



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Facultad de Ciencias

Grado en Biología

Memoria del Trabajo de Fin de Grado

Modelos teóricos en la generación de patrones pigmentarios en el pelaje de mamíferos

Modelos teóricos na xeración de patróns de pigmentación na pelaxe de mamíferos

Theoretical models in the generation of pigmentary patterns in mammalian fur



Cristina Varela Pombo

Curso: 2021- 2022. Convocatoria: Junio

Director: Dr. Julián Yáñez Sánchez

TABLA DE CONTENIDO

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.....	1
RESUMEN/PALABRAS CLAVE	2
RESUMO/PALABRAS CHAVE	2
ABSTRACT/ KEYWORDS	3
1. INTRODUCCIÓN.....	4
1.1 Coloración animal	4
1.2 Origen de los melanocitos	6
1.3 Melanogénesis	7
1.4 Transferencia de melanina	9
2. OBJETIVOS.....	11
3. MÉTODOS.....	11
4. RESULTADOS	12
4.1 Modelos teóricos	12
Modelo de reacción-difusión de Turing	12
Modelo de activación-inhibición	13
Modelo de Turing basado en el núcleo (<i>kernel</i>).....	14
Modelo basado en el agente.....	14
4.2 Modelo de activación-inhibición aplicado a patrones del pelaje	15
5. CONCLUSIONES	17
CONCLUSIÓN.....	18
CONCLUSIONS	19
6. BIBLIOGRAFÍA	20

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

α -MSH: hormona estimulante de los melanocitos α

BMP: proteína morfógena del hueso

DHI: 5,6-dihidroxiindol

DHICA: ácido 5,6-dihidroxiindol-2-carboxílico

DOPA: dihidroxifenilalanina

DQ: dopaquinona

Edn3: Endotelina-3

Mc1r: receptor de la melanocortina 1

Mift: factor de transcripción asociado a la microftalmia

Taqpep: transmembrana aminopeptidasa Q

TYR: tirosinasa

TRP1: proteína 1 relacionada con la tirosina

TRP2: proteína 2 relacionada con la tirosina

RESUMEN/PALABRAS CLAVE

En el reino animal existen diferentes tipos de coloración que dan lugar a una gran variedad de patrones pigmentarios en el pelaje de los animales cuando se combinan entre sí o por separado. La explicación de la complejidad de la formación de estos patrones ha sido descrita por diferentes modelos teóricos a lo largo del tiempo.

En el grupo de los mamíferos, este proceso implica la formación de células pigmentarias, los melanocitos, a partir de células embrionarias derivadas de la cresta neural, los melanoblastos. Posteriormente, los melanoblastos viajan por la denominada vía migratoria dorsolateral hasta llegar a su destino. Allí se diferenciarán en melanocitos maduros que producen melanina como pigmento.

El modelo de activación-inhibición explicaría bien tanto el destino de las células pigmentarias como la producción diferencial de pigmento claro u oscuro de muchos mamíferos. Además, en casos particulares se ha observado que: (a) Wnt y Dkk (factor activador e inhibidor respectivamente) establecen el patrón pigmentario embrionario; (b) el gen *Taqpep* establecería la orientación del folículo piloso, y (c) los niveles del factor paracrino Endotelina-3 determinan la producción de eumelanina oscura o feomelanina clara dando lugar a la aparición del patrón pigmentario definitivo.

Palabras clave: Patrones pigmentarios, Mamíferos, Melanocitos, Modelos teóricos, Modelo de activación-inhibición.

RESUMO/PALABRAS CHAVE

No reino animal existen diferentes tipos de coloración que dan lugar a unha gran variedade de patróns pigmentarios na pelaxe dos animais cando se combinan entre sí ou por separado. A explicación da complexidade na formación destes patróns foi descrita por diferentes modelos teóricos ao longo do tempo.

No grupo dos mamíferos, este proceso implica a formación de células pigmentarias, os melanocitos, a partir das células embrionarias derivadas da cresta neural, os melanoblastos. Posteriormente, os melanoblastos viaxan pola denominada vía migratoria dorsolateral ata chegar ao seu destino. Alí diferéncianse en melanocitos maduros que producen melanina como pigmento.

O modelo de activación-inhibición explicaría ben tanto o destino das células pigmentarias como a produción diferencial de pigmento claro ou escuro de moitos mamíferos. Ademais, en casos particulares, observouse que: (a) Wnt e Dkk (factor activador e inhibidor respectivamente) establecen o patrón de pigmento embrionario; (b) o xene *Taqpep* establecería a orientación do folículo piloso, e (c) os niveis do factor paracrino Endotelina-3 determinan a produción de eumelanina escura ou feomelanina clara, dando lugar á aparición do patrón pigmentario definitivo.

Palabras chave: Patróns pigmentarios, Mamíferos, Melanocitos, Modelos teóricos, Modelo de activación-inhibición.

ABSTRACT/ KEYWORDS

There are different types of coloration in the animal kingdom which gives a great variety of pigmentary patterns in the fur of animals when combined with each other or on their own. The explanation behind the complexity of the formation of these patterns has been described by different theoretical models over time.

Within the mammalian group, this process involves with the formation of pigment cells (melanocytes) from the neural crest's cells. From there, the precursors of melanocytes (melanoblasts) migrate along the dorsolateral route until they reach their destination. There, they differentiate into mature melanocyte that produce melanin as pigment.

The activation-inhibition model explains both the destination of pigment cells and the differential production of light or dark pigment in many mammals. In addition, in particular cases it has been observed that: (a) Wnt and Dkk (activator and inhibitor factors respectively) establish the embryonic pigmentary pattern; (b) the *Taqpep* gene establishes the orientation of the hair follicle, and (c) the levels of the paracrine factor Endothelin-3 determines the production of dark eumelanin or light pheomelanin leading to the appearance of the final pigmentary pattern.

Keywords: Pigmentation pattern, Mammals, Melanocytes, Theoretical models, Activation-inhibition model.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 COLORACIÓN ANIMAL

En el reino animal existe una amplia gama cromática que puede ir desde el negro o marrón hasta el verde o azul en algunos animales. En los diferentes filos podemos encontrar diversos tipos de coloración, pudiendo destacar la debida a pigmentos, la producida gracias a células pigmentarias, la coloración estructural o la derivada de la bioluminiscencia (Figura 1). Además, un mismo animal puede presentar más de un tipo de coloración, lo que da como resultado un patrón corporal de colores y formas más llamativo.

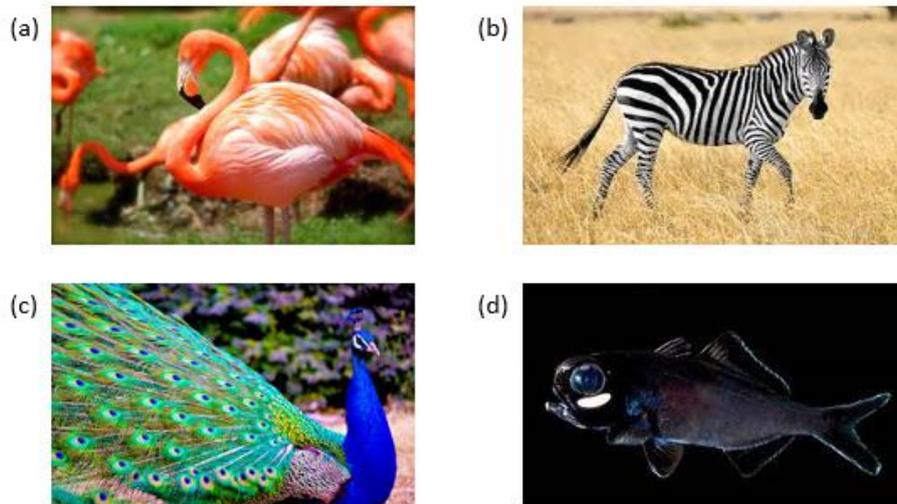


Figura 1. Diversos tipos de coloración animal: (a) Pigmentos presentes en el flamenco. (b) Células pigmentarias presentes en la cebra. (c) Coloración estructural en el pavo real. (d) Derivada de la bioluminiscencia en pez ojos de linterna. Imagen de elaboración propia con fotografías sacadas de Google imágenes con Licencia Creative Commons.

Algunos animales son incapaces de producir sus propios pigmentos, así que los pueden asimilar a través de la dieta para poder pigmentar su superficie corporal. Este es el caso del flamenco (Figura 1. a), que se ve de un color rosado porque se alimenta de colonias de *Artemia* (crustáceos) y estas, a su vez, ingieren microalgas que les confieren los carotenoides necesarios para adquirir su coloración característica (Amat *et al.*, 2017).

Otros animales presentan células especializadas que contienen pigmentos que son capaces de sintetizar por sí mismas. En el caso de los mamíferos (Figura 1. b), las células especializadas se denominan melanocitos y producen melanina, que es el único pigmento presente en este grupo de animales (Wakamatsu *et al.*, 2021). Las aves también presentan este tipo de células con melanina, sin embargo, en animales poiquilotermos como anfibios y peces podemos encontrar diferentes tipos de células pigmentarias especializadas, denominadas cromatóforos, que contienen pigmentos de otros colores. En estos animales existen melanóforos negros, xantóforos amarillos, eritróforos rojos, iridióforos iridiscentes, leucóforos blancos y cianóforos azules (Mills *et al.*, 2009).

Muchas especies de aves, como el pavo real (Figura 1. c), presentan microestructuras en sus plumas de tamaño comparable al de la longitud de onda de la luz y son altamente reflectantes para un

determinado rango de longitudes de onda. Este proceso se denomina coloración estructural y confiere a las aves la capacidad de generar colores muy brillantes. Cabe destacar que no existe una única estructura capaz de producir este tipo de coloración, sino que existen diferentes estructuras capaces de generar una coloración estructural (Figura 2) (Yoshioka *et al.*, 2021).

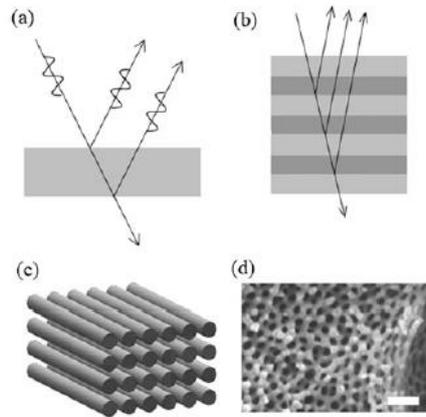


Figura 2. Estructuras que pueden generar una coloración estructural: (a) Una sola capa fina. (b) Estructura multicapa periódica. (c) Estructura de cristal fotónico bidimensional. (d) Red amorfa. Imagen modificada de Yoshioka *et al.*, 2021.

Por último, otro tipo de coloración que se puede destacar deriva de la bioluminiscencia. Este mecanismo está presente en animales que viven en la oscuridad, como el pez ojos de linterna (Figura 1. d), que tienen que generar luz para poder comunicarse como lo hacen otros animales con patrones de color (Paitio *et al.*, 2021). La bioluminiscencia no es más que una reacción química oxidativa que ocurre dentro o fuera del cuerpo del animal y que, por lo general, consta de tres componentes básicos: un sustrato (luciferina), una enzima (luciferasa) y un cofactor (oxígeno), que al final da como resultado la producción de luz (Marques *et al.*, 2009).

La formación de los diferentes patrones periódicos presentes en los distintos animales gracias a los distintos tipos de coloración citados anteriormente está impulsada principalmente por tres fuerzas evolutivas: (i) la ocultación de depredadores o presas, (ii) la comunicación intra- o interespecífica y (iii) la regulación de la temperatura corporal (Caro, 2005). Esto nos indica que la coloración en sí misma presenta un valor adaptativo, permitiendo que los animales que la poseen aumenten su supervivencia o su reproducción.

Como ya se ha mencionado anteriormente, existen múltiples tipos de coloración, pero este trabajo se centrará en la coloración producida por la presencia de células pigmentarias y en la generación de patrones de pigmentación gracias a la disposición de estas. Concretamente centraremos nuestra atención en el grupo de los mamíferos para explicar este proceso, ya que, como solo presentan un tipo de célula pigmentaria (los melanocitos), será mucho más sencillo entender cómo se generan los distintos patrones de pigmentación.

1.2 ORIGEN DE LOS MELANOCITOS

Las células pigmentarias de los vertebrados derivan de la cresta neural, que se origina a partir del ectodermo embrionario (Carlson, 2000). Las células de la cresta neural no son evidentes hasta que emigran del tubo neural, pero su inducción se produce por primera vez durante la gastrulación temprana, en el borde entre la epidermis y la placa neural. La especificación de la cresta neural en el límite entre la placa neural y la epidermis es un proceso que presenta varios pasos. El primero parece ser la especificación del borde de la placa neural, para que, posteriormente, las células de este borde que se encuentren entre la placa neural y el ectodermo epidérmico se especifiquen en las células de la cresta neural. La expresión de BMP y Wnt en la región anterior del embrión es esencial para discriminar a las células de la cresta neural. Además, estos mismos factores, junto con Pax3, Pax7 y Distalless, confieren a la región fronteriza del ectodermo neural y epidérmico la capacidad de formar distintos tipos de células de la cresta neural (Gilbert, 2014).

La delaminación de las células de la cresta neural del epitelio donde se encuentran inicialmente depende de una gran variedad de factores como el coactivador transcripcional YAP de la vía de señalización Hippo y las proteínas con motivos de dedos de zinc (*zinc finger*) SNAI1 y ZEB2. Su acción conduce finalmente a la represión de los marcadores epiteliales y a la regulación de marcadores mesenquimales (proceso conocido como transición epitelio-mesenquimal). Estas células mesenquimales no están fijadas entre sí mediante uniones estrechas, sino que pueden migrar hasta su destino final gracias a la acción de metaloproteasas que degradan la matriz extracelular (Arnheiter *et al.*, 2021). Para la especificación del destino celular se necesita un factor de transcripción que active los genes de diferenciación corriente abajo, concretamente el factor de transcripción Mift (Cooper *et al.*, 2009). Además, cabe destacar que para poder migrar por la vía correcta se necesita que las células de la cresta neural estén previamente especificadas como melanoblastos, que expresarán en superficie el marcador de melanoblastos Kit (Kelsh *et al.*, 2009). En resumen, primero se expresará el factor de transcripción Mift para especificar el destino celular y posteriormente las células se especificarán como melanoblastos para poder migrar por la vía de migración correcta gracias a la expresión del marcador de melanoblastos Kit en su membrana celular.

Existen distintas vías de migración para las células de la cresta neural del tronco, pero la vía elegida por los melanoblastos es la vía dorsolateral (Figura 4), entre el ectodermo epidérmico y los somitas (agrupaciones periódicas y transitorias de células del mesodermo paraxial) (Carlson, 2000). El momento de la migración de las células de la cresta neural está controlado por el entorno del tubo neural. Las señales Wnt y BMP ayudan a promover la expresión de proteínas de la familia Snail, Foxd y Rho en aquellas células que están destinadas a migrar. Las células de la cresta neural no pueden salir del tubo neural mientras estén unidas entre sí, por lo que una de las funciones de las proteínas Snail es activar a factores que disocian las cadherinas que unen las células entre sí (Gilbert, 2014).

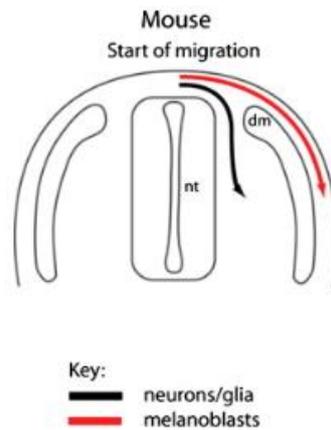


Figura 4. Migración dorsolateral de los melanoblastos en el grupo de los mamíferos (ratón). Imagen modificada de Kelsh *et al.*, 2009.

Las células de la cresta neural que siguen la vía de migración dorsolateral, que ya se han especificado como melanoblastos, son conducidos por factores quimiotácticos y glicoproteínas de la matriz como endotelinas y efrinas. Los melanoblastos aumentan la expresión del receptor de Efrina y el receptor de la Endotelina, gracias a estos receptores estas células son capaces de migrar a través de la matriz extracelular que contengan Efrina y Endotelina-3. Así, la interrupción de la señalización mediada por Efrina en las células migratorias de la cresta neural impediría su migración dorsolateral (Gilbert, 2014).

Gracias a la acción de todos estos factores, las células de la cresta neural precursoras de las células pigmentarias (melanoblastos) migran subectodérmicamente para entremezclarse con la dermis. Posteriormente, invadirán el ectodermo y colonizan rápidamente el folículo piloso donde se diferencian en melanocitos para producir su pigmento característico, la melanina (Kelsh *et al.*, 2009). El modelo más simple sugiere que la únicamente expresión del gen *Mitf* sería suficiente para promover el estado diferenciado a melanocito. Sin embargo, son las interacciones entre *Mitf* y sus activadores *Wnt*, *Sox* y *Pax* los que juntos regulan la diferenciación de los melanocitos. Estas células diferenciadas se caracterizan por presentar pigmento negro o acumulación de melanina, por el tráfico de la melanina dentro de orgánulos llamados melanosomas dependiente del citoesqueleto y por su morfología dendrítica característica (Cooper *et al.*, 2009).

1.3 MELANOGÉNESIS

La melanina es el único pigmento que existe dentro del grupo de los mamíferos, la cual es sintetizada en los melanosomas de los melanocitos en el proceso de melanogénesis. En este proceso se pueden producir dos tipos de melanina: la eumelanina (de color negro a marrón) y la feomelanina (de color amarillo a marrón rojizo) (Wakamatsu *et al.*, 2021).

Para que pueda dar comienzo la síntesis de melanina la hormona α -MSH tiene que inducir la expresión de las enzimas responsables de la melanogénesis gracias a su interacción con el receptor de membrana *Mc1r*. Tanto la eumelanina como la feomelanina se originan en el interior de los melanosomas a partir del mismo precursor, la tirosina (Figura 3). El primer paso de la melanogénesis

es la conversión de la tirosina por la acción de la tirosinasa a dopaquinona (DQ). Posteriormente, dentro de la vesícula la DQ se cicla para formar leucodopacromo y luego se convierte espontáneamente en un intermediario de color naranja conocido como dopacromo. Por último, el dopacromo pierde su ácido carboxílico para formar 5,6-dihidroxiindol (DHI), cuya polimerización forma eumelanina. Otra alternativa es que el dopacromo se reorganice gracias a la acción de las proteínas relacionadas con la tirosinasa TRP1 y TRP2 para formar un ácido 5,6-dihidroxiindol-2-carboxílico (DHICA) intermediario que en última instancia también conducirá a la formación de eumelanina (Nasti *et al.*, 2015).

En la síntesis de feomelanina son muy importantes los grupos sulfhidrilo, ya que una vez que se forma la DQ como en el caso de la eumelanina, esta reacciona con los grupos sulfhidrilo para formar cisteinil-DOPA y luego quinona, que luego se convierte en benzotiazina y benzotiazol. Finalmente, estos dos productos se polimerizan para formar la feomelanina (Nasti *et al.*, 2015).

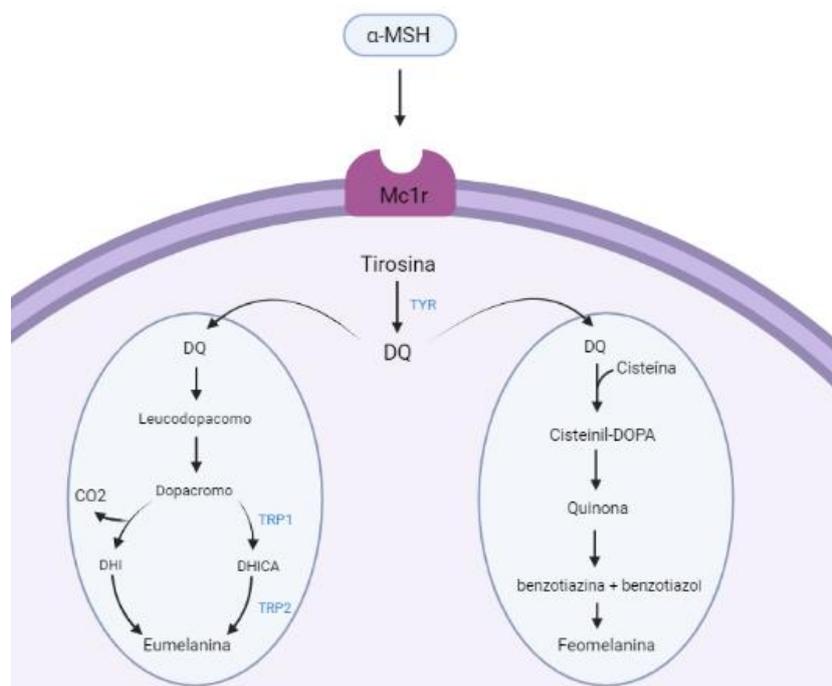


Figura 3. Rutas simplificadas implicadas en la biosíntesis de la eumelanina y la feomelanina en los melanosomas. Imagen de elaboración propia.

Sin embargo, aunque solo se encuentre un pigmento, en la naturaleza existen mamíferos con colores muy variados como son el negro, el naranja o el amarillo. Estos colores se formarán gracias a la expresión diferencial de distintos genes, principalmente el gen *Mc1r* y el gen *agutí*.

➤ Producción del fenotipo negro y marrón

El melanismo es uno de los polimorfismos más comunes entre los vertebrados. En mamíferos, el aumento en la producción de eumelanina y la reducción en feomelanina genera un fenotipo melánico (de color marrón oscuro o negro). Este cambio está controlado por el gen *Mc1r*, que codifica para el receptor de los melanositos, y el gen *agutí*, que codifica para una pequeña molécula

señalizadora. En ausencia del gen *agutí*, la hormona estimulante de los melanocitos (α -MSH) estimulará al gen *Mc1r* para sintetizar eumelanina (Mills *et al.*, 2009).

➤ Producción del fenotipo amarillo, naranja y rojo

En mamíferos, las mutaciones de pérdida de función del gen *Mc1r* o las mutaciones dominantes en *agutí* provocan un aumento de la síntesis de feomelanina lo que genera un pelaje amarillo o rojo (Mills *et al.*, 2009).

1.4 TRANSFERENCIA DE MELANINA

Para que se pueda generar el patrón de pigmentación los melanosomas de los melanocitos deben de ser transferidos a los queratinocitos de la piel, que son los que conforman las diferentes capas de la epidermis (Moreiras *et al.*, 2021). Una cualidad sorprendente es que una cantidad relativamente pequeña de melanocitos es capaz de transferir estas vesículas a una gran cantidad de queratinocitos (se estima que un único melanocito podría transferir el pigmento a más de 40 queratinocitos) gracias a la utilización de sus largas dendritas (Wu *et al.*, 2014).

Para que la transferencia de la melanina desde los melanocitos hasta los queratinocitos pueda producirse es necesaria la expresión específica de genes de transferencia. En el caso del ratón, estos genes se corresponden con *foxn1* y *fgf2*, el primero de ellos codifica para un factor de transcripción expresado por las células receptoras (los queratinocitos), mientras que el gen *fgf2* codifica para un factor difusible que normalmente actúa en distancias cortas (Weiner *et al.*, 2014).

El proceso mediante el cual se induce la transferencia de melanina comienza con la expresión del gen *foxn1* por las células receptoras, la cual, a su vez, estimula a las propias células a emitir ciertas sustancias difusibles, entre ellas Fgf2 (Figura 5). Es esta sustancia la que atraerá a los melanocitos que reconocerán a las células positivas para Fox1 como objetivos y les transferirán el pigmento, generando así los distintos patrones de pigmentación observados (Weiner *et al.*, 2007). Así que, en última instancia, la posición particular de las células epiteliales serán las que determinen el patrón presente en el pelaje.

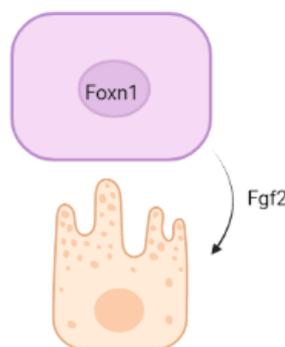


Figura 5. La célula receptora (morado) expresa el gen *fox1* y esto hace que se libren algunas sustancias difusibles. Entre ellas está Fgf2 que, entre otras funciones, es capaz de atraer a los melanocitos (naranja) hasta las células receptoras del pigmento para poder transferirles los melanosomas necesarios para adquirir la pigmentación. Imagen de elaboración propia.

Según varios estudios, actualmente existen 4 modelos principales propuestos para la transferencia de melanina desde los melanocitos hasta los queratinocitos:

Uno de los mecanismos propuestos es la citofagocitosis (Figura 6. 1), el cual está basado en la fagocitosis de una porción de un melanocito por un queratinocito. Primero, el melanocito extiende sus dendritas contactando con un queratinocito circundante y este engulle por medio de proyecciones citoplasmáticas el extremo de la dendrita del melanocito con los melanosomas en su interior. De este modo, cuando se pellizca la dendrita del melanocito, dentro del queratinocito se forma una vesícula citoplasmática con doble membrana con los melanosomas (lo que se denomina melanokerasoma). Posteriormente, estos melanokerasomas recién formados se fusionan con los lisosomas (formando un fagolisosoma) que como resultado llevará a la degradación de las tres membranas internas del melanokerasoma. Para concluir el proceso, el fagolisosoma melanizado se fragmenta en vesículas más pequeñas con melanina que se dispersarán por el citoplasma del queratinocito (Moreiras *et al.*, 2021).

Otro modelo propuesto es el de fusión directa de membranas (Figura 6. 2), el cual propone que las membranas plasmáticas de los melanocitos y queratinocitos se fusionan formando filopodios que conectan el citoplasma de ambas células y permitan la transferencia de melanosomas (Moreiras *et al.*, 2021).

Por otra parte, el modelo de desprendimiento de vesículas (Figura 6. 3) postula que las vesículas cargadas de melanosomas se liberan de los melanocitos al espacio extracelular y posteriormente serán fagocitadas por los queratinocitos. Primero se tienen que empaquetar múltiples melanosomas en una sola vesícula dentro del melanocito, posteriormente las vesículas se tienen que desprender para poder ser internalizadas por parte de los queratinocitos y, una vez en el seno de estas células, los melanosomas serán liberados (Moreiras *et al.*, 2021).

Por último, el modelo de exocitosis/endocitosis (Figura 6. 4) propone que la transferencia de melanina se logra mediante la fusión de la membrana del melanosoma con la membrana plasmática del melanocito. Esto dará como resultado la liberación del núcleo del melanosoma seguido de la endocitosis por parte de los queratinocitos vecinos (Moreiras *et al.*, 2021).

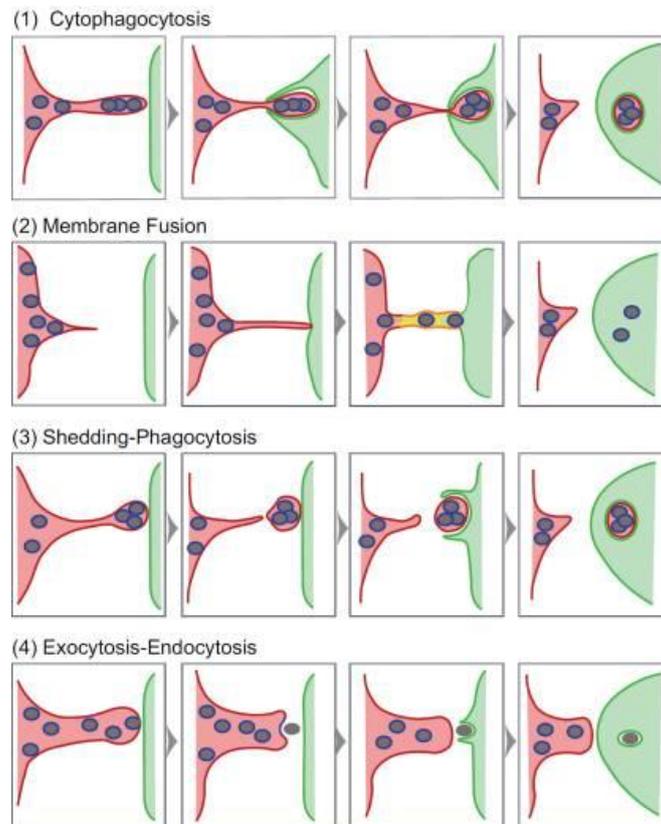


Figura 6. Posibles mecanismos de transferencia de melanosomas desde los melanocitos a los queratinocitos: (1). Citofagocitosis. (2). Fusión de membranas. (3) Modelo de desprendimiento de vesículas. (4) Exocitosis-Endocitosis. Código de colores: membrana limitante del melanosoma (azul), la membrana plasmática del melanocito (rojo) y la membrana plasmática del queratinocito (verde), mezcla de estas dos últimas membranas (amarillo). Imagen obtenida de Wu, *et al.* 2014.

2. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica para intentar describir como surgen los distintos patrones de pigmentación en el pelaje de algunos animales. En concreto, centraremos nuestra atención en la generación del patrón pigmentario en el pelaje de mamíferos por su sencillez, ya que únicamente presenta un tipo de célula pigmentaria con un único pigmento.

3. MÉTODOS

Para la elaboración de esta revisión se ha realizado una búsqueda bibliográfica con la finalidad de recopilar información sobre los pigmentos biológicos, cómo se forman las células que contienen estos pigmentos y, por último, como estas células son capaces de posicionarse en la superficie corporal para que, en última instancia, se puedan generar patrones de coloración específicos en el pelaje del animal.

Para obtener la información necesaria se ha recurrido a los recursos bibliográficos de la Facultad de Ciencias de la UDC, aunque la mayor parte de la información ha sido adquirida de diversas bases de datos como la Web of Science (<https://www.webofscience.com/wos/alldb/basic-search>), PubMed

(<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>)

o

Scopus

(<https://www.scopus.com/search/form.uri?display=basic#basic>). Para realizar la búsqueda en las distintas bases de datos las palabras clave que principalmente se utilizaron fueron entre otras: “Animal colour pigmentation”, “Pigment cells”, “Origin of patterns”, “Origin of melanocytes”. La recolección de la información utilizada fue iniciada en diciembre de 2021 y concluyó en junio de 2022.

4. RESULTADOS

Para explicar la formación de los distintos patrones de pelaje en los distintos grupos de mamíferos se han propuesto diversos modelos teóricos a lo largo del tiempo. En concreto, en este trabajo se presentan los cuatro modelos principales que explican la producción de estos patrones. Posteriormente, se analizará con mayor profundidad uno de dichos modelos teóricos propuestos y se aplicará a un sistema biológico para intentar explicar cómo surge el parón corporal de coloración en el pelaje de algún mamífero desde una perspectiva más práctica.

4.1 MODELOS TEÓRICOS

El trabajo de Miyazawa *et al.* (2021) distingue cuatro modelos teóricos principales que son capaces de explicar la generación de patrones pigmentarios en la superficie corporal presentes en algunos animales: (i) el modelo de reacción-difusión, (ii) el modelo de activación-inhibición, (iii) el modelo basado en el núcleo (*kernel*) y (iv) el modelo basado en el agente. A continuación, se hará una breve descripción de cada modelo propuesto, pero se prestará especial atención al segundo, puesto que es un modelo sencillo capaz de explicar la generación de este tipo de patrones con pocos componentes.

MODELO DE REACCIÓN-DIFUSIÓN DE TURING

Este modelo fue propuesto por primera vez por Alan Turing en 1952 (Turing, 1952) y todavía hoy en día sigue siendo el modelo básico principal para explicar la generación de diversos patrones biológicos. Este autor propuso que la formación de patrones espaciales se producía gracias a un sistema en el cual existen múltiples factores difusibles que interactúan entre sí (Miyazawa *et al.*, 2021). Estos factores los denominó morfógenos, que según Turing simplemente eran “sustancias que reaccionan químicamente para producir formas” (Turing, 1952).

La base de este modelo es la siguiente, un emisor secreta un morfógeno S , que actualmente se define como una sustancia soluble difusible que, a diferentes concentraciones activa la expresión de determinados genes en sus células diana (Gilbert, 2014). Debido a la naturaleza del morfógeno, la concentración de esta señal disminuye a medida que se incrementa la distancia desde el origen al receptor, generándose así un gradiente desde la fuente que, bajo condiciones de equilibrio, provee a las células competentes al morfógeno de la información posicional que especificará su destino (Müller, 1997).

Una de las ventajas de este modelo es que introduce reacciones en el sistema, por lo tanto, hace que este muestre una gran variedad a partir de un estado inicial casi uniforme sin depender de ningún patrón previo (Miyazawa *et al.*, 2021).

MODELO DE ACTIVACIÓN-INHIBICIÓN

Este segundo modelo fue propuesto por Gierer y Meinhard basándose en las ideas originales de Turing (Gierer *et al.*, 1972), el cual implica la presencia de dos sustancias difusibles: un activador y un inhibidor. El modelo más simple establece que para la creación de patrones se necesitan al menos estas dos sustancias para que interaccionen entre sí y que retroalimenten su propia producción y la de otras sustancias.

El modelo establece que la generación de un activador X es un evento autocatalítico. A través de un proceso de amplificación no lineal, el activador X genera la producción de más X, de tal forma que su aumento está básicamente limitado por la decadencia de sí mismo. Por lo tanto, los niveles de X bajan porque este activador difunde a regiones vecinas y por la producción de un inhibidor Y, que es iniciado heterocatalíticamente por el activador (Figura 7. a). Además, una de las premisas de este modelo es que la difusividad de las dos sustancias es diferente: el activador difunde lentamente y sólo en distancias cortas, mientras que el inhibidor se difunde rápidamente y tiene un gran alcance (Müller, 1997).

El activador amplifica pequeñas fluctuaciones aleatorias para formar un máximo de concentración local, que posteriormente conduce a la activación del inhibidor. A continuación, el inhibidor amortigua el aumento de concentración del activador. La mayor difusividad del inhibidor también permite que crezcan los picos incipientes del activador al "desviar" las moléculas inhibidoras de la región del pico. Fuera del rango de inhibición lateral, puede surgir otro pico activador que conduzca a la aparición secuencial de un determinado patrón periódico estacionario (Figura 7. b) (Landge *et al.*, 2020).

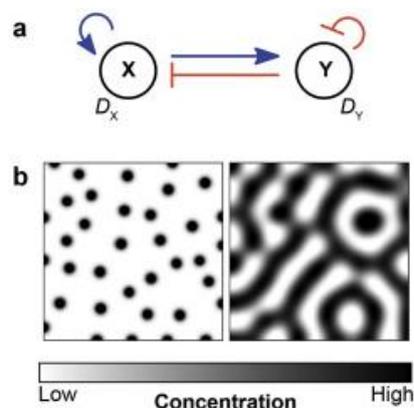


Figura 7. a) Modelo de activación-inhibición de Turing propuesto por Gierer y Meinhard en el que el activador X promueve la producción de sí mismo y del inhibidor Y, mientras que el inhibidor restringe la producción del activador y de sí mismo. b) Posibles patrones que podrían producirse gracias a este modelo en función de la concentración del activador. Imagen obtenida de Landge *et al.*, 2020.

Una de las ventajas de este modelo es que es altamente maleable, capaz de generar un gran abanico de patrones. Sin embargo, la escasa estabilidad de la dinámica de autoorganización difícilmente es compatible con la reproducibilidad y la orientación conservada de los patrones periódicos (Haupaix *et al.*, 2020).

MODELO DE TURING BASADO EN EL NÚCLEO (KERNEL)

A diferencia de los otros dos modelos anteriores, el modelo de Turing basado en el núcleo no asume ningún mecanismo de moléculas o células, sino que utiliza directamente un núcleo de activación-inhibición (Kondo, 2017). Este modelo asume que la concentración local de una molécula en un tejido depende de las señales de activación e inhibición netas recibidas de las células cercanas (Landge *et al.*, 2020). Este modelo no es más que una transformación del modelo de reacción-difusión de Turing para evitar suponer un acontecimiento molecular o celular en concreto.

La principal ventaja de este modelo es que puede generar variaciones estándar de los patrones dimensionales estables (rayas, manchas y redes) y patrones más complejos que eran difíciles de generar con los modelos matemáticos convencionales (Miyazawa *et al.*, 2021). Por el contrario, debido a su naturaleza abstracta, este modelo no puede predecir los procesos celulares o moleculares detallados involucrados en la formación del patrón (Kondo, 2017).

MODELO BASADO EN EL AGENTE

Este último modelo propone que los diferentes patrones se generan gracias a las propiedades de agentes individuales (individuos, células...) y a las interacciones entre agentes y/o entre los agentes y los campos (Miyazawa *et al.*, 2021). Este modelo fue utilizado por diversos autores para explicar en concreto la formación de patrones pigmentarios en el pez cebra (*Danio rerio*). Lo que se propone es que los melanóforos, los xantóforos y los iridióforos se modelan como agentes independientes que interactúan para la migración, la diferenciación y la muerte (Figura 8). Se tienen en cuenta tanto la comunicación celular de corto alcance potencialmente regulada por las dendritas, como las interacciones de largo alcance que pueden estar gobernadas por extensiones de pseudópodos (Volkening *et al.*, 2015). En conclusión, gracias a este modelo se pudo explicar la formación de patrones pigmentarios en la superficie corporal del pez cebra debido a las interacciones entre los diferentes tipos de cromatóforos, que serían consideradas como agentes independientes.

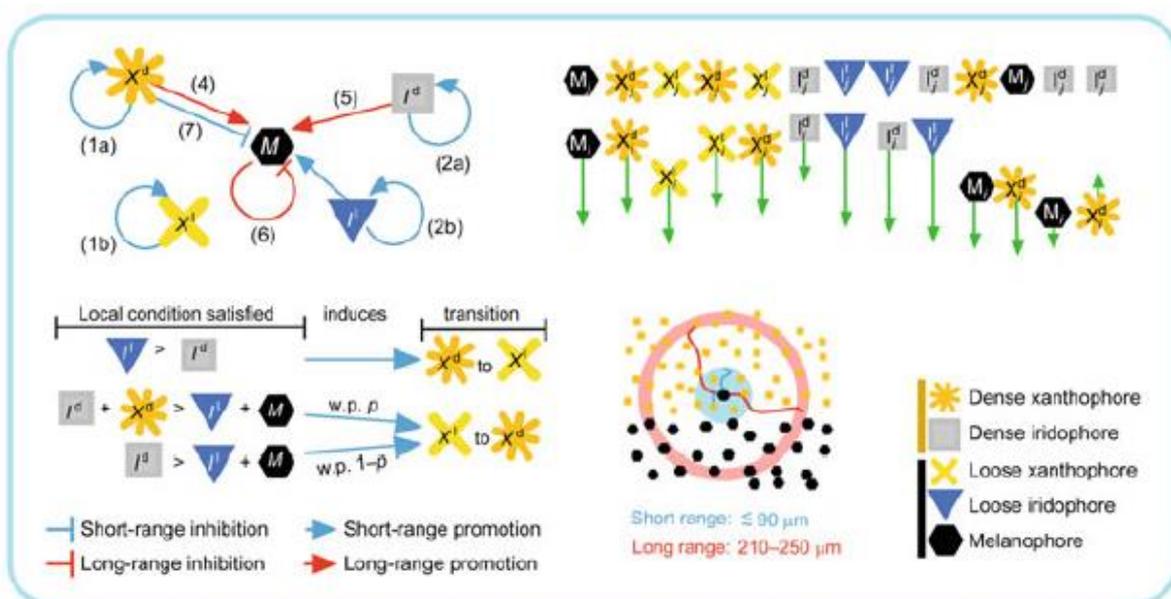


Figura 8. Posibles interacciones entre los diferentes cromatóforos presentes en el pez cebra (melanóforos, iridióforos y xantóforos) que determinan el patrón pigmentario de su superficie corporal. Imagen modificada de Miyazawa *et al.*, 2021.

Este modelo es fácil de usar para los biólogos experimentales, ya que permiten describir reglas específicas para cada agente discreto. Esto permite comprender con facilidad cómo estas reglas se corresponden con los experimentos en organismos reales (Miyazawa *et al.*, 2021).

4.2 MODELO DE ACTIVACIÓN-INHIBICIÓN APLICADO A PATRONES DEL PELAJE

Un ejemplo de patrón pigmentario muy conocido es el del guepardo (*Acinonyx jubatus*, Figura 9. a), que presenta un pelaje con motas oscuras sobre un fondo claro. Si embargo, una rara variante encontrada en el Sur de África, los guepardos rey (Figura 9. b), exhiben un fenotipo raro, en el cual las manchas se fusionan para formar múltiples franjas negras en su superficie corporal dorsal.

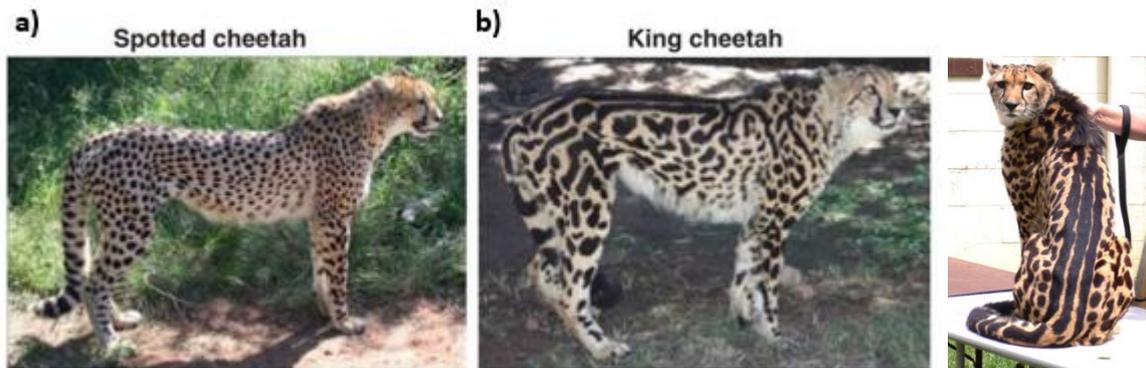


Figura 9. a) Imagen del Guepardo común, el cual presenta un fenotipo moteado. b) Imágenes del Guepardo rey, el cual presenta un fenotipo raro en el que las manchas se fusionan en franjas. Figura realizada a partir de imágenes obtenidas del artículo de Kaelin *et al.* 2012 y flickr.com.

Este cambio en el fenotipo de los guepardos es debido a una mutación en el gen *Taqpep*, el cual es el responsable de establecer el patrón previo periódico durante el desarrollo de la piel. Este patrón previo, posteriormente, se implementa gracias a la expresión diferencial de *Edn3* (Kaelin *et al.*, 2012).

Este modelo propone que una deficiencia en la expresión previa del gen *Taqpep* establece la periodicidad de las marcas atigradas del guepardo rey durante el desarrollo embrionario de la piel. Este gen, cuando se expresa de la forma correcta, determina la posición que van a ocupar las manchas en la piel del guepardo (Figura 10. a). Posteriormente, las células mesenquimales sintetizan *End3*, un factor paracrino que promueve la diferenciación y proliferación de los melanocitos y otros derivados de la cresta neural. En consecuencia, en las manchas oscuras de los guepardos va a haber una concentración elevada de este factor mientras que, en zonas donde el pelaje es más claro, la concentración de *End3* será menor (Figura 10. b) (Kaelin *et al.*, 2012).

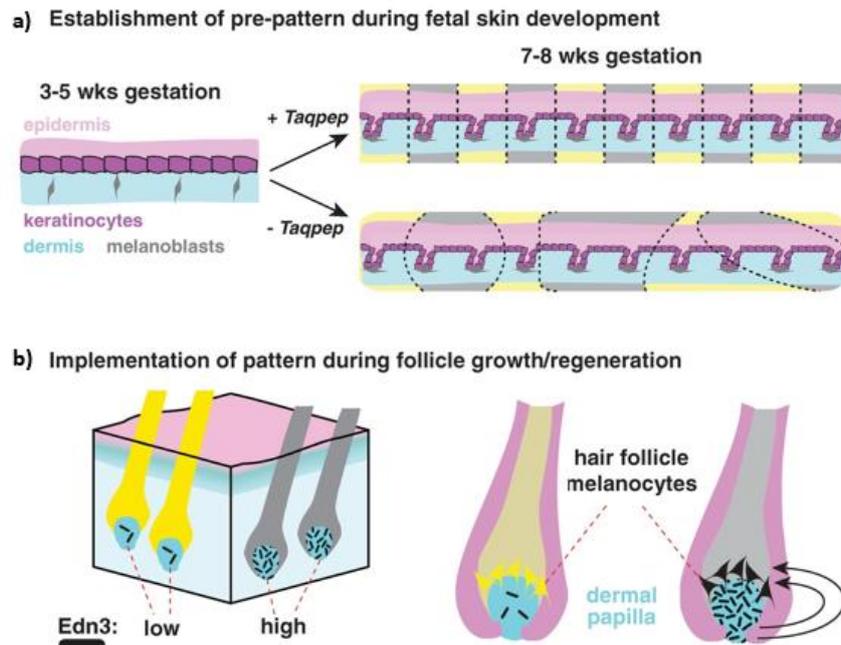


Figura 10. a) Establecimiento de un patrón atigrado antes o durante el desarrollo del folículo piloso. En ausencia del gen *Taqpep*, las regiones oscuras (en gris) se expanden y hay una menor periodicidad. b) La identidad regional se manifiesta e implementa mediante la expresión diferencial de *Edn3* en la papila dérmica. Los pigmentos amarillo y negro son sintetizados por los melanocitos en los folículos pilosos que producen niveles bajos y altos de *Edn3*, respectivamente. Imagen obtenida de Kaelin *et al.*, 2012.

Lo descrito anteriormente únicamente nos indica cómo se puede producir un pre-patrón pigmentario y cómo se produce el color en los folículos pilosos, pero ¿cómo se determinan las zonas claras y oscuras y, consecuentemente, la expresión diferencial de endotelina 3? Parece ser que las zonas claras y oscuras se determinan durante el desarrollo del folículo piloso o incluso antes. Antes de la diferenciación de la epidermis y de los folículos pilosos se pueden diferenciar zonas de la epidermis gruesas y finas (Figura 11). Posteriormente, estas diferencias en grosor marcarán las zonas claras (zonas delgadas) y oscuras (zonas gruesas) (Kaelin *et al.*, 2021).

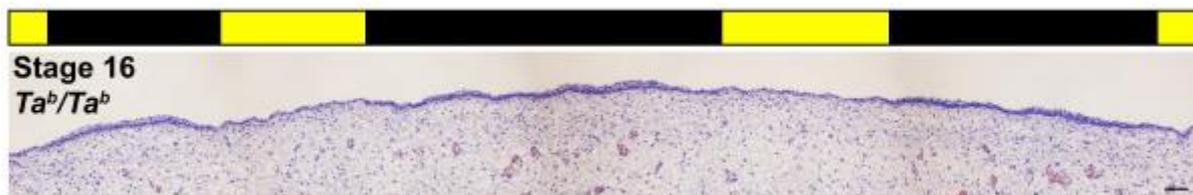


Figura 11. Mapa topológico basado en la histología de la piel de un felino con franjas oscuras anchas en la etapa 16 del desarrollo embrionario, las zonas de la piel con la epidermis más delgada serán claras y las más gruesas serán oscuras. Imagen modificada de Kaelin *et al.*, 2021.

Este proceso puede explicarse gracias al modelo de activación-inhibición expuesto anteriormente, en el cual *Wnt* y *Dkk* actuarían como factores activador e inhibidor respectivamente (Figura 12) (Kaelin *et al.*, 2021). El activador *Wnt* va a determinar aquellas zonas de la epidermis que son más finas, por lo tanto, serán zonas en las que *End3* se exprese en bajas concentraciones y se produzca

como resultado un fenotipo claro en esas zonas. La presencia de este activador de corto alcance hará que comience a expresarse el inhibidor Dkk, el cual hará que la concentración del activador baje y difundirá hacia zonas vecinas alejadas, ya que es una molécula de alta difusividad y de largo alcance. Las zonas de la epidermis que se encuentren en el rango de difusión de este inhibidor serán gruesas y End3 se expresará en altas concentraciones, produciéndose así las franjas oscuras. Fuera del rango de difusión del inhibidor puede producirse otro pico del activador Wnt, que dará como resultado zonas de epidermis más delgadas, por lo que serán de un color claro. Si esto se repite múltiples veces se puede observar un patrón pigmentario característico claro-oscuro.

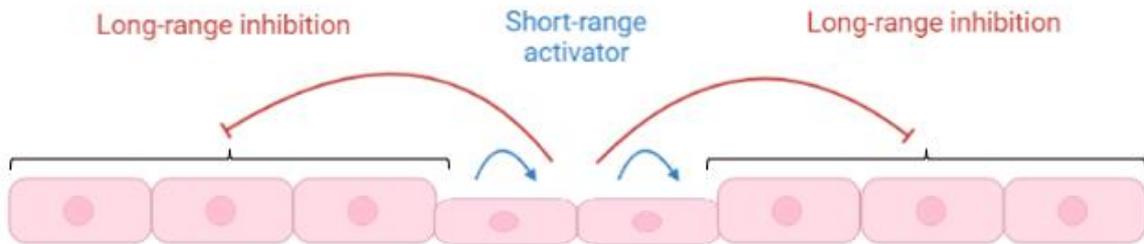


Figura 12. Modelo de activación-inhibición para el establecimiento del patrón de color en la epidermis basal donde los componentes de la vía Wnt participan tanto en la activación de corto alcance como en la inhibición de largo alcance. Imagen de elaboración propia tomando como referencia el artículo de Kaelin *et al.*, 2021.

Por todo lo mencionado anteriormente, parece ser la interacción entre el activador Wnt y el inhibidor Dkk es la que establece el patrón de pigmentación en la epidermis de los mamíferos durante el desarrollo embrionario. Posteriormente, el gen *Taqpep* determinará la orientación del folículo piloso y el factor paracrino End3 determinará la producción de eumelanina y feomelanina y, en consecuencia, la aparición del fenotipo oscuro o claro respectivamente.

5. CONCLUSIONES

Ninguno de los modelos propuestos hasta la fecha está libre de errores. Sin embargo, parece que el modelo que mejor explica la formación de patrones pigmentarios en el pelaje de los mamíferos es el modelo de activación-inhibición propuesto por Gierer y Meinhardt (Gierer *et al.*, 1972). Este modelo utiliza sólo dos componentes (un activador y un inhibidor) para explicar el origen de múltiples patrones simples. Cuando se añaden más componentes, este modelo también es capaz de explicar patrones más complejos. El primer modelo de reacción-difusión propuesto por Turing (Turing, 1952) sentó las bases para que Gierer y Meinhardt establecieran posteriormente su modelo. Por lo tanto, no hay que olvidar el primer modelo de Turing, ya que todos los modelos posteriores no son más que derivados más elaborados o específicos del mismo, pero basados en el mismo fundamento teórico.

En biología, existen muchos otros modelos como, por ejemplo: la formación de los dígitos de los tetrápodos, los órganos sensoriales de los insectos, la formación de las colonias de cianobacterias o el desarrollo vascular y la filotaxis en las plantas (Hearn, 2019; Schweisguth *et al.*, 2019). De ahí que

el establecimiento de modelos teóricos de formación de patrones sea esencial para entender las diferencias entre estos procesos.

Los patrones de pigmentación de los animales de laboratorio, como el ratón o el pez cebra, se comprenden y estudian mejor debido a la simplicidad en la obtención y mantenimiento de las muestras biológicas. Sin embargo, en animales salvajes que presentan patrones pigmentarios muy característicos como la cebra, el guepardo o el tigre, este mismo estudio es más complejo. Las elevadas restricciones a la hora de acceder a estos animales hacen que los estudios genéticos o experimentales sean limitados. Por este motivo, muchos autores se basan en los procesos implicados en la producción de estos patrones a partir de animales de laboratorio. Esto les permite explicar los mecanismos que subyacen a la generación de esos patrones presentes en los grandes mamíferos salvajes.

CONCLUSIONES

Ningún dos modelos propostos ata a data está libre de erros. Porén, parece que o modelo que mellor explica a formación de patróns de pigmentos na pelaxe de mamíferos é o modelo de activación-inhibición proposto por Gierer e Meinhardt (Gierer *et al.*, 1972). Este modelo usa só dous compoñentes (un activador e un inhibidor) para explicar a orixe de múltiples patróns simples. Cando se engaden máis compoñentes, este modelo tamén é capaz de explicar patróns máis complexos. O primeiro modelo de reacción-difusión proposto por Turing (Turing, 1952) sentou as bases para que Gierer e Meinhardt establezan posteriormente o seu modelo. Polo tanto, non debemos esquecer o primeiro modelo de Turing, xa que todos os modelos posteriores non son máis que derivados máis elaborados o específicos do mesmo, pero baseados no mesmo fundamento teórico.

En bioloxía, existen moitos outros modelos, como: a formación dos dedos dos tetrápodos, os órganos sensoriais dos insectos, a formación de colonias de cianobacterias ou o desenvolvemento vascular e a filotaxia nas plantas (Hearn, 2019; Schweisguth *et al.*, 2019). Polo tanto, o establecemento de modelos teóricos de formación de patróns é esencial para comprender as diferenzas entre estes procesos.

Os patróns de pigmentación dos animais de laboratorio, como o rato ou o peixe cebra, son mellor entendidos e estudados pola simplicidade na obtención e mantemento de mostras biolóxicas. Porén, en animais salvaxes que presentan patróns pigmentarios moi característicos como a cebra, o guepardo ou o tigre, este mesmo estudo é máis complexo. As altas restricións ao acceder a estes animais fan que os estudos xenéticos ou experimentais sexan limitados. Por este motivo, moitos autores confían nos procesos implicados na produción destes patróns a partir de animais de laboratorio. Isto permítelles explicar os mecanismos que subxacen na xeración destes patróns presentes nos grandes mamíferos salvaxes.

CONCLUSIONS

None of the models proposed to date are free of errors. However, it seems that the model that best explains the formation of pigmentary patterns in the mammalian coat is the activation-inhibition model proposed by Gierer and Meinhardt (Gierer *et al.*, 1972). This model uses only two components (an activator and an inhibitor) to explain the origin of multiple simple patterns. When more components are added, this model is also capable to explain more complex patterns. The first reaction-diffusion model proposed by Turing (Turing, 1952) laid the foundations for Gierer and Meinhardt to later establish their model. Therefore, the first Turing model should not be forgotten since all subsequent models are merely more elaborate or specific derivatives of it but based on the same theoretical foundation.

In biology, there are many other patterns, such as: the formation of tetrapod digits, insect sensory organs, the formation of cyanobacterial colonies or vascular development and phyllotaxis in plants (Hearn, 2019; Schweisguth *et al.*, 2019). Hence, the establishment of theoretical models of pattern formation is essential to understand the differences among these processes.

Pigment patterns from laboratory animals, such as mouse or zebrafish, are better understood and studied because of the simplicity in obtaining and maintaining biological samples. However, in wild animals that present very characteristic pigmentary patterns such as zebra, cheetah or tiger, this same study is more complex. The high restrictions when trying to reach these animals mean that genetic or experimental studies are limited. For this reason, many authors rely on the processes involved in the production of these patterns from laboratory animals. This allows them to explain the mechanisms underlying the generation of those patterns present in large wild mammals.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Amat, H. A., & Rendón, M. A. (2017). Flamingo Coloration and Its Significance. In M. J. Anderson (Ed.), *Flamingos: Behavior, Biology, and Relationship with Humans* (pp. 77–95). *Nova Science Publishers*; New York.
- Arnheiter, H., & Debbache, J. (2021). Development of Melanin-Bearing Pigment Cells in Birds and Mammals. In *Pigments, Pigment Cells and Pigment Patterns* (pp. 185–208). *Springer Nature Singapore*; Singapore.
- Carlson, B. M. (2000). *Embriología Humana y Biología del Desarrollo* (2nd ed.). *Harcourt*; Madrid, España; 535 pp.
- Caro, T. (2005). The adaptative significance of coloration in mammals. *BioScience*, *55*(2), 125–136.
- Cooper, C. D., & Raible, D. W. (2009). Mechanisms for reaching the differentiated state: Insights from neural crest-derived melanocytes. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, *20*(1), 105–110.
- Gierer, A., & Meinhardt, H. (1972). A theory of biological pattern formation. *Kybernetik*, *12*(1), 30–39.
- Gilbert, S. F. (2014). *Developmental Biology* (A. Aquadro, Ed.; 10th ed.). *Sinauer Associates, Inc.*; Sunderland, Massachusetts; 719 pp.
- Haupaix, N., & Manceau, M. (2020). The embryonic origin of periodic color patterns. *Developmental Biology*, *460*(1), 70–76.
- Kaelin, C. B., McGowan, K. A., & Barsh, G. S. (2021). Developmental genetics of color pattern establishment in cats. *Nature Communications*, *12*(1).
- Kaelin, C. B., Xu, X., Hong, L. Z., David, V. A., McGowan, K. A., Schmidt-Küntzel, A., Roelke, M. E., Pino, J., Pontius, J., Cooper, G. M., Manuel, H., Swanson, W. F., Marker, L., Harper, C. K., van Dyk, A., Yue, B., Mullikin, J. C., Warren, W. C., Eizirik, E., ... Menotti-Raymond, M. (2012). Specifying and sustaining pigmentation patterns in domestic and wild cats. *Science*, *337*(6101), 1536–1541.
- Kelsh, R. N., Harris, M. L., Colanesi, S., & Erickson, C. A. (2009). Stripes and belly-spots - A review of pigment cell morphogenesis in vertebrates. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, *20*(1), 90–104.
- Kondo, S. (2017). An updated kernel-based Turing model for studying the mechanisms of biological pattern formation. *Journal of Theoretical Biology*, *414*, 120–127.
- Landge, A. N., Jordan, B. M., Diego, X., & Müller, P. (2020). Pattern formation mechanisms of self-organizing reaction-diffusion systems. *Developmental Biology*, *460*(1), 2–11.

- Marques, S. M., & Esteves da Silva, J. C. G. (2009). Firefly bioluminescence: A mechanistic approach of luciferase catalyzed reactions. *IUBMB Life*, *61*(1), 6–17.
- Mills, M. G., & Patterson, L. B. (2009). Not just black and white: Pigment pattern development and evolution in vertebrates. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, *20*(1), 72–81.
- Miyazawa, S., Watanabe, M., & Kondo, S. (2021). Theoretical Studies of Pigment Pattern Formation. In *Pigments, Pigment Cells and Pigment Patterns* (pp. 293–308). *Springer Nature Singapore*; Singapore.
- Moreiras, H., Seabra, M. C., & Barral, D. C. (2021). Melanin transfer in the epidermis: The pursuit of skin pigmentation control mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(9).
- Müller, W. A. (1997). *Developmental Biology*. Springer-Verlag; New York; 328 pp.
- Nasti, T. H., & Timares, L. (2015). MC1R, eumelanin and pheomelanin: Their role in determining the susceptibility to skin cancer. *Photochemistry and Photobiology*, *91*(1), 188–200.
- Paitio, J., & Oba, Y. (2021). Bioluminescence and Pigments. In *Pigments, Pigment Cells and Pigment Patterns* (pp. 149–181). *Springer Nature Singapore*; Singapore.
- 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.
- Volkening, A., & Sandstede, B. (2015). Modelling stripe formation in zebrafish: an agent-based approach. *Journal of The Royal Society Interface*, *12*(112).
- Wakamatsu, K., & Ito, S. (2021). Melanins in Vertebrates. In *Pigments, Pigment Cells and Pigment Patterns* (pp. 45–90). *Springer Nature Singapore*; Singapore.
- Weiner, L., Fu, W., Chirico, W. J., & Brissette, J. L. (2014). Skin as a living coloring book: How epithelial cells create patterns of pigmentation. *Pigment Cell and Melanoma Research*, *27*(6), 1014–1031.
- Weiner, L., Han, R., Scicchitano, B. M., Li, J., Hasegawa, K., Grossi, M., Lee, D., & Brissette, J. L. (2007). Dedicated epithelial recipient cells determine pigmentation patterns. *Cell Press*, *130*(5), 932–942.
- Wu, X., & Hammer, J. A. (2014). Melanosome transfer: it is best to give and receive. *Current Opinion in Cell Biology*, *29*, 1–7.
- Yoshioka, S., & Akiyama, T. (2021). Mechanisms of Feather Structural Coloration and Pattern Formation in Birds. In *Pigments, Pigment Cells and Pigment Patterns* (pp. 343–366). *Springer Nature Singapore*; Singapore.