

Formación de patrones en el desarrollo embrionario

Saúl Ares^I, Luis G. Morelli^{II}, Koichiro Uriu^{III} y Andrew C. Oates^{IV}

Métodos teóricos derivados de la Física están permitiendo entender mejor cómo se forman los embriones. En este artículo discutimos estudios recientes que combinan mediciones precisas en embriones con métodos teóricos y computacionales para investigar estrategias clásicas en la formación de patrones durante el desarrollo embrionario. Discutimos gradientes de señalización, sistemas activador-inhibidor, y osciladores acoplados, junto a paradigmas emergentes como la deformación de tejidos. Progresos paralelos en teoría y experimentos jugarán un papel cada vez más central para entender la formación de patrones durante el desarrollo.

Theoretical approaches derived from physics are breaking new ground in understanding how embryos form. Here we discuss recent studies that couple precise measurements in the embryo with appropriately matched modeling and computational methods to investigate classic embryonic patterning strategies. We include signaling gradients, activator-inhibitor systems, and coupled oscillators, as well as emerging paradigms such as tissue deformation. Parallel progress in theory and experiment will play an increasingly central role in deciphering developmental patterning.

Los patrones que se pueden observar en animales y plantas maravillan por igual a investigadores y legos. Pero ¿cómo aparecen en los embriones en desarrollo esos hermosos patrones dinámicos? Utilizados de forma adecuada, métodos teóricos habituales en el campo de la Física pueden ayudar a entender los procesos de desarrollo [1-5]. Hay un arte considerable en ello, y la clave del éxito se halla en el diálogo abierto entre el investigador experimental y el teórico. El primer paso de este diálogo es formular una descripción teórica del proceso de interés que capture las propiedades e interacciones de las variables más relevantes del sistema a un nivel de detalle que sea a la vez útil y tratable. Una vez formulada, el segundo paso es analizar el modelo teórico. Si el modelo es lo suficientemente tratable, es posible que se pueda entender su comportamiento haciendo un análisis de “lápiz y papel”, y comparar la solución analítica obtenida directamente con datos experimentales. Sin embargo, muy a menudo, el número de variables y la complejidad de las interacciones impiden este tipo de análisis, y para poder entender los modelos y compararlos con datos es preciso resolver o simular los modelos usando ordenadores. Este enfoque combinado se ha vuelto popular recientemente gracias a la disponibilidad de ordenadores potentes y algoritmos numéricos cada vez más sofisticados.

En este artículo, siguiendo con bastante fidelidad un trabajo anterior [6], presentamos una serie de problemas de la Biología del Desarrollo que han atraído el interés de físicos, matemáticos y científicos computacionales (figura 1). A la vez queremos hacer un repaso de algunas de las potentes herramientas que se utilizan para abordar estos problemas. Nos centramos en estudios recientes que investigan cuatro

estrategias de formación de patrones durante el desarrollo: (i) Gradientes de moléculas señalizadoras, liberadas en células bien localizadas, que guían la formación global de patrones en poblaciones enteras de células [figura 1(a)]. Este control externo del proceso de formación de patrones contrasta con estrategias autoorganizadas que hacen uso de interacciones locales entre las células de una población, como por ejemplo (ii) mecanismos de activación-inhibición [figura 1(b)] y (iii) sincronización de oscilaciones celulares [figura 1(c)]. Deformaciones mecánicas (iv) también pueden transformar el patrón de una población de células [figura 1(d)]. Nos gustaría resaltar que, al igual que en cualquier área de la ciencia, el uso de modelos a menudo es útil para explicar y predecir fenómenos en el desarrollo embrionario, pero eventualmente el destino de cualquier modelo es que se demuestre erróneo y sea reemplazado por nuevos modelos. Tal vez el rol más importante que están teniendo en este momento los métodos teóricos en la Biología del Desarrollo sea forzar a que se formulen hipótesis de forma precisa y se estimulen experimentos cuantitativos para comprobarlas.

1. Formación de patrones a partir de gradientes de señalización

Los morfógenos son moléculas señalizadoras que pueden activar ciertos genes, los genes diana de la señal, de una forma proporcional a la concentración del morfógeno. Durante el desarrollo embrionario se establecen gradientes de morfógenos en tejidos, difundiéndose a partir de fuentes localizadas [figura 1(a)]. Se ha propuesto que las células pueden leer los niveles de morfógeno para determinar su posición dentro de un tejido y decidir en qué tipo de célula diferenciarse a partir de esta información [7], y existe evidencia de que gradientes de morfógenos pueden dirigir la diferenciación celular en células diana. Cómo se forman estos gradientes y si son suficientes para controlar la diferenciación en dominios muy precisos son cuestiones abiertas que se han beneficiado del uso de enfoques teóricos y computacionales.

Un sistema importante para el estudio de estas cuestiones es el embrión de la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) en sus primeras etapas de desarrollo, en parte

^I Logic of Genomic Systems Laboratory, Centro Nacional de Biotecnología-CSIC y Grupo Interdisciplinar de Sistemas Complejos (GISC), C/ Darwin 3, 28049 Madrid.

^{II} Departamento de Física, FCEyN. Universidad de Buenos Aires, Pabellón 1, Ciudad Universitaria, 1428 Buenos Aires (Argentina).

^{III} Theoretical Biology Laboratory, RIKEN Advanced Science Institute, 2-1 Hirosawa, Wako, Saitama 351-0198 (Japón).

^{IV} Max Planck Institute of Molecular Cell Biology and Genetics, Pfotenhauesu 108, 0137 Dresden (Alemania).

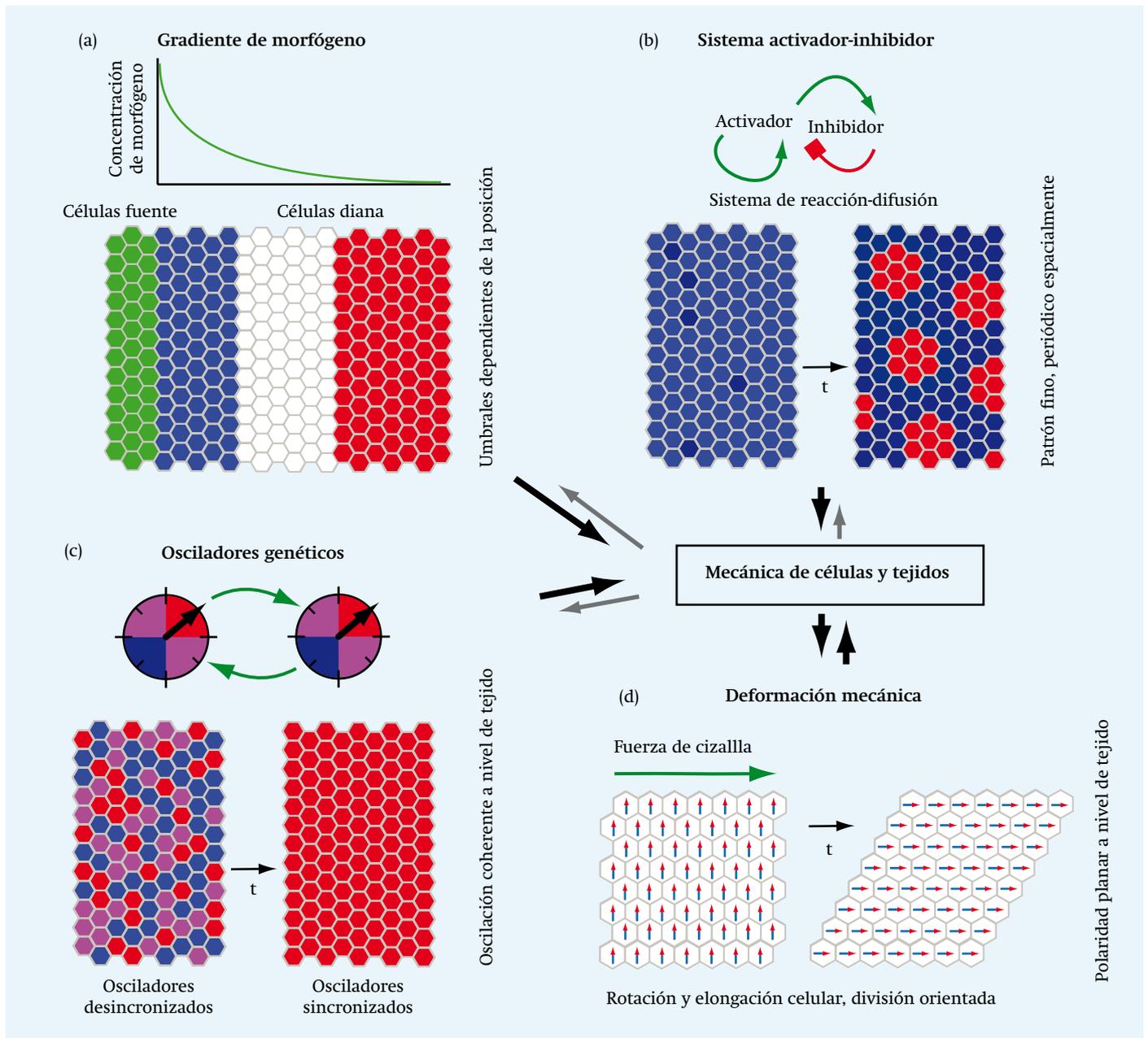


Fig. 1. Estrategias de formación de patrones. (a) Gradientes de señalización proporcionan información sobre la posición global. El eje horizontal representa la posición en el tejido. Células productoras del morfógeno en verde; las células en el tejido adquieren identidades (azul, blanco y rojo) en función de la concentración local de morfógeno. (b) Sistemas activador-inhibidor incorporan realimentaciones locales positivas y negativas para generar patrones. Tipos celulares distintos en rojo y azul. (c) La sincronización de osciladores genéticos permite a un tejido generar ritmos temporales coherentes que pueden dar lugar a la formación de un patrón. La fase del ciclo de oscilación de cada célula en el panel, variable en el tiempo, está representada por un color. (d) La deformación de tejidos puede dar lugar a formación de patrones. Recibiendo información del patrón, las propiedades físicas y dinámicas de los tejidos dirigen la morfogénesis del embrión. *t* representa el tiempo.

porque su geometría y simetría simplifican su descripción y cuantificación [figura 2(a)]. En el huevo de la mosca, que tiene forma elipsoidal, hay señales presentes por herencia materna que rompen la simetría a lo largo del eje longitudinal. Una de ellas es el ARN mensajero (ARNm) del gen *Bicoid*, que inicialmente está presente sólo en el polo anterior. El ARNm se traduce en proteína, que es transportada [8] y en el intervalo de una hora crea un gradiente exponencial de concentración sobre varios cientos de micrómetros a lo largo del eje del embrión. Este gradiente dirige la formación de dominios precisos de cuatro genes, entre ellos *Hunchback*, que establecen los primeros segmentos en el futuro cuerpo de la mosca [figura 2(a)]. Debido a la naturaleza estocástica de la expresión genética, es de esperar que

la concentración de morfógeno fluctúe tanto en el tiempo como de un embrión a otro. Aún así, los bordes de los segmentos resultantes son asombrosamente precisos, lo que desconcierta tanto a teóricos como a experimentales. Tanto unos como otros han abordado la cuestión de si el gradiente de *Bicoid* por sí mismo es suficiente para conseguir esta precisión o si se requiere la participación de otros mecanismos.

Contribuyendo a este debate, artículos recientes de Manu y colaboradores [9, 10] han formulado las interacciones entre los genes diana de los gradientes maternos en el embrión usando un modelo basado en redes de regulación genética en el que cada variable representa la cantidad de moléculas de un tipo determinado [figura 2(b)]. Una de las

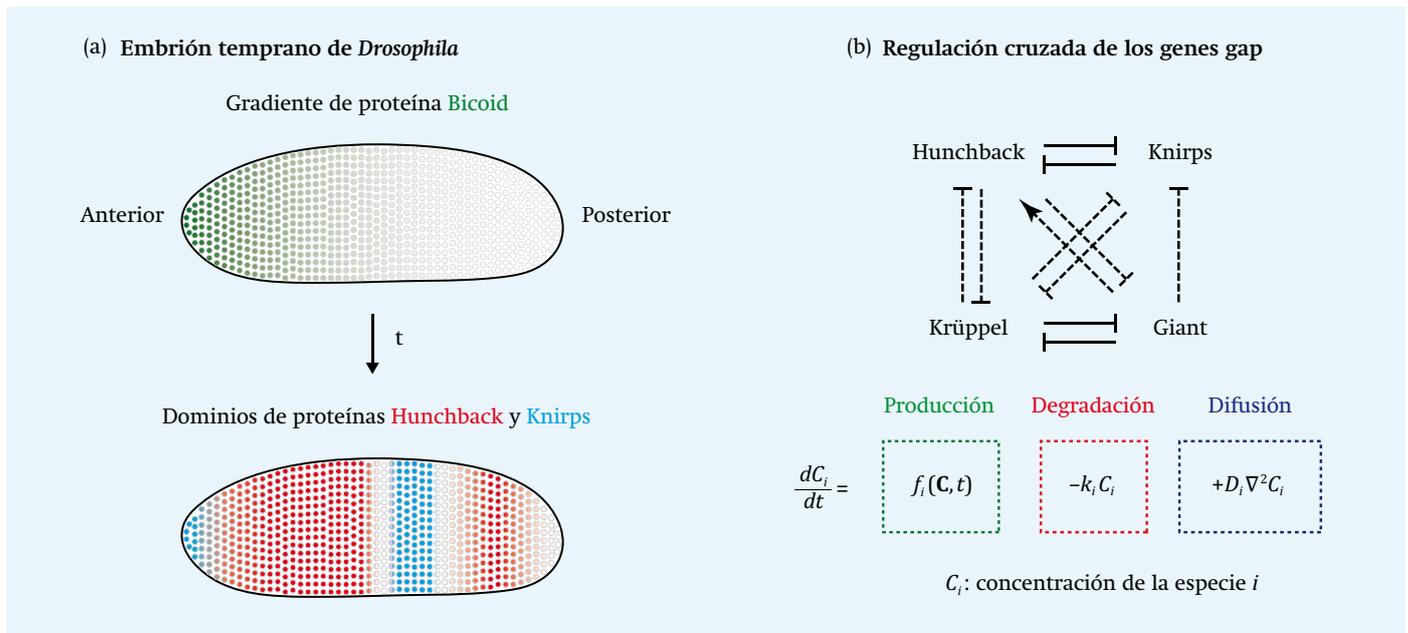


Fig. 2. Formación de patrones a partir de gradientes de señalización. (a) Esquema del embrión de la mosca de la fruta mostrando el gradiente materno de proteína *Bicoid*, que dirige la formación de dominios precisos de genes diana como *Hunchback* y *Knirps*. (b) Red regulatoria propuesta para la regulación cruzada de los genes diana de *Bicoid* [10]. Además de la señal de *Bicoid*, estos genes reciben también la influencia de otros genes, no mostrados en la figura.

limitaciones de los modelos basados en redes regulatorias es el gran esfuerzo experimental que a menudo es necesario para estimar los valores de los parámetros relevantes. Para el modelo de segmentación en *Drosophila* de Manu, los parámetros se estimaron computacionalmente buscando en el espacio de parámetros combinaciones que reprodujesen lo más fielmente posible las series temporales de distribuciones espaciales de expresión genética observadas experimentalmente. El modelo apunta a que la regulación cruzada entre los genes diana reduce la variabilidad en la posición de sus dominios de expresión.

Un problema para entender los comportamientos resultantes de este tipo de modelos es que, variando sus parámetros, en general el comportamiento del sistema puede variar drásticamente. Matemáticamente, el origen de estos cambios de comportamiento son bifurcaciones. Usando herramientas de la teoría de sistemas dinámicos [11], Manu y colaboradores [10] realizaron un análisis de bifurcaciones del modelo para identificar los comportamientos fundamentales que el sistema puede mostrar bajo valores realistas de los parámetros. El modelo predice que las células en la parte anterior del embrión seleccionan un punto fijo de la dinámica, en el que las concentraciones de los genes diana varían en función del nivel de *Bicoid*. En la parte posterior del embrión, el sistema nunca llega a alcanzar un estado estacionario porque su evolución es interrumpida por la gastrulación, el proceso del desarrollo embrionario en el que el embrión pasa a formar distintas capas de células de las que acabarán surgiendo diferentes tejidos. Este tipo de modelos en los que se describen de una forma compacta comportamientos simples de redes regulatorias complejas son atractivos porque ayudan a establecer similitudes con otros sistemas regulatorios, y porque permiten hacer predicciones falsables acerca de los distintos comportamientos, que pueden ser comprobadas experimentalmente.

Fluctuaciones en los niveles de ARNm y proteína generan ruido molecular que limita la precisión de los gradientes

de señalización, y que también degrada la precisión en la expresión de los genes diana. Este problema se puede formular de forma rigurosa usando los métodos y conceptos de la teoría de la información, nacida en el campo de la ingeniería para cuantificar el flujo de información a través de canales de comunicación. Un concepto clave de esta teoría es la información mutua entre dos variables, como pueden ser en el problema biológico que nos ocupa los niveles de *Bicoid* y *Hunchback*. Tkačik y Walczak usaron medidas previamente publicadas de los niveles de morfógenos [12] para, a través de un elegante cálculo, estimar la información mutua entre *Bicoid* y *Hunchback* [13]. A partir de su resultado, pudieron argumentar que si resultados similares fueran ciertos para los otros genes diana bajo el control de *Bicoid*, la información transmitida por los cuatro genes combinados sería suficiente para que cada núcleo pudiese determinar sin ambigüedad su posición a lo largo del embrión de *Drosophila*. Para comprobar esta hipótesis será necesario obtener datos muy precisos sobre la distribución espacial de la expresión de los otros genes del sistema. Así, la teoría de la información está emergiendo como una herramienta potencial para cuantificar la transmisión de información en redes de regulación genética del desarrollo embrionario. De momento, no está claro si el gradiente de *Bicoid* es lo suficientemente preciso para determinar de forma exacta los dominios de sus genes diana, o si por lo contrario otros mecanismos son necesarios, pero en cualquier caso la ideas y conceptos teóricos tiene un papel central que jugar en esta discusión.

2. Formación de patrones a partir de sistemas activador-inhibidor

Las células en un gradiente de morfógenos forman patrones guiadas por el nivel local de una señal originada en una fuente externa a ellas [figura 1(a)]. Sin embargo, patrones punteados o rayados pueden surgir espontáneamente a partir de interacciones enteramente locales. En 1952 Alan

Turing propuso un mecanismo de reacción-difusión para explicar la formación espontánea de patrones sin la necesidad de gradientes de señalización [14]. Específicamente, consideró dos especies químicas capaces de difundirse, que con el tiempo han venido a llamarse activador e inhibidor [15, 16] [figuras 1(b) y 3(a)]. Por medio de la auto-activación, el activador puede aumentar localmente su concentración [figura 3(a)]. La concentración alta de activador induce la producción del inhibidor, que suprime al activador en el área circundante debido a que es capaz de difundir más rápido [17]. Como resultado, picos locales de concentración del activador se autoorganizan a partir de un estado inicial casi homogéneo, promoviendo la formación espontánea de patrones espaciales, como por ejemplo franjas o lunares en un espacio bidimensional [éstos son los conocidos como patrones de Turing, figura 1(b)]. Una introducción breve, amena y en castellano a los patrones de Turing es la escrita por Ángel Sánchez [18], autor en este mismo número de la *Revista Española de Física* del artículo sobre economía en un mundo complejo.

Tras los trabajos fundacionales de Turing, Gierer y Meinhardt, se extendió la idea de que los sistemas de reacción-difusión juegan papeles importantes en la formación espontánea de patrones biológicos [15, 16]. Aunque se habían observado en el desarrollo embrionario estructuras espaciales muy similares a los patrones de Turing que aparecen en simulaciones, hasta recientemente la evidencia de que estuvieran producidas por el mecanismo de Turing eran muy escasas. De hecho, se ha probado que modelos de reac-

ción-difusión de la segmentación de la mosca, conceptualmente muy elegantes, resultaron ser totalmente erróneos [19]. Esta pifia puede haber llegado a generar suspicacia en algunos biólogos del desarrollo respecto a cualquier tipo de esfuerzo teórico en su campo. Sin embargo, la identificación de las reglas de interacción y los componentes moleculares de varios posibles sistemas de reacción-difusión [20, 21] sugiere la posibilidad de una largamente esperada verificación experimental de las ideas de Turing en sistemas biológicos en desarrollo.

La formación de patrones en la piel de los peces ha sido por mucho tiempo un candidato para usar el mecanismo de Turing [22]. Para identificar las reglas de interacción claves del sistema, Nakamasu y colaboradores estudiaron la formación de rayas en la piel del pez cebra [23]. Estas rayas negras y amarillas se autoorganizan a lo largo de tres semanas por medio de interacciones locales entre células con pigmentos negro y amarillo, que cumplen las condiciones para generar un patrón de Turing [figura 3(b)]. Para confirmar que las interacciones observadas experimentalmente entre estos pigmentos pueden dar lugar a un patrón a rayas, los autores usaron en un principio un modelo determinista de la dinámica celular basado en ecuaciones diferenciales en derivadas parciales. Sin embargo, debido a que la anchura de cada raya del pez cebra es solamente de alrededor de diez células, Nakamasu y colaboradores señalaron que los efectos estocásticos introducidos por el pequeño número de células podrían impedir la formación de un patrón estable. En una situación así, lo más conveniente sería un modelo

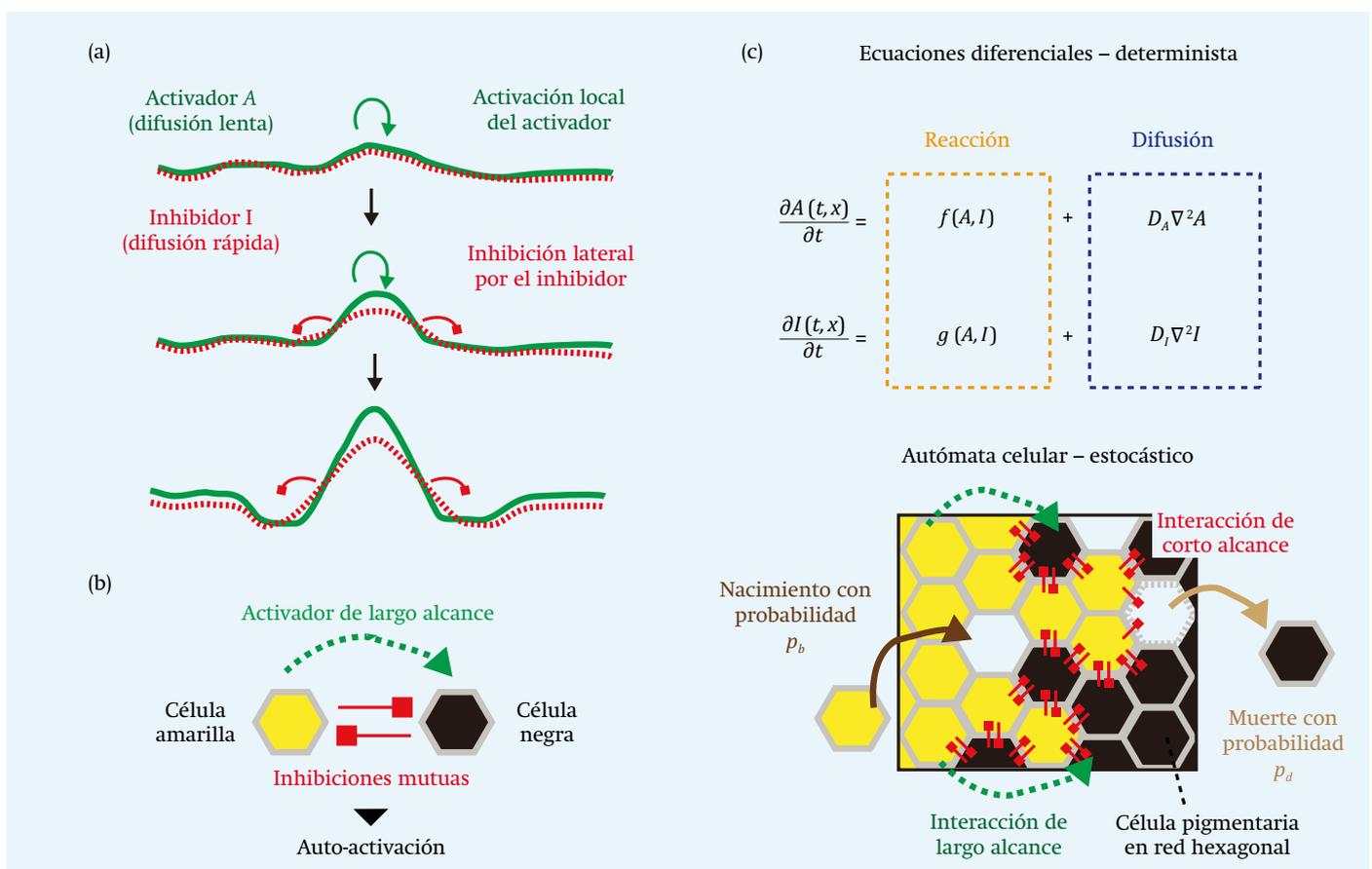


Fig. 3. Formación de patrones a partir de sistemas activador-inhibidor. (a) Activación local e inhibición lateral generan patrones espacialmente heterogéneos. (b) Interacciones entre un pigmento negro y uno amarillo producen patrones de Turing en la piel del pez cebra. La inhibición mutua entre ambos pigmentos funciona como autoactivación para las células amarillas. Éstas activan células negras distantes, mientras la inhibición de las células amarillas por las negras se produce por un proceso de inhibición lateral. (c) Diferentes tipos de modelos para estudiar la formación espontánea de patrones.

que incluyese explícitamente los comportamientos estocásticos de cada célula, tales como la división, el movimiento o la muerte celular. Los autores desarrollaron un modelo basado en autómatas celulares [figura 3(c)] incluyendo las interacciones entre células con pigmentos para estudiar la robustez de los patrones a rayas frente a efectos estocásticos. Aunque modelos con tanto nivel de detalle suelen incluir varios parámetros no medidos experimentalmente, simulaciones del modelo de autómatas celulares produjeron patrones similares a los obtenidos por el modelo determinista y observados en la piel del pez cebra. En el futuro, la combinación de estudios teóricos con investigaciones de los orígenes molecular y celular de las reglas de interacción a nivel de célula [24] debería ayudar a dilucidar si en efecto este problema se trata de un sistema de Turing.

Remarcablemente, estrategias de formación de patrones basadas en gradientes pueden ser formuladas como sistemas de reacción-difusión, ya que el origen de los gradientes puede ser la difusión de morfógenos y los patrones emergen debido a reacciones que involucran a estos morfógenos. Sin embargo, las diferentes longitudes de escala características de los sistemas activador-inhibidor, de naturaleza más local, pueden dar lugar a patrones cualitativamente diferentes de los formados a partir de gradientes. La posibilidad de describir estrategias basadas en gradientes usando modelos de reacción-difusión es un ejemplo de cómo estrategias muy diferentes de formación de patrones durante el desarrollo pueden describirse usando modelos de formulación similar.

3. Formación de patrones a partir de oscilaciones genéticas

Al mismo tiempo que está creciendo, el eje corporal de los embriones de vertebrados se subdivide rítmica y secuencialmente en segmentos. Estos segmentos, llamados somitas, son los precursores embrionarios de lo que será la columna vertebral, costillas y tejido muscular de la espalda. Por

ejemplo, en el embrión de pez cebra, estos segmentos multicelulares tienen una longitud aproximada de 50 micras y se forman con una periodicidad de 30 minutos. Inspirados por esta regularidad, Cooke y Zeeman propusieron en 1976 el modelo de reloj y frente de onda [25]. En este modelo, un reloj funciona en la parte posterior del embrión en crecimiento y la distancia avanzada por el frente de onda a lo largo del eje del embrión durante un periodo del reloj determina la longitud del segmento a punto de formarse. Más de veinte años después, el descubrimiento de oscilaciones genéticas en el embrión de pollo [26] puso de nuevo sobre la mesa este modelo. El reloj de segmentación aparece así como un generador rítmico de patrones a nivel de tejidos [27], en el que la población de células progenitoras de los segmentos se comportan como osciladores acoplados, autoorganizando un ritmo colectivo a través de su mutua sincronización [figura 1(c)].

Una pista sobre la existencia de esta población de células sincronizadas se obtuvo a partir de estudios en pez cebra de mutaciones que afectan a la ruta Delta-Notch de señalización intercelular. En estos mutantes las oscilaciones coherentes y la formación del patrón de segmentos se van perdiendo gradualmente a medida que el embrión se va desarrollando [28]. La hipótesis en boga es que ligandos Delta bajo el control de un oscilador propio de cada célula activan receptores Notch en la membrana de las células vecinas, y estos receptores coordinan la expresión de genes oscilantes en la célula receptora [figura 4(a)]. Sin señalización Delta-Notch, las oscilaciones en células individuales pierden gradualmente la sincronía con sus vecinas. La plausibilidad de esta hipótesis de sincronización se ha estudiado usando modelos de redes de regulación genética que muestran que el mecanismo Delta-Notch es capaz de mantener células vecinas oscilando en sincronía [29, 30].

Debido a la dificultad que ya hemos mencionado anteriormente para determinar el valor de los parámetros de redes de regulación genética a partir de medidas en em-

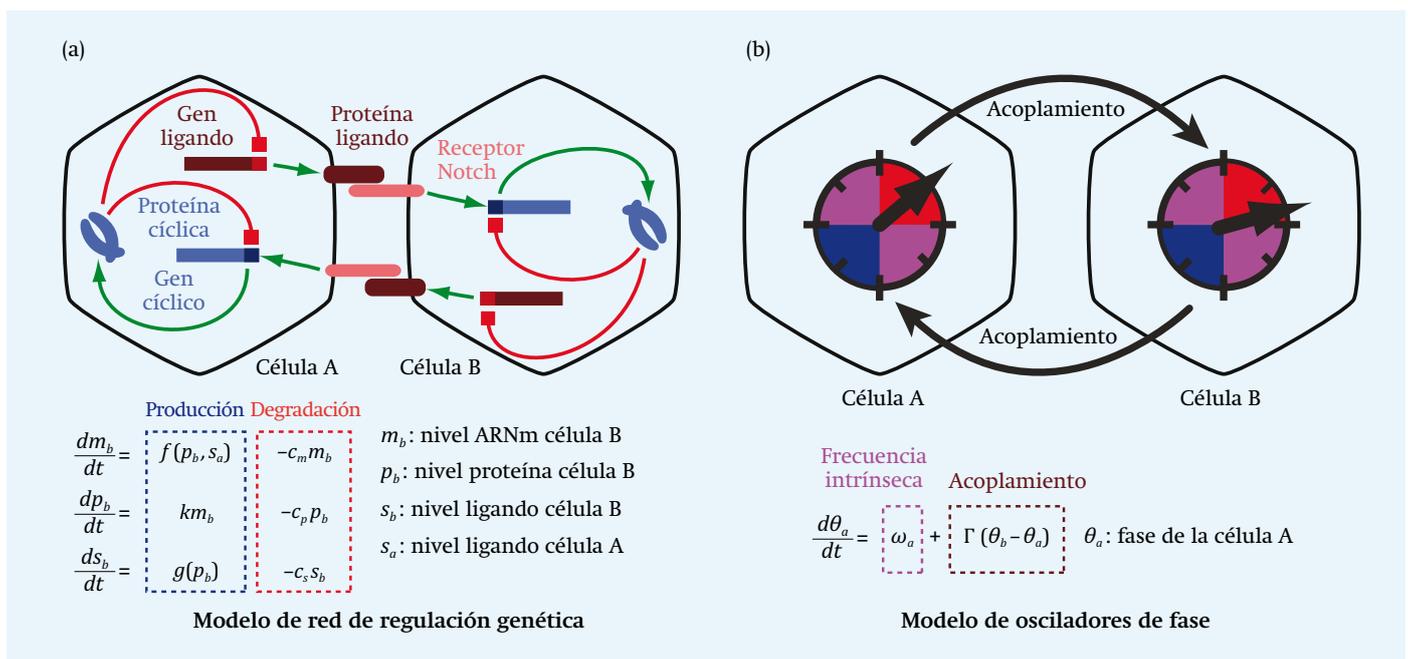


Fig. 4. Formación de patrones a partir de oscilaciones genéticas. (a) La expresión genética cíclica oscila en cada célula individual debido a un bucle de realimentación negativa, y las oscilaciones están acopladas a las de células vecinas a través de la ruta Notch de señalización. (b) Los efectos mutuos que se causan entre sí osciladores celulares se pueden describir usando la teoría de osciladores de fase acoplados.

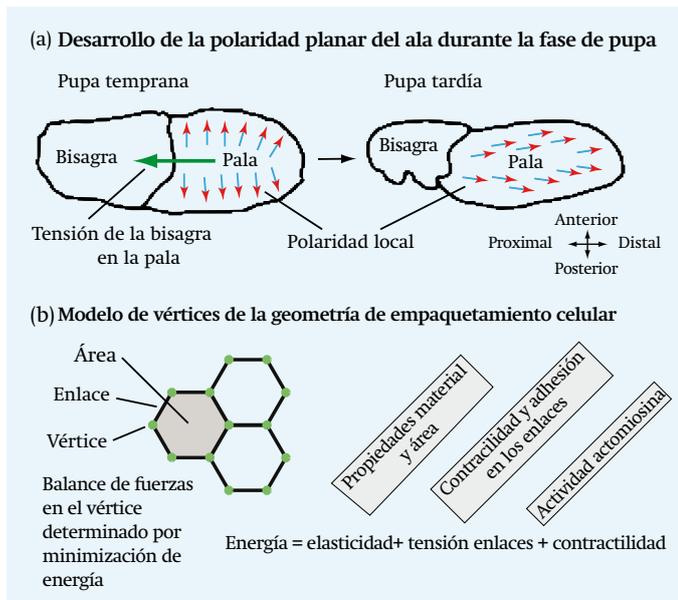


Fig. 5. Formación de patrones por deformación mecánica. (a) Esquema del desarrollo del ala de *Drosophila* en la fase en la que se alarga la pala del ala y se establece la polaridad planar próximo-distal. (b) Esquema del modelo de vértices usado para calcular geometrías estables de empaquetamiento celular.

briones [31], un método alternativo y complementario es formular teorías efectivas que utilicen variables por las que hay un interés concreto o una posibilidad de comparación con datos experimentales. En el reloj de segmentación, este método se ha usado para investigar la hipótesis de sincronización entre células usando teorías basadas en osciladores de fase acoplados [figura 4(b)]. En un modelo de osciladores de fase, todas las variables correspondientes a la concentración de especies moleculares oscilantes se sustituyen por una única variable: la fase en el ciclo de oscilación, que evoluciona en el tiempo con una frecuencia intrínseca dada. El efecto de la señalización Delta-Notch se introduce por medio de una función de acoplamiento que acelera o frena el oscilador celular en función de la fase de las células vecinas. Los modelos de osciladores de fase no ofrecen información directa de la dinámica de cada especie molecular en el sistema, pero su simplicidad permite obtener intuiciones poderosas sobre las propiedades dinámicas a nivel de sistema incluso a partir de análisis de lápiz y papel. Es más, permiten la comparación directa con datos experimentales en distintas condiciones basada en pocos parámetros de grano grueso, como por ejemplo el periodo de las oscilaciones [32].

Usando un modelo de osciladores de fase, se formuló el problema de la sincronización en el reloj de segmentación como una competición entre el ruido que tiende a romper la coherencia del sistema y el acoplamiento intercelular que mantiene las células en sincronía [33]. Usando el modelo para analizar experimentos cuantitativos en los que se reducía la señalización Notch en el pez cebra, se pudo estimar el nivel de ruido y la fuerza del acoplamiento relevantes para la sincronía del reloj en todo el tejido. El acoplamiento intercelular precisa la síntesis del ligando Delta en cada nuevo ciclo de oscilación [Figura 4(a)], y para representar el tiempo que conlleva la realización del mecanismo ligando-receptor, Morelli y colaboradores incluyeron retardos temporales explícitos en la función de acoplamiento

de un modelo de osciladores de fase [32]. Esta teoría de acoplamiento retardado predice que variando la fuerza de acoplamiento se podría variar el periodo del reloj, motivando así el estudio experimental de la dinámica del reloj de segmentación en los mutantes de la ruta Notch. Medidas cuantitativas del periodo de segmentación y el análisis de los patrones de expresión genética en mutantes confirmaron las predicciones teóricas, identificando en el proceso los primeros candidatos para ser mutantes de periodo del reloj de segmentación [34].

Aunque estos estudios revelan datos sorprendentes de la dinámica del reloj de segmentación, la mayor parte de los datos experimentales cuantitativos usados para comparar con los modelos proviene de imágenes estáticas [31, 34], y la desincronización del reloj no había sido observada hasta la publicación un trabajo [35] días antes de que este artículo entrara en prensa. El uso de técnicas nuevas para observar en vivo la expresión genética oscilante [36] permitirá poner a prueba directamente suposiciones clave de los modelos existentes.

4. Formación de patrones a partir de deformaciones mecánicas

Completamos nuestra lista de mecanismos de formación de patrones con un caso descubierto recientemente en el que deformaciones de un tejido guían la formación del patrón. Un comportamiento aparentemente sencillo para un epitelio (una capa bidimensional de células) es estirarse a lo largo de un eje a la vez que se encoje a lo largo del eje ortogonal. Durante el desarrollo de *Drosophila*, el epitelio de la pala del ala se estira hasta adoptar la familiar forma alargada del ala de la mosca, y cada uno de los pelos que salen de las células del ala apuntan en la dirección distal, en un perfecto ejemplo de patrón de polaridad planar celular [figura 5(a)]. A pesar de que se han observado gradientes de los componentes de la ruta de señalización responsable de la polaridad planar celular, no son suficientes para producir la polaridad final de los pelos del ala [37]. El examen de la dinámica del proceso a partir de vídeos de la forma y trayectoria de las células muestra que la contracción acusada de la bisagra del ala [el tejido que une la pala al resto del cuerpo, véase figura 5(a)] ejerce tensión de forma anisótropa en la pala [38]. Durante un periodo de quince horas, la pala se deforma debido a un gradiente de cizalla que aparece debido al flujo de células en el tejido.

Para explorar el papel de la cizalla del tejido en el alineamiento del eje de polaridad celular con el eje próximo-distal de la pala, Aigouy y colaboradores utilizaron un modelo bidimensional de vértices [figura 5(b)] para describir la forma de las células del epitelio [39]. Este modelo ofrece una descripción fenomenológica del reclutamiento por distintas fronteras celulares de tipos de moléculas responsables de aspectos complementarios de la polaridad planar celular [38]. Predice que la polaridad se reorienta por rotaciones locales y por cizalla inducida por el flujo de células. Simulaciones por ordenador muestran que la cizalla asociada a división celular orientada en una dirección dada, el crecimiento celular en la dirección próximo-distal y la recolocación celular contribuyen al alineamiento de la polaridad celular con el eje largo del ala. Trabajo futuro podrá investigar el efecto de tener en cuenta el efecto de las superficies celulares en

la tercera dimensión espacial ignorada en la descripción anterior, y la reorganización dinámica de los complejos de proteínas asociados a la polaridad planar celular por efecto de la recolocación celular. Así, de forma destacable, la polaridad planar celular del ala completada podría ser consecuencia directa de las tensiones externas responsables de su extensión, a través de reglas físicas sencillas análogas a las que determinan la polaridad molecular en los cristales líquidos [40].

En este artículo hemos discutido principalmente los aspectos químicos de la formación de patrones separados de la subsiguiente mecánica de morfogénesis [41, 42]. En su mítico artículo Turing ya se preguntaba si no habría una conexión más estrecha [14], y parece que ha llegado el momento de replantearse el desarrollo embrionario como una integración de aspectos mecano-químicos [43]. Por ejemplo, motivados por descubrimientos recientes en el gusano *Caenorhabditis elegans* [44], Bois y colaboradores estudiaron la formación de patrones en un fluido activo (un medio compuesto por filamentos en el que las fuerzas ejercidas por motores moleculares permiten al medio usar energía para reaccionar a condiciones externas) en el que contracciones mecánicas causan el flujo de reactivos químicos [45]. Su análisis teórico mostró que las propiedades del fluido activo extienden el espacio de parámetros en el que sistemas de Turing clásicos son capaces de generar patrones. Hasta qué punto la realimentación continua entre procesos químicos y mecánicos subyace a fenómenos a nivel de tejidos durante el desarrollo embrionario aún no está claro, pero podría ser una relación habitual.

5. Perspectiva

Con la amplia gama de métodos en uso, ¿con qué criterios deben los biólogos del desarrollo elegir los métodos teóricos más apropiados para sus problemas particulares? ¿Y dónde deben ir físicos y matemáticos a buscar problemas interesantes en un campo tan vasto como la Biología del Desarrollo? Artículos de revisión recientes proporcionan un buen número de ejemplos y consejos [1-5]. Aquí quisiéramos recalcar que el primer paso es capital: el nivel de descripción y el tipo de modelo a formular deben ajustarse a los datos experimentales disponibles. Los datos deben ser cuantitativos y precisos, y el modelo debe ser capaz de hacer predicciones falsables. Ya existen investigadores que manejan con soltura tanto los aspectos experimentales como los teóricos, pero más a menudo un acercamiento teórico exitoso a la Biología de Sistemas implica un diálogo a largo plazo entre expertos de diferentes disciplinas. Al mismo tiempo que los avances de las técnicas de obtención de imágenes y los métodos moleculares aumenten la complejidad y resolución experimental, serán necesarios nuevos desarrollos teóricos y computacionales para resolver los rompecabezas que surgirán. Un mundo de nuevas oportunidades se abre tanto para biólogos como para físicos.

Agradecimientos

Agradecemos a Pablo Ares y Juan Barrero lecturas críticas del manuscrito. Este trabajo ha sido financiado por un contrato JAE-Doc (JAEDOC014, 2010 call) del programa del CSIC: Junta para la Ampliación de Estudios, cofinanciado por el Fondo Social Europeo (FSE) y el Ministerio de Ciencia e Innovación

(España), a través del proyecto MOSAICO (SA), la Japan Society for the Promotion of Science for Young Scientists (KU) y la Max Planck Society y el European Research Council bajo el European Communities Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013) / ERC Grant núm. 207634 (ACO/LGM).

Referencias

- [1] A. C. OATES et ál., “Quantitative approaches in developmental biology”. *Nature Reviews Genetics* **10** (8), 517 (2009).
- [2] J. LEWIS, “From signals to patterns: space, time, and mathematics in developmental biology”. *Science* **322** (5900), 399 (2008).
- [3] G. T. REEVES et ál., “Quantitative models of developmental pattern formation”. *Developmental Cell* **11** (3), 289 (2006).
- [4] C. J. TOMLIN y J. D. AXELROD, “Biology by numbers: mathematical modelling in developmental biology”. *Nature Reviews Genetics* **8** (5), 331 (2007).
- [5] S. ROTH, “Mathematics and biology: a Kantian view on the history of pattern formation theory”. *Development Genes and Evolution* **221** (5-6), 255 (2011).
- [6] L. G. MORELLI et ál., “Computational approaches to developmental patterning”. *Science* **336** (6078), 187 (2012).
- [7] L. WOLPERT, “Positional information and the spatial pattern of cellular differentiation”. *Journal of Theoretical Biology* **25** (1), 1 (1969).
- [8] S. C. LITTLE et ál., “The formation of the Bicoid morphogen gradient requires protein movement from anteriorly localized mRNA”. *PLoS Biology* **9** (3), e1000596 (2011).
- [9] MANU et ál., “Canalization of gene expression in the *Drosophila* blastoderm by gap gene cross regulation”. *PLoS Biology* **7** (3), e1000049 (2009).
- [10] MANU et ál., “Canalization of gene expression and domain shifts in the *Drosophila* blastoderm by dynamical attractors”. *PLoS Computational Biology* **5** (3), e1000303 (2009).
- [11] S. H. STROGATZ, *Nonlinear dynamics and chaos: with applications to physics, biology, chemistry, and engineering* (Westview Press, 1994).
- [12] T. GREGOR et ál., “Stability and nuclear dynamics of the bicoid morphogen gradient”. *Cell* **130** (1), 141 (2007).
- [13] G. TKACIK y A. M. WALCZAK, “Information transmission in genetic regulatory networks: a review”. *Journal of Physics: Condensed Matter* **23** (15) 153102 (2011).
- [14] A. M. TURING, “The chemical basis of morphogenesis”, *Philosophical Transactions of the Royal Society B* **237**, 37 (1952).
- [15] H. MEINHARDT, *Models of biological pattern formation* (Academic Press, 1982).
- [16] J. D. MURRAY, *Mathematical Biology* (Springer Verlag, 2003).
- [17] A. GIERER y H. MEINHARDT, “A theory of biological pattern formation”. *Kybernetik*, **12**, 30 (1972).
- [18] Á. SÁNCHEZ, “Turing y sus patrones: el pionero de la biología matemática”. *Nada es Gratis* (blog) (17 de octubre de 2012) [en línea] (<http://www.fedeablogs.net/economia/?p=25125>).
- [19] M. AKAM, “*Drosophila* development: making stripes inelegantly”. *Nature* **341** (6240), 282 (1989).

- [20] A. D. ECONOMOU et ál., “Periodic stripe formation by a Turing mechanism operating at growth zones in the mammalian palate”. *Nature Genetics* **44** (3), 348 (2012).
- [21] M. V. PLIKUS et ál., “Self-organizing and stochastic behaviors during the regeneration of hair stem cells”. *Science* **332** (6029), 586 (2011).
- [22] A. KONDO y R. ASAI, “A reaction-diffusion wave on the skin of the marine angelfish *Pomacanthus*”. *Nature* **376** (6543), 765 (1995).
- [23] A. NAKAMASU et ál., “Interactions between zebrafish pigment cells responsible for the generation of Turing patterns”. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106** (21), 8429 (2009).
- [24] M. INABA, H. YAMANAKA y S. KONDO, “Pigment pattern formation by contact-dependent depolarization”. *Science* **335** (6069), 677 (2012).
- [25] J. COOKE y E. C. ZEEMAN, “A clock and wavefront model for control of the number of repeated structures during animal morphogenesis”. *Journal of Theoretical Biology* **58** (2), 455 (1976).
- [26] I. PALMEIRIM et ál., “Avian hairy gene expression identifies a molecular clock linked to vertebrate segmentation and somitogenesis”. *Cell* **91** (5), 639 (1997).
- [27] A. C. OATES, L. G. MORELLI y S. ARES, “Patterning embryos with oscillations: structure, function and dynamics of the vertebrate segmentation clock”. *Development* **139** (4), 625 (2012).
- [28] Y. J. JIANG et ál., “Notch signalling and the synchronization of the somite segmentation clock”. *Nature* **408** (6811), 475 (2000).
- [29] J. LEWIS, “Autoinhibition with transcriptional delay: a simple mechanism for the zebrafish somitogenesis oscillator”. *Current Biology* **13** (16), 1398 (2003).
- [30] K. URIU, Y. Morishita y Y. Iwasa, “Random cell movement promotes synchronization of the segmentation clock”. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107** (11), 4979 (2010).
- [31] F. GIUDICELLI et ál., “Setting the tempo in development: an investigation of the zebrafish somite clock mechanism”. *PLoS Biology* **5** (6), e150 (2007).
- [32] L. G. MORELLI et ál., “Delayed coupling theory of vertebrate segmentation”. *HFSP Journal* **3** (1), 55 (2009).
- [33] I. H. RIEDEL-KRUSE, C. MÜLLER y A. C. OATES, “Synchrony dynamics during initiation, failure, and rescue of the segmentation clock”. *Science* **317** (5846), 1911 (2007).
- [34] L. HERRGEN et ál., “Intercellular coupling regulates the period of the segmentation clock”. *Current Biology* **20** (14), 1244 (2010).
- [35] E. A. DELAUNE et ál., “Single-cell-resolution imaging of the impact of Notch signaling and mitosis on segmentation clock dynamics”. *Developmental Cell* **23** (5), 995 (2012).
- [36] Y. NIWA et ál., “Different types of oscillations in Notch and Fgf signaling regulate the spatiotemporal periodicity of somitogenesis”. *Genes & Development* **25** (11), 1115 (2011).
- [37] D. MA et ál., “Cell packing influences planar cell polarity signaling”. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **105** (48), 18800 (2008).
- [38] B. AIGOUY et ál., “Cell flow reorients the axis of planar polarity in the wing epithelium of *Drosophila*”. *Cell* **142** (5), 773 (2010).
- [39] R. FARHADIFAR et ál., “The influence of cell mechanics, cell-cell interactions, and proliferation on epithelial packing”. *Current Biology* **17** (24), 2095 (2007).
- [40] J. F. JOANNY et ál., “Hydrodynamic theory for multi-component active poalr gels”. *New Journal of Physics* **9**, 422 (2007).
- [41] N. GORFINKIEL, S. SCHAMBERG y G. B. BLANCHARD, “Integrative approaches to morphogenesis: lessons from dorsal closure”. *Genesis* **49** (7), 522 (2011).
- [42] S. M. TRIER y L. A. DAVIDSON, “Quantitative microscopy and imaging tools for the mechanical analysis of morphogenesis”. *Current Opinion in Genetics & Development*, **21** (5), 664 (2011).
- [43] J. HOWARD, S. W. GRILL y J. S. BOIS, “Turing’s next steps: the mechanochemical basis of morphogenesis”. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **12** (6), 392 (2011).
- [44] M. MAYER et ál., “Anisotropies in cortical tension reveal the physical basis of polarizing cortical flows”. *Nature* **467** (7315), 617 (2010).
- [45] J. S. BOIS, F. JÜLICHER y S. W. GRILL, “Pattern formation in active fluids”. *Physical Review Letters* **106** (2), 028103 (2011).



Saúl Ares
Logic of Genomic
Systems Laboratory,
Centro Nacional de
Biotecnología-CSIC y
Grupo Interdisciplinar
de Sistemas Complejos
(GISC).



Luis G. Morelli
Dpto. de Física, FCEyN.
Universidad de Buenos
Aires.



Koichiro Uriu
Theoretical Biology
Laboratory, RIKEN
Advanced Science
Institute.



Andrew C. Oates
Max Planck Institute
of Molecular Cell
Biology and Genetics.