract grant numbers: 81433, 81542, 90565; Contract grant sponsor: Red de CONACyT Complejidad, Ciencia y Sociedad; Contract grant sponsor: PAPIIT, contract grant numbers: IN210408, IN229009-3, IN223607-3.

The present address of Mariana Benítez is Department of Functional Genomics and Proteomics, Institute of Experimental Biology, Faculty of Science, Masaryk University, CZ-625 00 Brno, Czech Republic

\*Correspondence to: Lorena Caballero, Departamento de Sistemas Complejos, Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México, Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, DF, México, México 04510. E-mail: lrcaballero@gmail.com

Received 28 February 2011; Revised 2 August 2011; Accepted 2 November 2011

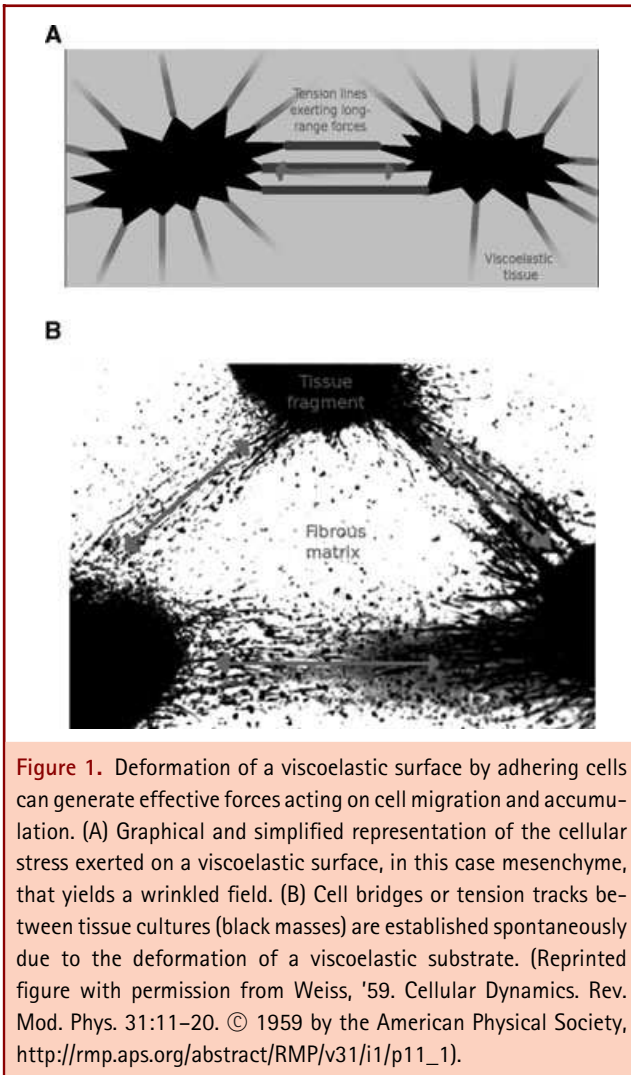
Published online 4 December 2011 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/jez.22007

**Table 1.** Biological and physical evidence supporting the analogy with liquid drops and the mechanochemical model proposed.

|  | Assumptions   | Supporting evidence   |   |
|--|---|---|---|
| Analogy with liquid drops minimizing surface tension | <p>Short-range attraction (cohesion).</p> <p>- "Wetting" interactions with the medium (adhesion).</p> <p>- Developing tissues behave, in some aspects, like immiscible liquids.</p>   | <p>Short-range cell-cell attractive interactions among chromatophores (Streuli et al., '91; Adams et al., '98; Nakagawa and Takeichi, '98; Bhatia et al., '99; Thiery, 2003a; Maderspacher and Nüsslein-Volhard, 2003; Armstrong et al., 2006).</p> <p>- There are adhesive interactions between epithelial cells (chromatophores) and mesenchyme (Grainger and Wessells, '74; Harris '80; Hay '81; Harris et al., '84; Edelman '88; Takeichi, '88; Bhatia et al., '99; Schöck and Perrimon, 2002; Duguay et al., 2003; Thiery 2003b; Yamada et al., 2005; Steinberg, 2007; Acloque et al., 2009; Grinnell and Petroll, 2010; Harris and Tepass, 2010 ).</p> <p>- Embryonic tissues generated behave on long-time scales like immiscible fluids and when mixed in culture, their cells segregate into discrete phases (Beysens et al., 2000; Armstrong et al., 2006; Newman et al., 2006; Shötzt et al., 2008).</p> |   |
| Epigenetic model for pigment patterning              | <p>Cells migrate on a viscoelastic medium. Motile cells can generate large forces on viscoelastic substrata due to traction and contraction.</p> <p>- Cell traction forces deform the substratum and generate tracks in which other cells are more likely to adhere and establish.</p> <p>- The presence of tension tracks can give rise to nontrivial cellular arrangements and long-range mechanism to generate and stabilize patterns.</p> | <p>Biological</p>   | <p>Chromatophores migrate on the mesenchyme during pigment pattern formation (Epperlein et al., '96; Epperlein and Löfberg, '96, '90; Parichy, '96).</p> <p>- The mesenchyme is a fibrous matrix with viscoelastic properties (Janmey et al., '91; Cañadas et al., 2002; Pan et al., 2005; Newman et al., 2006; Grinnell and Petroll, 2010; Yu et al., 2010).</p> <p>- Motile cells can generate large traction forces on viscoelastic substrata, deforming the substratum (Weiss, '59; Harris et al., '80; Harris et al., '81; Oster et al., '83; Harris et al., '84; Oliver et al., '94; Davis and Camarillo, '95; Grinnell and Petroll, 2010).</p> <p>- Several experiments have shown that the migration and adhesion of cells can be guided by the cues in a deformed substratum. Particularly, cells tend to follow the alignment of a fibrous matrix (De Haan, '64; Elsdale and Bard, '72; O'Hara and Buck, '79; Belousov, '79, '80; Overton, '79; Belousov et al., '75; Katz and Lasek, '80; Goetz et al., 2011). Weiss ('59) called this phenomena "contact guidance."</p> |
|  |   | <p>Physical and mathematical</p>  | <p>A mathematical model for embryonic epithelia suggests that mechanical forces could coordinate the shape changes of large cell sheets, without the intervention of long-range chemical signaling (Odell et al., '81).</p> <p>- In a simplified version of the mechanochemical model put forward by Oster and Murray, one that focuses on contact guidance and cell traction, there is variety of solutions, including periodic patterns, corresponding to different patterns of cell concentrations (Murray et al., '88).</p> <p>- Experiments of inanimate particles deforming a viscoelastic film show the generation of tracks that guide their motion (Di Leonardo et al., 2008).</p>   |

the mechanochemical approach to biological patterning and development. This approach considered the mechanical forces acting on cells and tissues as key aspects of biological patterning. In particular, these authors pointed out the importance of random cell motion, haptotaxis (cell motion on an adhesive gradient), contraction of the extracellular matrix through cell adhesion and migration, and contact guidance (cells following ge-

ometrical cues in their substratum). Oster et al. ('83) put forward a mathematical model of cell motion and aggregation based on these mechanical forces and showed that, for a simplified version of their system of equations, one that is analytically tractable and focuses mostly on contact guidance and cell traction (Murray et al., '88), a variety of solutions corresponding to different patterns of cell concentrations could be generated, including



periodic patterns of dots and stripes. This mathematical model and its analytical solutions suggest that pattern formation can indeed take place in the viscoelastic medium in which pigment cells migrate, and hence provide a solid mathematical basis to further study pattern formation during development. Oster and collaborators applied these ideas mainly to two animal model systems: that of skin-organ primordia, especially feather germ formation, and that of chondrogenesis in the developing vertebrate limb (Oster et al., '83).

Although Murray and coworkers mention that the Oster-Murray mechanochemical approach (Murray et al., '88) could be useful to understand the formation of animal coat patterns, pigment patterning in animals has not been studied from this point of view. Also, in this study, we put forward a phenomenological model that recovers the main features of our study system and that can be specified by means of a simple energy balance equation (Box 1).

### Box 1

#### Mathematical description of the drop shaping formalism.

The shape of liquid drops can be understood in terms of energy minimization (De Genes et al., 2010; Seul and Andelman, '95). In our case, we assume large wetting interactions between the drops and the substrate, modeling planar drops with constant thickness. The resulting balance of energy can be expressed as:

$$E = -\lambda \int_0^L dy f(y) + \int_0^L dy f(y) V(y) + \beta \int_0^L dy \sqrt{1 + \left(\frac{\partial f}{\partial y}\right)^2} \quad (1)$$

where the first term is associated with the cohesive forces among liquid molecules, the second one with the adhesive or wetting interactions between liquid molecules and the background, and the third one with the linear tension. The shape of the drop is represented by  $f(y)$ , and  $L$  is the size of the drop along  $y$ .  $\lambda$  and  $\beta$  are proportionality constants. In the analogy with pigment patterns, the first term is associated with cell-cell attractive interactions among chromatophores, the second with cell-tissue interactions between chromatophores and the mesenchyme, and the third with the linear tension of the pigment patterns.  $V(y)$  corresponds to the potential that will define the zones of preferential adhesion and accumulation of the molecules (or chromatophores) and, therefore, will define the deviations from circular shapes, if any. We consider that this potential varies only on the direction of  $y$ . The square root in the linear tension term corresponds to the differential of the arc length of a given curve, in this case, of the perimeter of a pigment pattern.

The shape of the pattern is defined at the equilibrium state, when all the forces are balanced. It means  $\delta E = 0$ . Applying the formalism of calculus of variations, particularly the Euler-Lagrange equation, it can be shown that  $\delta E = 0$ , implies:

$$-\lambda + V(y) - \frac{\beta}{2} \frac{f''}{(1 + f'^2)^{\frac{3}{2}}} = 0, \quad (2)$$

where  $\frac{df}{dy} \equiv f'$ .

Note that  $\frac{f''}{(1 + f'^2)^{\frac{3}{2}}}$  is the definition of the local curvature,  $k(y)$  (De Genes et al., 2010). Then

$$k(y) = \frac{2}{\beta} (V(y) - \lambda). \quad (3)$$

To conclude, the potential is proportional to the curvature plus a constant, it means  $k(y) \propto V(y)$ . Then, the potential underlying the shape of a pigment pattern can be approximated by calculating its curvature (see Model and Results section). Note that if the potential is constant, the curvature is constant too, which renders circular shapes.

In this contribution, we first show that the cellular affinity giving rise to attraction between similar chromatophores can explain the formation of circular spots and ring-like pigment patterns, but not other types of patterns. Then we postulate that cell traction and mesenchyme deformation could explain the formation of the rest of the observed patterns. We then present a simple, formal, and experimentally testable approach to predict the position of cell accumulation zones generated by substrate deformation in certain animals.

To study color pattern formation and validate our model, we considered embryological information provided by studies in amphibians, specifically urodela, (Epperlein et al., '96; Epperlein and Lofberg, '96, '90; Parichy, '96), as well as evidence for diverse color patterns in snakes, and some genetic data and models regarding zebrafish patterning. Urodela and snakes share body characteristics that make them appropriate systems to study for our aim: their bodies are long and almost cylindrical, at least in certain regions, their basal zone is quite small, and the color patterns are geometrically well defined. These animals also possess pigment-cell migration and differentiation patterns that are analogous to those occurring in the neural crest of other vertebrates.

The neural crest is a specific transitional structure in vertebrates, from which many cellular types are derived, including chromatophores (Epperlein et al., '96; Henderson and Copp, '97; Dupin and Le Douarin, 2003; Schmidt and Patel, 2005). In the case of amphibians, four pigment cells have been identified: melanophores (black), xanthophores (yellow), erythrophores (red), and iridiophores (silver). They generate different patterns, depending on the species and embryological stage. The patterns can include horizontal or vertical stripes, circular spots or uniform pigmentation (Epperlein and Lofberg, '90, Fig. 2). Patterns in the skin of snakes have similar embryological dynamics, where chromatophores of two or more colors migrate between the basal membrane of the epithelium, and the mesenchyme of the embryo (Alibardi, 2011). Hence, during pigment pattern formation, chromatophores physically interact with other chromatophores and with the mesenchyme.

Other explanations for pigment pattern formation include the proposal that pigment bands could be generated by prepatterns that guide cell migration and establishment. Moreover, it was proposed that the lateral line sensory system could be part of these prepatterns (mentioned in Parichy, '96), constituting a "melanophore free region." However, Parichy's work ('96) demonstrated in salamanders that the lateral line is not determinant for the emergence of color pattern, suggesting that the existence of the lateral line is not a sufficient prepattern for the establishment of horizontal bands in these groups. From our perspective, the regions at which chromatophores are more likely to adhere do not precede pigment patterning, but rather emerge throughout pigment arrangement itself. Another hypothesis is that pigmentation patterns arise from lineage-specific bio-

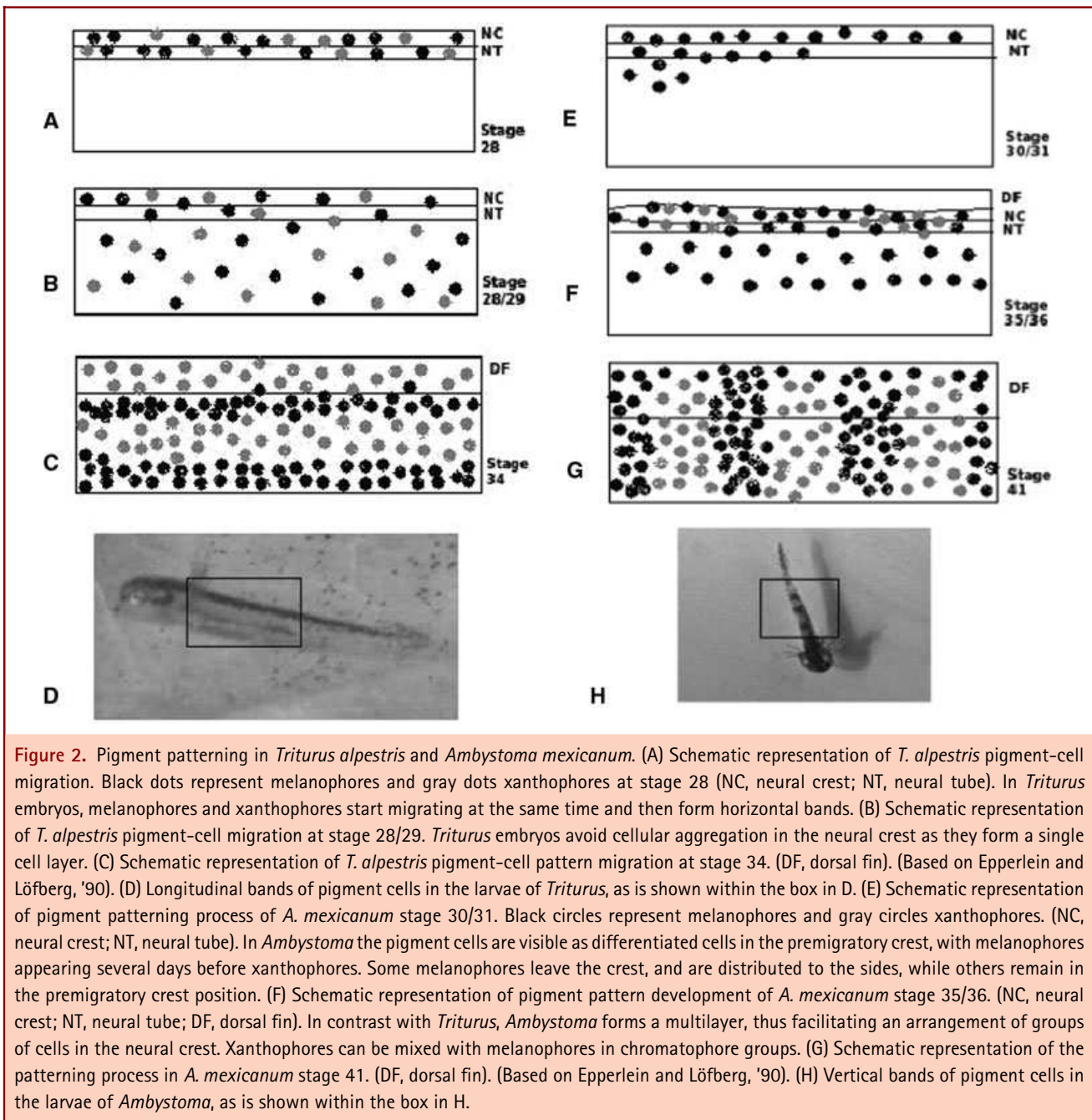
chemical and genetic regulatory mechanisms, as well as from particular short-range interactions among chromatophores (e.g., Maderspacher and Nüsslein-Volhard, 2003). However, as we discuss later, the emergence of the observed pigmentation patterns requires interactions not only among the different types of chromatophores, but also with a heterogeneous background field. Without denying the presence and relevance of lineage-specific mechanisms or of certain chemical cues, we propose a model for a potentially generic mechanism that relies on cell-cell and cell-tissue interactions, and on characteristic physical properties of the developing tissues. Nevertheless, in spite of the unifying aim of our model, we acknowledge that some groups may have specific patterns and underlying mechanisms that depend on particular cellular interactions and migration processes during development.

## MODEL AND RESULTS

Our model is largely based on the postulation of tension tracks that can be formed in the mesenchyme due to its high fiber content and flexibility (Buxboim et al., 2010). Different experiments have shown that cells indeed follow mechanical tracks in their substratum (see Harris et al., '81; Oster et al., '83; Grinnell and Petroll, 2010 and references therein; Table 1), Weiss ('59) called this phenomenon "contact guidance." "A spreading or migrating cell adheres to the matrix material at various points on its surface, and exerts a contractile force, or traction on these adhesions. If this contractile force is stronger than the adhesions elsewhere on the cell, the cell will pull itself in the direction of the net force vector exerted by these appendages. If the matrix material is deformable, these contracting appendages will also draw the matrix in towards the cell, compressing and aligning it" (Oster et al., '83).

Studies of cell dynamics in silicon rubber (Lee et al., '94; Oliver et al., '94, '95; Burton and Taylor, '97) have shown how cells may modify the viscoelastic substrate where they are grown and generate tension maps that provide a guide to the formation of cell arrangements, thus acting in the migration, accumulation, and adhesion of the cells in question (Maskarinec et al., 2009, Table 1). The pioneering work of Weiss ('59; Fig. 1) also showed how cell migration takes place along tension lines connecting three tissue fragments in a brin matrix, and hence, these tension lines become preferential zones of cell accumulation (Fig. 1, Table 1).

As mentioned above, the chromatophores interact with the mesenchymal tissue during development and even establish adhesive junctions that can result in the deformation of the mesenchyme (Weiss, '59; Grinnell and Petroll, 2010; Hakkinen et al., 2010). This has led us to postulate that contact guidance can have an important role during the migration and arrangement of chromatophores (Table 1). An example of the physical mechanism underlying these long-range forces is given by an experiment carried out by Di Leonardo and collaborators (2008).



These authors show that when microscopic particles are placed on a thin liquid film, these modify the surface and, owing to the surface tension, a long-range attractive capillarity force among the particles emerges.

To further illustrate some of these ideas, let us consider the case of the urodeles *Ambystoma mexicanum* and *Triturus alpestris*, which have transversal or longitudinal alter-

nating pigment stripes, respectively, of melanophores and xanthophores (Fig. 2). These arrangements are not the same in the two species because important differences in the melanophore and xanthophore interactions occur during early neural crest cell migration in embryos of the two species. Figure 2 (based on cell migration experiments by Epperlein and Löfberg ('90)) provides a schematic representation of cell migration processes

of *A. mexicanum* and *T. alpestris* larvae at different developmental stages.

Importantly, one of the conditions for directed migration and the formation of pigment patterns in *Triturus* is the presence of specific patterns in a subepidermal extracellular matrix (Epperlein and Löfberg, '90). In the *Triturus* larvae, melanophores that initially remained dispersed are later brought together longitudinally. However, in *Ambystoma*, the subepidermal patterns are not observed and pigment cells are arranged in vertical bands. As verified by experiments in which pigment cells taken from *Triturus* form longitudinal bands in *Ambystoma* (Epperlein and Löfberg, '90), background horizontal lines can be formed in both organisms, but the contrasting patterns in these two species may result from different levels of interaction between melanophores, xanthophores, and their background.

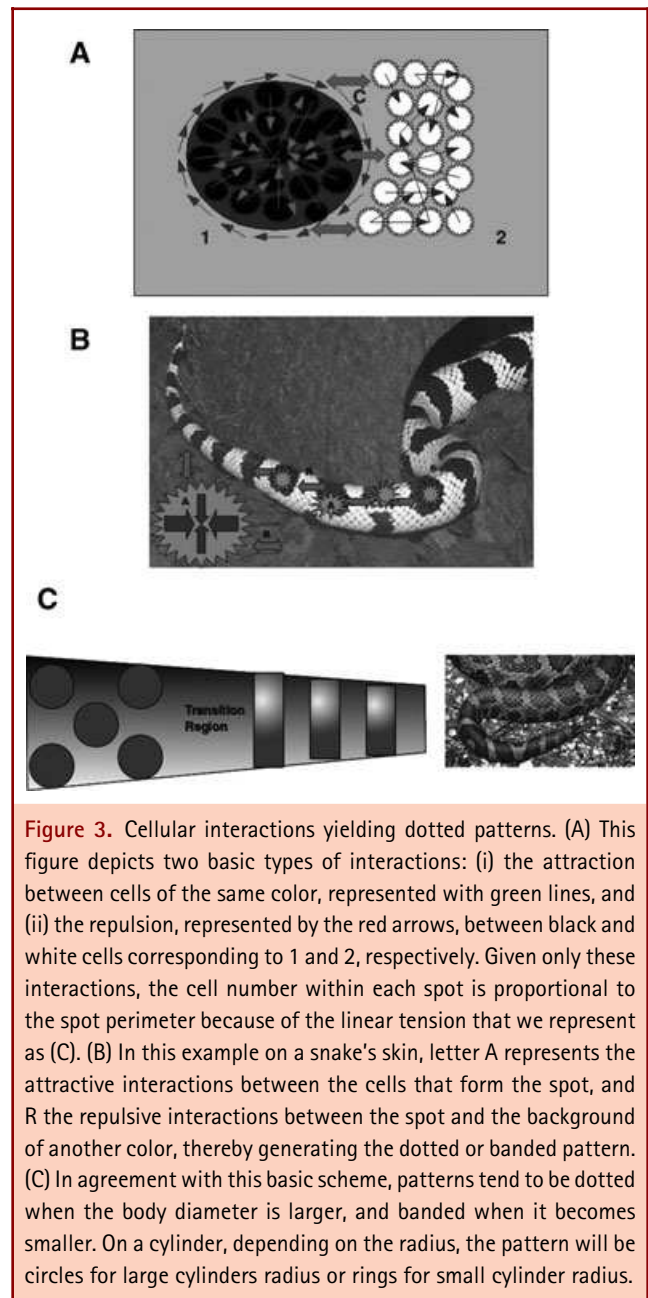
#### Physical Specification of the Model

In this section, we present a simple, phenomenological model that shows that a heterogeneous background field, corresponding to a mesenchyme with tension tracks in our proposal, can account for the generation of the diverse pigmentation patterns observed in different animal lineages and even within one individual. This model has the same mathematical representation as the physical model that corresponds to the behavior of liquid drops in a wetting background (Figs. 3, 4). We provide a qualitative account of our proposal throughout this section and refer the reader to Box 1 for a more detailed mathematical presentation.

We will now describe how the size and form of liquid drops in a uniform wetting background is determined and we will use this model as an analogy to understand the formation of different types of pigment patterns. Within this formalism, the shape and size of drops, and by analogy of pigment patterns, is given by three main components (see Box 1 for a mathematical definition of the drop model):

**Cohesion.** There are short-range, attractive interactions among the molecules within liquid drops (Box 1, Eq. 1, first term). Consider the simple example of a water drop. In this case, cohesive attraction is caused by the electric polarization of the water molecules. Given these forces, each molecule in the interior of a water drop is pulled equally in every direction by neighboring liquid molecules, which results in a net force of zero. However, the molecules at the surface of the drop do not have neighboring molecules on all sides and therefore are pulled inwards, which creates forces that make liquid surfaces to contract to the minimal area. Thus, droplets of water tend to be pulled into a spherical shape, which is the shape that minimizes the surface area. In a two-dimensional layout, the shape that minimizes the perimeter is the circle.

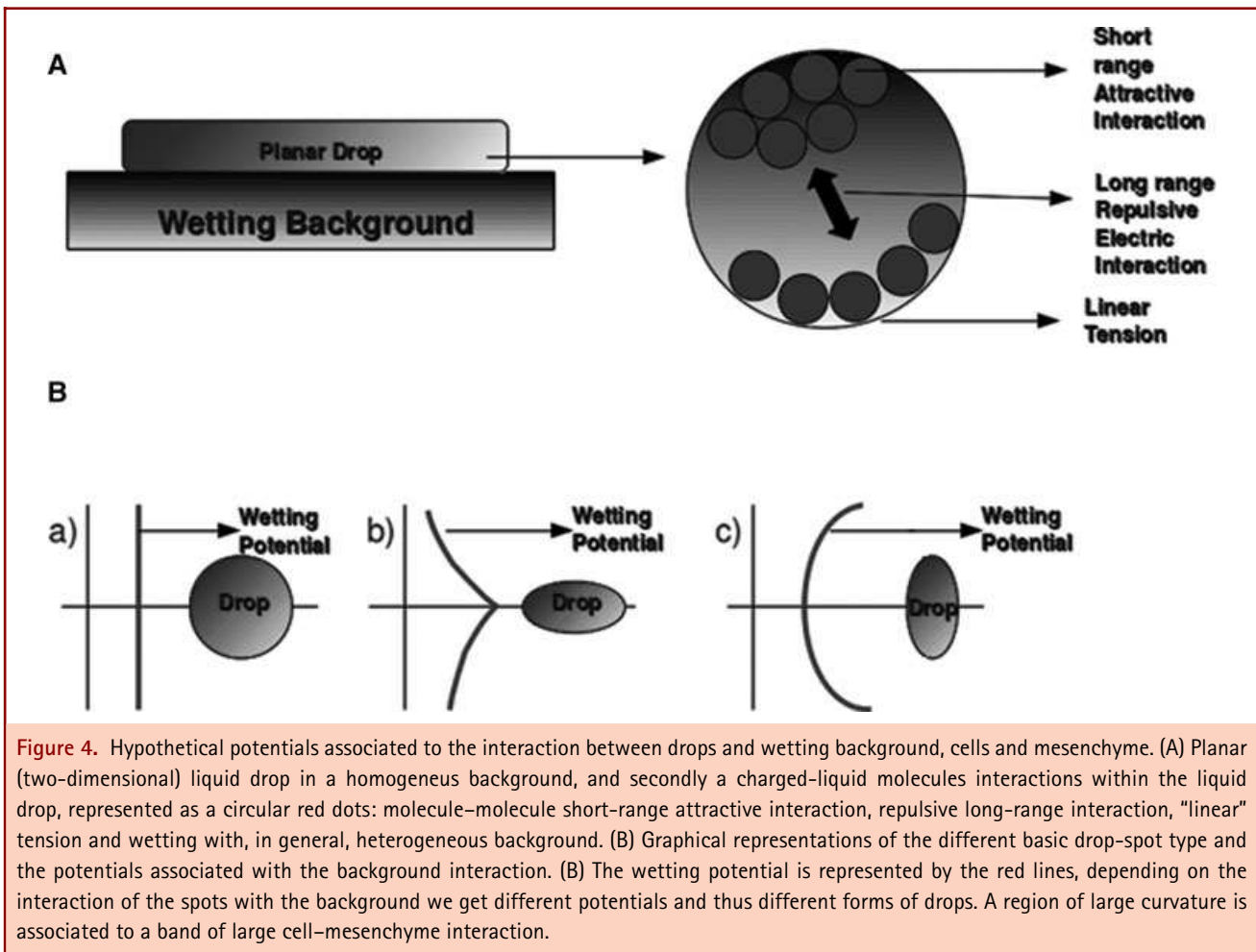
Drop shaping can also be understood in terms of energy. Given the existence of attractive cohesive forces, molecules sur-



**Figure 3.** Cellular interactions yielding dotted patterns. (A) This figure depicts two basic types of interactions: (i) the attraction between cells of the same color, represented with green lines, and (ii) the repulsion, represented by the red arrows, between black and white cells corresponding to 1 and 2, respectively. Given only these interactions, the cell number within each spot is proportional to the spot perimeter because of the linear tension that we represent as (C). (B) In this example on a snake's skin, letter A represents the attractive interactions between the cells that form the spot, and R the repulsive interactions between the spot and the background of another color, thereby generating the dotted or banded pattern. (C) In agreement with this basic scheme, patterns tend to be dotted when the body diameter is larger, and banded when it becomes smaller. On a cylinder, depending on the radius, the pattern will be circles for large cylinders radius or rings for small cylinder radius.

rounded by other molecules are in the lowest state of energy (no extra force needs to be exerted to reach that configuration), while molecules surrounded by few or no molecules are in a higher state of energy (an extra force has to be applied to separate them from the rest). Thus, the molecules in the interior of a drop have as many neighbors as possible, but the boundary molecules have fewer neighbors compared to the molecules in the interior and therefore have a higher energy. For the liquid to minimize its energy state and thus reach the equilibrium state,





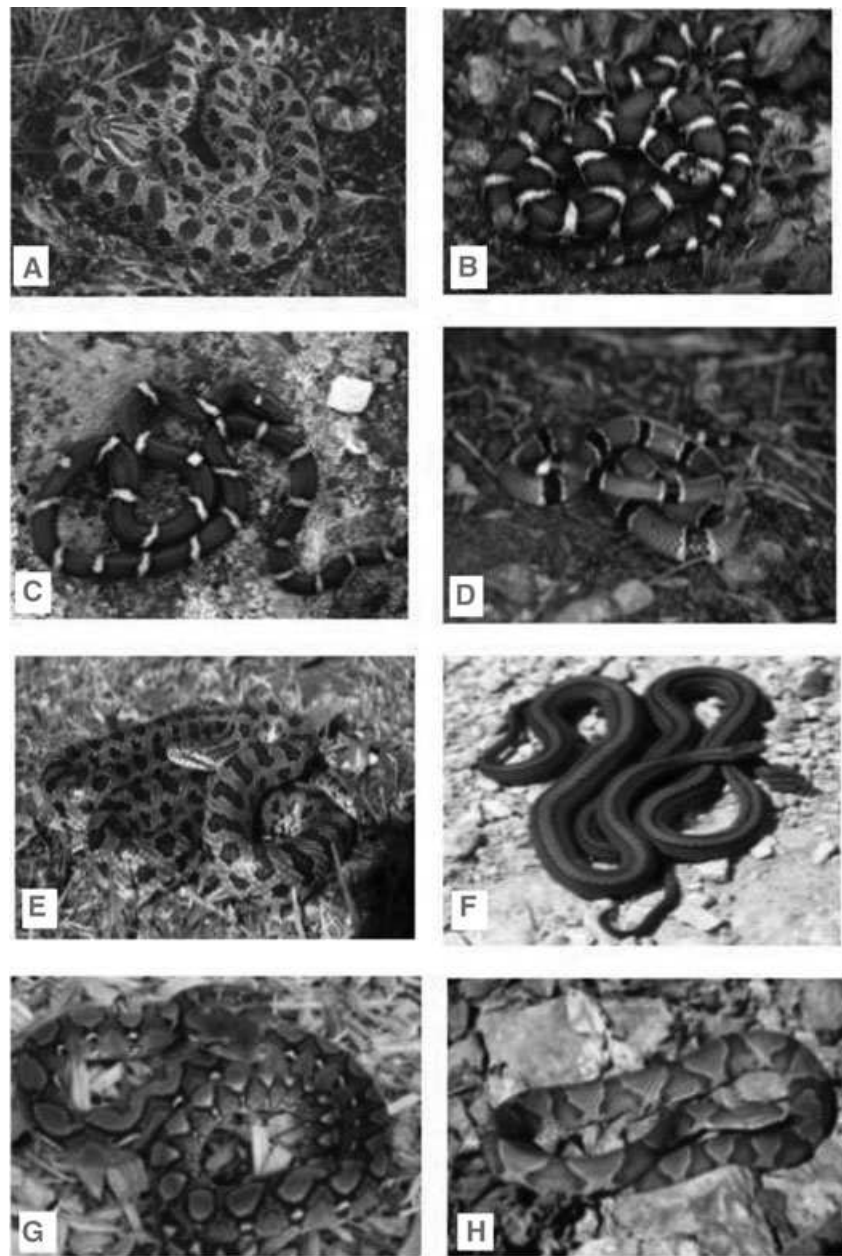
**Figure 4.** Hypothetical potentials associated to the interaction between drops and wetting background, cells and mesenchyme. (A) Planar (two-dimensional) liquid drop in a homogeneous background, and secondly a charged-liquid molecules interactions within the liquid drop, represented as a circular red dots: molecule-molecule short-range attractive interaction, repulsive long-range interaction, "linear" tension and wetting with, in general, heterogeneous background. (B) Graphical representations of the different basic drop-spot type and the potentials associated with the background interaction. (B) The wetting potential is represented by the red lines, depending on the interaction of the spots with the background we get different potentials and thus different forms of drops. A region of large curvature is associated to a band of large cell-mesenchyme interaction.

the number of boundary molecules must be minimized. The minimized quantity of boundary molecules results in a minimized surface area. Since any curvature in the surface shape results in greater area, spheres with constant curvature in all their points are formed. Analogous to cohesive forces, pigment cells of the same type attract and tend to stay close to each other (Fig. 3, Table 1).

*Uniform Wetting Interactions with the Background.* Molecules in a liquid drop adhere to the substratum, or as is often said, molecules wet the substratum (Box 1, Eq. 1, second term). This wetting effect opposes the cohesive forces and this is the main cause why drops break up into smaller ones after reaching a certain size. In the liquid drop scenario, this wetting occurs on a homogeneous background and, therefore, even if drops break, they will form smaller drops that also have a circular shape. This wetting effect tends to increase the energy of the system; while cohesion tends to attract cells together and take them closer to and equilibrium state of less energy, the adhesion of molecules

to the background opposes these forces (thus the second term in Box 1, Eq. 1 has a sign opposite to the term associated with cohesion). Just like the molecules in liquid drops, chromatophores also adhere to their background, the mesenchyme. In the simplest case, the mesenchyme is homogeneous, and thus the joint action of the attraction between chromatophores (cohesion) and their adhesion to the background renders circular spots. Due to the adhesion to the mesenchyme, long-range forces emerge and it is then expected that large pigment spots (how large depends on the specific strengths of cell cohesion and adhesion) will fragment into smaller spots that minimize the total perimeter. Phenomenologically, this can be seen as a repulsive force separating spots from each other. At this point, considering a uniform background, as well as the cohesion and adhesion forces, only circular spots and rings are expected.

*Linear Tension.* This is a force that arises from the cohesive forces acting on the border of the drop (Box 1, Eq. 1, third term). In order to reach the equilibrium state, the system compensates this force by minimizing the perimeter of the drop (Fig. 4).



**Figure 5.** Variety of pigmentation patterns in the snake's skin. These examples of snake's color patterns show that not only dots and rings are observed, suggesting that not only attractive and repulsive interactions among similar and dissimilar cells are at play. (A) Circular dots; (B) semicircular dots; (C and D) complete rings along the entire body; (E, G) polygonal dots; (F) horizontal longitudinal lines; and (H) triangular pattern.

On the basis of this analogy with the formation of liquid drops, we argue that like charged drops in a *uniform* medium, pigment cells migrating in a uniform medium will also be arranged in circular spots. This simple model can also explain the generation of pigment patterns with the shape of rings. The

formation of rings or stripes can be seen as the formation of a circle with a very long radius in comparison with the radius of the body of an organism, such that the cells in one point get close to the cells diametrically opposed and are attracted to each other, forming a ring of pigment cells. Ring-like patterns also

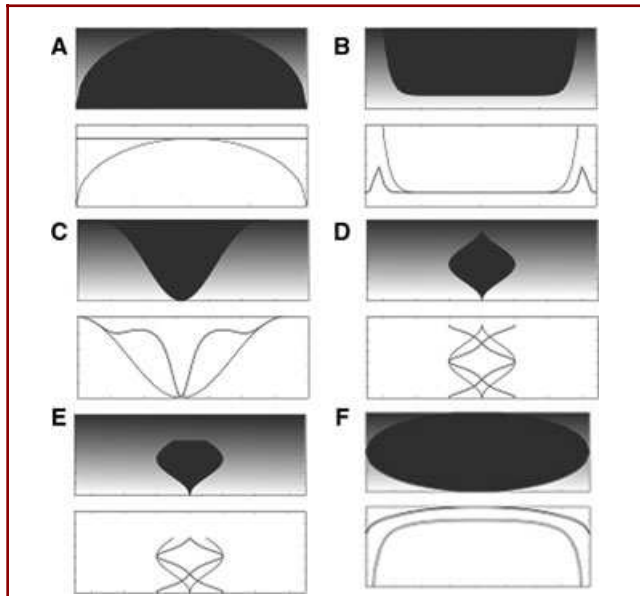
satisfy the equilibrium conditions because they have straight lines as borders, and straight lines have a constant curvature of zero. Circular spots and pigment rings are indeed observed in many animals (e.g., Fig. 5A). Moreover, Figures 5 and 3B, C show that patterns may vary depending on the radius and the anatomical characteristics of the body, which supports the idea that the same mechanisms underlying circular spots can generate rings when the size of the body, or other geometrical attributes, vary.

However, the diversity of patterns observed in vertebrates, and even in different regions of one organism, exceeds these two basic patterns. As shown in Figure 6, the color patterns observed in snakes include circular dots, triangles, and horizontal and vertical stripes. In the drop model described above, we have assumed that the interaction with the mesenchyme (wetting background) is constant and independent of the position, but in order to account for the diverse pigment patterns observed among vertebrates, it is necessary to assume a heterogeneous background. We postulate that such heterogeneities in the background correspond to the tension tracks that are formed in the fibrous mesenchyme while chromatophores migrate. In this case, the deformation of the mesenchyme gives rise to regions with different attractive potentials ( $V(y)$  throughout Box 1), or in other words, generates regions of preferential adhesion and accumulation of the pigment cells.

Under the latter scenario, the interaction between chromatophores and the background varies with position along the body, and the cells tend to occupy the region where stimulation is greatest. If this stimulation is larger in certain zones, it will be translated into modified rings or spots, or even into horizontal bands (Fig. 5, and recall the urodeles example depicted in Fig. 2). The particular form of these patterns will depend on the details of the interaction with the bottom layers, given, for example, by the characteristic affinity of each pigment-cell type.

We expect that the cells will tend to move in the direction of preferential adhesion and accumulation regions, increasing the local curvature of the spot perimeter in such regions. Then, we will consider the curvature of the border of a given pigment pattern ( $K$  in Box 1) as an indicator of the potential ( $V$  in Box 1) underlying the pattern. If the pattern is a circular spot or a ring, then the curvature is a constant straight line (Fig. 4B), but if there are heterogeneities in the background, these will be reflected in the curvature of the pigment pattern and the curvature will no longer be constant. When the perimeter changes direction abruptly, there is a large curvature reflecting strong attraction toward a certain region.

For the general case in which we consider liquid drops or chromatophores in a heterogeneous wetting background (Box 1, Figs. 3, 4), the shape of the drop or of the pigment pattern will be given by:



**Figure 6.** Prediction of zones of preferential accumulation for different pigmentation patterns. Different computer-generated patterns are shown together with the predicted preferential accumulation zone, also potential, depicted in red under each of the selected spots. In order to clarify where the potential maxima falls, the shadow of the selected spot was plotted in the same space. The shapes were generated with a given function  $f(t)$  that resembles a pattern observed in nature (circle, square, triangle, rhombus, truncated rhombus, and ellipse which can be observed in the skin of certain snakes) and the curvature was obtained with the expression stated in 2. In the case of the semicircle (A), the function used to generate the surface was  $y = \sqrt{1 - x^2}$  and as expected, the predicted potential is constant throughout all the shape, meaning that there is a homogeneous interaction with the background. The triangle (C), generated with  $y = \sin(t)$ , shows a peak in the curvature in the middle corresponding to the observed peak of the triangle. The rhomboidal pattern (D) was generated with the function  $y = \sin(t)^2$  and reflected over a symmetry axis, the curvature shows three preferential accumulation zones. The truncated rhombus (E) is almost the same case as the rhomboidal pattern only changing the domain where the function  $\sin$  takes its values. The last shape and (F) correspondent curvature shown is the ellipse. (Images courtesy of Jeff LeClare).

- (1) Cohesion in the liquid drops, analogous to cell attraction between similar chromatophores in the pigment-patterning system (Table 1).
- (2) Uniform wetting interactions with the background, analogous to adhesion of the chromatophores to the mesenchyme (Table 1).

- (3) A linear tension that is associated to the minimization of the perimeter of the drop or the pigment pattern (Table 1).
- (4) Heterogeneous attractive interactions with the background corresponding to the tension tracks in the deformed mesenchyma (Table 1).

## RESULTS

In order to explain the emergence of pigment patterns among vertebrates, we propose to use the physical model presented above, implying that there are tension tracks caused directly by the pigment cells adhering and moving on the mesenchymal tissue. Some of the predicted patterns and their relation to the animal body geometry or domain size are validated by the patterns found among snakes. In these organisms, spots or rings are found depending largely on the radius of the body cylinder (Fig. 3C). Also, if a zone of preferential accumulation is also considered, we would expect “stretched” or modified rings and circles, such as those seen in Figure 5.

An interesting aspect of this proposal is that the existence and position of band-like regions of preferential accumulation can, in principle, be inferred by approximating the potential—the zones where pigment cells will tend to establish ( $V$  in Box 1)—with the local curvature ( $K$  in Box 1) of an arbitrary pigment pattern. Consider, for example, the patterns shown in Figure 6. As we would expect based on our model, the curvature for a circular pattern is constant (Fig 6A). In this case, we would not expect a heterogeneous interaction with the background. In contrast, patterns depicted in Figure 6 B–E have regions of large curvature, and from these patterns, we can predict the existence of the preferential accumulation zones presented in Figure 6 B–E (red lines in the bottom graph from Fig. 5B–E). The exercise of predicting zones of preferential accumulation from pigmentation patterns becomes more difficult as we consider more complicated patterns. Yet it would be possible to adjust a function to a given curve and perform more detailed computational simulations for specific cases.

Overall, two of the basic observed patterns and underlying structural characteristics of the corresponding animals, with which our model is consistent, are:

- (a) In many animals with a more or less flat skin surface, one observes equal-sized, spaced-out, spots (Fig. 3).
- (b) If the surface is cylindrical with a large radius, we observe again circular spots. However, if the radius of the spot is larger in comparison with the diameter of the cylinder, one observes rings (Fig. 3B, C).
- (c) Many of the pigment patterns that are not circular dots or rings seem to be slightly deformed dots or rings (Fig. 5).

## DISCUSSION

The model that we present implies an epigenetic mechanism that could be generic for epidermal color patterning in different vertebrate lineages. Our model considers tension forces derived from the cell and tissue interactions, and can be specified by means of a simple formalism inspired by a physical model of liquid drop formation (Box 1). Such a simple model is sufficient to account for the observed color patterns in animals such as snakes, and makes specific predictions that can be experimentally tested. For example, if the mesenchymal fibers were experimentally modified in a way such that the tension field was altered (for instance, by exerting an external force on the tissue), we would expect a deformation of the pigment patterns in the direction of the force being applied. Or if the geometry of the surface could be systematically modified in size or shape, we could expect patterns to change from spots to rings or vice versa. Also, it has been reported that mutations affecting the formation of the cytoskeleton affect the nature and degree of contraction experienced by an extracellular matrix on which cells migrate (Grinnell and Petroll, 2010). Hence, our model predicts that in animals with such a kind of mutation, altered pigment patterns would be expected.

A future challenge is to couple such a generic physical model with a regulatory network model incorporating the genes, proteins, signals, etc., that are also involved in color patterning in different species of vertebrate animals. Such endeavor should be attainable in model systems in which the molecular basis of such morphogenetic processes has started to be characterized. Such is the case of the zebrafish, in which detailed experimental studies have uncovered some of the key genetic components underlying color patterning (see reviews in Rawls et al., 2001; Parichy, 2006; Kelsh et al., 2009).

The precise manner by which these genes and their associated proteins contribute, along with other molecular entities, to pigment patterning is still unclear. Yet some of these genes (e.g., *Wnt*, *Sox*, *Mit*, and *Kit* genes, see review in Rawls et al., 2001) seem to have functionally conserved orthologues in other lineages of fishes and vertebrate, in which they also appear to play a role in skin patterning, or in feather and follicle patterning in chicks and mice, respectively (Kelsh et al., 2009). This suggests that the epidermal patterning molecular mechanism is largely conserved and that, therefore, these genes could be enabling the generic mechanism we put forward. Interestingly, some comparative analyses of the overall patterning mechanisms are starting to become available (Cadigan and Nusse, '97; Quigley et al., 2005; Parichy, 2006; Kelsh et al., 2009).

From a modeling point of view, studies based on the pioneering work of Turing ('52) and his RD model have also been developed for pigment patterning. The RD model describes the concentration in time and space of chemicals (morphogenes) that diffuse and react at different rates and that, by so doing, give rise to nontrivial patterns of morphogene concentration, such as

spaced-out dots, parallel bands, labyrinths, and spirals. Kondo (2009, see also Yamaguchi et al., 2007) has postulated that a particular type of RD system, one given by the combination of local activation and long-range inhibition, could underlie the *de novo* formation of pigment patterns in animals. This particular kind of RD system, also known as the activator-inhibitor (AI) system (Gierer and Meinhardt, '72) consists of a couple of morphogenes: the activator that self-activates in a nonlinear manner, and the inhibitor, which is upregulated by the activator and has a long-range inhibitory effect on the activator. In agreement with empirical evidence, this model is able to account for patterns that may be regenerated and that are robust in the face of transient perturbations (Kondo, 2009).

Turing's model was especially powerful because it could integrate the epigenetic framework of Waddington, which has become central for the Biology of epigenesis today, by suggesting that Waddington's evocators could indeed be morphogenes (Waddington '40; Turing, '52). Our model is compatible with RD models, but we specifically propose that long- and short-range interactions could be the result of tension patterns and cell-cell affinities instead of morphogene action, integrating some of the mechanical forces that seem to play a relevant role in morphogenesis and pattern formation (Ingber, 2004; Hamant et al., 2008; Schötz et al., 2008). In this way, our model considers epigenetic aspects of development within a broad framework that does not exclude Turing's proposal. In the same direction, Oster and coworkers ('88) have stated that the mechanochemical model they postulated could in a way be conceptualized as an RD system. Also Kondo and Miura (2010) have pointed out that Turing's patterning systems could be taken as a model mechanism for generic processes in which inhibition and activation among patterning elements take place, even if these interactions are not mediated by diffusion or chemical reactions, as originally proposed by Turing. In such a case, sets of molecules, mechanical forces, or other factors exerting long-range inhibition or short-range activation could be conceptualized as morphogenes.

Nakamasu and collaborators (2009, also see review in Kondo and Miura, 2010) performed a series of experiments in zebrafish embryos and showed that the regeneration and survival of pigment cells (xantophores and melanophores) can be affected by cells in neighboring pigment stripes, be it by short- or long-range interactions. As discussed by Nakamasu et al. (2009), this mutual regulation of cell regeneration and survival could in principle suffice for the generation of Turing patterns. The precise mechanisms underlying the cellular interactions between these two types of chromatophores are, however, not yet understood. It is noteworthy that besides cell death and regeneration, migration is a key process during pigment pattern formation in zebrafish embryos (review in Rawls et al., 2001). Moreover, specification of neural crest cell fate in zebrafish usually occurs prior to migration (Raible and Eisen, '94), and presumptive

melanocyte precursors often express melanin before completing migration (Raible et al., '92). Therefore, at least in some stages of pigment pattern formation, patterning seems to depend on the regulated migration of the already differentiated pigment cells, in addition to the regulation of their regeneration and survival. We postulate that mechanical forces due to the deformation of the mesenchymal tissue on which cells migrate could give rise to preferential directions of cell migration and establishment. One possible scenario is that both mechanisms, the Turing-like mechanism proposed by Nakamasu and coworkers (2009) and that depending on mechanical forces could redundantly act during pattern formation. Coexistence of redundant mechanisms has indeed been postulated for other patterning systems (e.g., Benítez and Alvarez-Buylla, 2010).

A fundamental problem in morphogenesis is how the size of organs and anatomical structures is controlled during animal development. Yet local cell-cell interactions and unbounded morphogene diffusion are not sufficient to explain this type of controls and, moreover, morphogenes that could account for size control have remained elusive. The mechanism we put forward gives rise to long-range forces that are bounded by the size of the potential itself ( $V$  in Box 1). The fact that these forces are bounded or have a delimited range of action is evidenced by the periodicity of patterns in the bodies of snakes (Fig. 5); the end of one pattern period and the beginning of another indicates the characteristic length of the long-range forces. Thus, we hypothesize that the mechanism that we postulate could be relevant to further understand not only pigment patterning but also other key developmental processes.

Models of development like the one presented here may be instrumental to test current hypotheses in *evo-devo*. For instance, the dynamical patterning modules put forward by Newman and Bhat (2009) are suggested as constituting a set of mechanisms that appeared early in animal evolution and involve a small set of genes associated with physical processes (e.g., cohesion, viscoelasticity, diffusion, AI interaction, and multistable and oscillatory dynamics). Newman and Bhat (2009) postulate that these are key for the origin of all existing animal forms and that the relatively stable developmental trajectories of modern organisms are the product of genetic canalization (*sensu* Waddington, '57).

Based on our model, we postulate that alterations in the body shape and tension patterns underlie the different pigment-cell arrangements, independently of the genetic traits that do not alter the parameters of the proposed model. In other words, we are postulating that the interactions among cells and viscoelastic tissues could constitute a dynamic patterning module (*sensu* Newman and Bhat, 2009), such that with few "enabling" genes, a wide catalog of patterns may arise. As Harris and collaborators state "It would be unlike evolution not to make use of these fields to guide morphogenesis" (Harris et al., '80). This study resonates with other recent studies pointing to the importance of mechanical forces in other developmental processes (Peyton

et al., 2007; Hamant et al., 2008; Schötz et al., 2008; Mammoto and Ingber 2010).

The study of the dynamics of patterning modules operating during development, such as those associated with the emergence of epidermal color patterns, may offer hypotheses regarding the parameters, elements, or interactions that are key to phenotypic conservation and transformation. Indeed, these models allow hypotheses to be tested and provide predictions that are otherwise difficult to derive. Further *in silico* experiments could also include systematic simulations that point at precise parameter values and conditions in which different patterns are expected to arise. Such analyses could also be instrumental in order to test whether changes in domain size and geometry may account for pattern variation among lineages.

One conclusion that emerges from the analysis of color patterns presented here is that there is not an infinite set of possible pigment patterns. Researchers have recently focused on the importance of this type of structural and dynamic restrictions. Our model offers an instance in which these restrictions are determined by an epigenetic system based on physical mechanisms and enabled by a relatively small set of genetic elements. This allows us to hypothesize that, as in pigment patterning, only a small number of genes may have been involved in the origin of morphogenetic processes, and that therefore it is necessary to look for a much wider range of possible epigenetic mechanisms in order to fully understand the origin and evolution of developmental processes. Our proposed model can be considered a contribution in this direction.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Bob Hodge and Gabriela Coronado for fruitful discussions and for their comments on previous versions of this article. Many thanks to Jeff LeClare for kindly providing the snake images.

The Financial support for M. Benítez was provided by C3, by means of the “Red de CONACyT Complejidad, Ciencia y Sociedad” and by the Czech Ministry of Education, Youth and Sports; Grant number: LC06034; Grant sponsor: CONACyT.

## LITERATURE CITED

- Acloque H, Adams MS, Fishwick K, Bronner-Fraser M, Nieto MA. 2009. Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease. *J Clin Invest* 119:1438–1449.
- Adams CL, Yih-Tai Chen, Smith SJ, Nelson WJ. 1998. Mechanisms of epithelial cell–cell adhesion and cell compaction revealed by high-resolution tracking of e-cadherin–green fluorescent protein. *J Cell Biol* 142:1105–1119.
- Alibardi L. 2011. Cytology and localization of chromatophores in the skin of the Tuatara (*Sphenodon punctatus*). *Acta Zoologica (Stockholm)* 318:1–8.
- Armstrong NJ, Painter KJ, Sherratt JA. 2006. A continuum approach to modelling cell–cell adhesion. *J Theor Biol* 243:98–113.
- Belousov LV, Dorfman YG, Cherdantsev VG. 1975. Rapid changes in shape and cell architecture of isolated fragments of amphibian embryonic tissues as an experimental model of morphogenesis. *Sov J Dev Biol* 5:286–293.
- Belousov LV. 1979. Experiments on changing tensile fields of the axial rudiments in amphibian embryos. *Ontogenez (Sov J Dev Biol)* 10:120–129.
- Belousov LV. 1980. The role of tensile fields and contact cell polarization in the morphogenesis of amphibian axial rudiments. *Dev Genes Evol* 188:1–7.
- Benítez M, Alvarez-Buylla ER. 2010. Dynamic-module redundancy confers robustness to the gene regulatory network involved in hair patterning of *Arabidopsis* epidermis. *Biosystems* 102:11–15.
- Beysens DA, Forgacs G, Glazier JA. 2000. Cell sorting is analogous to phase ordering in fluids. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:9467–9471.
- Bhatia SN, Balis UJ, Yarmush ML, Toner M. 1999. Effect of cell–cell interactions in preservation of cellular phenotype: cocultivation of hepatocytes and nonparenchymal cells. *FASEB J* 13:1883–1900.
- Burton K, Taylor DL. 1997. Traction forces of cytokinesis measured with optically modified elastic substrata. *Nature* 385:450–454.
- Buxboim A, Ivanovska IL, Discher DE. 2010. Matrix elasticity, cytoskeletal forces and physics of the nucleus: how deeply do cells ‘feel’ outside and in?. *J Cell Sci* 123:297–308.
- Cadigan KM, Nusse R. 1997. Wnt signaling: a common theme in animal development. *Genes Dev* 11:3286–3305.
- Cañadas P, Laurent VM, Oddou C, Isabey D, Wendling S. 2002. A cellular tensegrity model to analyse the structural viscoelasticity of the cytoskeleton. *J Theor Biol* 218:155–173.
- Cocho G, Perez-Pascual R, Rius JL, Soto F. 1987a. Discrete systems, cell–cell interactions and color pattern of animals. I. Conflicting dynamics and pattern formation. *J Theor Biol* 125:419–435.
- Cocho G, Perez-Pascual R, Rius JL, Soto F. 1987b. Discrete systems, cell–cell interactions and color pattern of animals. II. Clonal theory and cellular automata. *J Theor Biol* 125:437–447.
- Davis GE, Camarillo CW. 1995. Regulation of endothelial cell morphogenesis by integrins, mechanical forces, and matrix guidance pathways. *Exp Cell Res* 216:113–23.
- De Gennes, P-G, Brochard-Wyart F, Quere D. 2010. Capillarity and wetting phenomena: drops, bubbles, pearls, waves. New York, USA: Springer.
- De Haan RL. 1964. Cell interaction and oriented movements during development. *J Exp Zool* 157:127–138.
- Deutsch A, Dormann S. 2005. Cellular automaton modeling of biological pattern formation characterization, applications. *Genetic Programming and Evolvable Machines* 8:105–106.
- Duguay D, Foty RA, Steinberg MS. 2003. Cadherin-mediated cell adhesion and tissue segregation: qualitative and quantitative determinants. *Dev Biol* 253:309–323.

- Dupin E, Le Douarin NM. 2003. Development of melanocyte precursors from the vertebrate neural crest. *Oncogene* 22:3016–3023.
- Di Leonardo R, Saglimbeni F, Ruocco G. 2008. Very-long-range nature of capillary interactions in liquid films. *Phys Rev Lett* 100:106–103.
- Edelman GM. 1988. *Topobiology. An introduction to molecular embryology*. New York, NY, USA: Basic Books, Inc.
- Elsdale T, Bard J. 1972. Collagen substrata for studies of cell behavior. *J Cell Biol* 54:626–637.
- Epperlein H-H, Löfberg J. 1990. The development of the larval pigment patterns in *Triturus alpestris* and *Ambystoma mexicanum*. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 118:1–99.
- Epperlein H-H, Löfberg J. 1996. What insights into the phenomena of cell fate determination and cell migration has the study of the urodele neural crest provided? *Int J Dev Biol* 40:695–707.
- Epperlein H-H, Löfberg J, Olsson L. 1996. Neural crest cell migration and pigment pattern formation in urodele amphibians. *Int J Dev Biol* 40:229–238.
- Gierer A, Meinhardt H. 1972. A theory of biological pattern formation. *Biol Cybern* 12:30–39.
- Goetz JG, Minguet S, Navarro-Lérida I, Lazcano JJ, Samaniego R, Calvo E, Tello M, Osteso-Ibáñez T, Pellinen T, Echarri A, Cerezo A, Klein-Szanto AJ, Garcia R, Keely PJ, Sánchez-Mateos P, Cukierman E, Del Pozo MA. 2011. Biomechanical remodeling of the microenvironment by stromal caveolin-1 favors tumor invasion and metastasis. *Cell* 146:148–163.
- Grainger RM, Wessells NK. 1974. Does RNA pass from mesenchyme to epithelium during an embryonic tissue interaction?. *Proc Natl Acad Sci USA* 71:4747–4751.
- Grinnell F, Petroll WM. 2010. Cell motility and mechanics in three-dimensional collagen matrices. *Annu Rev Cell Dev Biol* 26:335–361.
- Hakkinen KM, Harunaga JS, Doyle AD, Yamada KM. 2010. Direct comparisons of the morphology, migration, cell adhesions, and actin cytoskeleton of fibroblasts in four different three-dimensional extracellular matrices. *Tissue Eng (Pt A)* 17:713–724.
- Hamant O, Heisler MG, Jönsson H, Krupinski P, Uyttewaal M, Bokov P, Corson F, Sahlin P, Boudaoud A, Meyerowitz EM, Couder Y, Trass J. 2008. Developmental patterning by mechanical signals in *Arabidopsis*. *Science* 322:1650–1655.
- Harris AK, Wild P, Stopak D. 1980. Silicone rubber substrata: A new wrinkle in the study of cell locomotion. *Science* 208:177–179.
- Harris AK. 1980. A new wrinkle in the study of locomotion. *Science* 208:177–179.
- Harris AK, Stopak D, Wild P. 1981. Fibroblast traction as a mechanism for collagen morphogenesis. *Nature* 290:249–251.
- Harris AK, Warner P, Stopak D. 1984. Generation of spatially periodic patterns by a mechanical instability: a mechanical alternative to the Turing model. *J Embryol Exp Morph* 80:1–20.
- Harris TJ, Tepass U. 2010. Adherens junctions: from molecules to morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11:502–514.
- Hay ED. 1981. Extracellular matrix. *J Cell Biol* 91:205s–223s.
- Henderson DJ, Copp AJ. 1997. Role of the extracellular matrix in neural crest cell migration. *J Anat* 191:507–515.
- Ingber DE. 2000. The origin of cellular life. *BioEssays* 22:1160–1170.
- Ingber DE. 2004. The mechanochemical basis of cell and tissue regulation. *Mech Chem Biosyst* 1:53–68.
- Ingber DE. 2006. Cellular mechanotransduction: putting all the pieces together again. *FASEB J* 20:811–827.
- Ingber DE. 2010. From cellular mechanotransduction to biologically inspired engineering. *Ann Biomed Eng* 38:1148–1161.
- Janmey PA, Euteneuer U, Traub P, Shliwa M. 1991. Viscoelastic properties of vimentin compared with other filamentous biopolymer networks. *J Cell Biol* 113:155–160.
- Katz MJ, Lasek RJ. 1980. Invited review: guidance cue patterns and cell migration in multicellular organisms. *Cell Motil* 1:141–157.
- Kelsh RN, Harris ML, Colanesi S, Carol AE. 2009. Stripes and belly-spots. A review of pigment cell morphogenesis in vertebrates. *Semin Cell Dev Biol* 20:90–104.
- Kondo S. 2009. How animals get their skin patterns: fish pigment pattern as a live Turing wave. *Syst Biol* 1:37–46.
- Kondo S, Miura, T. 2010. Reaction-diffusion model as a framework for understanding biological pattern formation. *Science* 329:1616–1620.
- Lee J, Leonard M, Oliver T, Ishihara A, Jacobson, K. 1994. Traction forces generated by locomoting keratocytes. *J Cell Biol* 127:1957–1964.
- Maderspacher F, Nüsslein-Volhard C. 2003. Formation of the adult pigment pattern in zebrafish requires leopard and obelix dependent cell interactions. *Development* 130:3447–3457.
- Mammoto T, Ingber DE. 2010. Mechanical control of tissue and organ development. *Development* 137:1407–1420.
- Maskarinec SA, Franck C, Tirrell DA, Ravichandran, G. 2009. Quantifying cellular traction forces in three dimensions. *Proc Natl Acad Sci* 106:22108–22113.
- Moreira J, Deutch A. 2005. Pigment pattern formation in zebrafish during late larval stages: a model based on local interactions. *Dev Dynam* 232:33–42.
- Murray JD, Maini PK, Tranquillo RT. 1988. Mechanochemical models for generating biological pattern and form in development. *Phys Reports* 171:59–84.
- Murray JD, Oster GF. 1984b. Cell traction models for generating pattern and form in morphogenesis. *J Math Biol* 19:265–279.
- Murray JD, Oster GF, Harris AK. 1983. A mechanical model for mesenchymal morphogenesis. *J Math Biol* 17:125–129.
- Nakagawa S, Takeichi M. 1998. Neural crest emigration from the neural tube depends on regulated cadherin expression. *Development* 125:2963–2971.
- Nakamasu A, Takahashi G, Kanbe A, Kondo S. 2009. Interactions between zebrafish pigment cells responsible for the generation of Turing patterns. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:8429–8434.
- Newman SA, Müller GB. 2000. Epigenetic mechanisms of character origination. *J Exp Zool* 288:304–317.
- Newman SA, Forgacs G, Muller GB. 2006. Before programs: the physical origination of multicellular forms. *Int J Dev Biol* 50:289–299.

- Newman SA, Bhat RD. 2009. Dynamical patterning modules: a "pattern language" for development and evolution of multicellular form. *Int J Dev Biol* 53:693–705.
- Odell GM, Oster G, Alberch P, Burnside B. 1981. The mechanical basis of morphogenesis. I Epithelial folding and invagination. *Dev Biol* 85:446–462.
- O'Hara, PT, Buck RC. 1979. Contact guidance in vitro. A light, transmission, and scanning microscopic study. *Exp Cell Res* 121:235–249.
- Oliver T, Lee J, Jacobson K. 1994. Forces exerted by locomoting cells. *Semin Cell Biol* 5:139–147.
- Oliver T, Jacobson K, Dembo M. 1995. Traction forces in locomoting cells. *Cell Motil Cytoskeleton* 31:225–240.
- Oster GF. 1984. On the crawling of cells. *J Embryol Exp Morph* 83:329–364.
- Oster GF, Murray JD, Harris AK. 1983. Mechanical aspects of mesenchymal morphogenesis. *J Embryol Exp Morph* 78:83–125.
- Oster GF, Murray JD, Maini PK. 1985. A model for chondrogenic condensations in the developing limb: the role of extracellular matrix and cell tractions. *J Embryol Exp Morphol* 89:93–jhs21528-tbl-0001112.
- Oster GF, Shubin N, Murray JD, Alberch P. 1988. Evolution and morphogenetic rules. The shape of the vertebrate limb in ontogeny and phylogeny. *Evolution* 42:862–884.
- Overton J. 1979. Differential response of embryonic cells to culture on tissue matrices. *Tissue Cell* 11:89–98.
- Painter KJ. 2009. Continuous models for cell migration in tissues and applications to cell sorting via differential chemotaxis. *Bull Math Biol* 71:1117–1147.
- Pan W, Petersen E, Cai N, Ma G, Run Lee J, Feng Z, Liao K, Leong K. 2005. Viscoelastic properties of human mesenchymal stem cells. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 5:4854–4857.
- Parichy DM. 1996. Pigment patterns of larval salamanders (Amphystomatidae, Salamandridae): the role of the lateral line sensory system and the evolution of pattern-forming mechanisms. *Dev Biol* 175:256–282.
- Parichy DM. 2006. Evolution of danio pigment pattern development. *Heredity* 97:200–210.
- Peyton RS, Ghajar CM, Khatiwala CB, Putnam AJ. 2007. The emergence of ECM mechanics and cytoskeletal tension as important regulators of cell function. *Cell Biochem Biophys* 47:300–320.
- Quigley IK, Manuel JL, Roberts RA, Nuckels RJ, Herrington ER, MacDonald EL, Parichy DM. 2005. Evolutionary diversification of pigment pattern in Danio fishes: differential fms dependence and stripe loss in *D. albolineatus*. *Development* 132:89–104.
- Raible DW, Eisen JS. 1994. Restriction of neural crest cell fate in the trunk of the embryonic zebrafish. *Development* 120:495–503.
- Raible DW, Wood A, Hodsdon W, Henion PD, Weston JA, Eisen JS. 1992. Segregation and early dispersal of neural crest cells in the embryonic zebrafish. *Dev Dyn* 195:29–42.
- Rawls JF, Mellgren EM, Johnson SL. 2001. How the zebrafish gets its stripes. *Dev Biol* 240:301–314.
- Schmidt C, Patel K. 2005. Wnts and the neural crest. *Anat Embryol* 209:349–355.
- Schöck F, Perrimon N. 2002. Molecular mechanisms of epithelial morphogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 18:463–493.
- Schötz EM, Burdine RD, Jülicher F, Steinberg MS, Heisenberg CP, Foty RA. 2008. Quantitative differences in tissue surface tension influence zebrafish germ layer positioning. *HFSP J* 2:42–45.
- Seul M, Andelman D. 1995. Domain shapes and patterns: the phenomenology of modulated phases. *Science* 267:476–483.
- Steinberg MS. 2007. Differential adhesion in morphogenesis: a modern view. *Curr Opin Genet Dev* 17:281–286.
- Streuli CH, Bailey N, Bissell MJ. 1991. Control of mammary epithelial differentiation: basement membrane induces tissue-specific gene expression in the absence of cell-cell interaction and morphological polarity. *J Cell Biol* 115:1383–1395.
- Takeichi M. 1988. The cadherins: cell-cell adhesion molecules controlling animal morphogenesis. *Development* 102:639–655.
- Thiery JP. 2003a. Cell adhesion in development: a complex signaling network. *Curr Opin Genet Dev* 13:365–371.
- Thiery JP. 2003b. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies. *Curr Opin Cell Biol* 15:740–746.
- Turing AM. 1952. The chemical basis of morphogenesis. *Philos Trans R Soc Lond B Bio Sci* 237:37–72.
- Van Speybroeck L, De Waele D, Van de Vijver G. 2002. Theories in early embryology. Close connections between epigenesis, preformationism, and self-organization. *Ann NY Acad Sci* 981:7–49.
- Waddington CH. 1940. Organisers and genes. Genes as evocators in development. Cambridge: Cambridge Univ. Press.
- Waddington CH. 1957. The strategy of the genes: a discussion of some aspects of theoretical biology. London: Allen & Unwin.
- Waddington CH. 1962. New patterns in genetics and development. New York and London, USA: Columbia University Press.
- Weiss P. 1959. Cellular dynamics. *Rev Mod Phys* 31:11–20.
- Yamada S, Pokutta S, Drees F, Weis WI, Nelson WJ. 2005. Deconstructing the cadherin-catenin-actin complex. *Cell* 123:889–901.
- Yamaguchi M, Yoshimoto E, Kondo S. 2007. Pattern regulation in the stripe of zebrafish suggests an underlying dynamic and autonomous mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:4790–4793.
- Yu Y, Xu T, Yu Y, Hao P, Li X. 2010. Association of tissue lineage and gene expression: conservatively and differentially expressed genes define common and special functions of tissues. *BMC Bioinformatics* 11(Suppl11):S1–S11.



# La búsqueda del comienzo

El pensamiento complejo en biología

LORENA CABALLERO



# Emergencia de las Formas Vivas

Aspectos Dinámicos de la Biología  
Evolutiva y del Desarrollo

Lorena Caballero



Copit arXives