



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE CIENCIAS INSTITUTO DE FÍSICA

**Circuitos de regulación genética asociados con la
diferenciación celular jerárquica: exploración en
modelos de sistemas biológicos**

TESIS

***QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO
EN CIENCIAS INTERDISCIPLINARIAS***

Presenta:

Adrián Chárbel Guerrero Vaca

Director de tesis: Dr. Carlos Arturo Espinosa Soto

Sinodales:

Dr. Edgardo Ugalde Saldaña
Dr. Roberto Sánchez Olea
Dr. Jesús Hernández Monge



Circuitos de regulación genética asociados con la diferenciación celular jerárquica: exploración en modelos de sistemas biológicos © 2026 by Adrián Chárbel Guerrero Vaca is licensed under CC BY-NC-ND 4.0. To view a copy of this license, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

*If you will stay close to
nature, to its simplicity, to
the small things hardly
noticeable, those things can
unexpectedly become great
and immeasurable.*

*Rilke, R. M. (1929). Letters
to a Young Poet.*

Resumen

La diferenciación celular es un proceso que llevan a cabo los organismos eucariotas multicelulares, el cual permite que alcancen un nivel de organización complejo y que puedan llevar a cabo las distintas funciones que necesitan. Debido al gran número de factores que intervienen en este proceso y a que su explicación implica estudiar también su evolución, aún hay muchas preguntas que faltan por responderse sobre este mecanismo (Roy y Kundu, 2014). Recientemente, se han explicado ciertas cuestiones en lo que respecta a evolución y desarrollo de los seres vivos, gracias al estudio de las redes de regulación genética. Estas redes, dinámicas por naturaleza, han ayudado a entender cómo es que, a pesar de que en esencia todas las células de un organismo tienen los mismos genes, se llega a la construcción de un organismo diferenciado y con un fenotipo único (Wuensche, 1998).

En las redes de regulación genética existen ciertos estados estables de actividad genética, llamados atractores, que pueden corresponder con los distintos tipos celulares que existen en algún organismo (Wuensche, 2002). A partir de los atractores de una red de regulación genética se pueden construir “redes de diferenciación”, las cuales contienen los atractores de la red (nodos) y las posibles transiciones que existen entre ellos (interacciones), a partir de someterlos a perturbaciones. Construir y analizar estas redes de diferenciación puede responder preguntas acerca de los caminos específicos que siguen los organismos en su desarrollo, así como explicar el verdadero potencial de especialización de distintos tipos celulares (Wagner y Klein, 2020). Además, podría explicar por qué siempre o no se cumplen de lleno las rutas de los árboles de diferenciación, es decir, cuándo suceden eventos de desdiferenciación o caminos del desarrollo distintos a los que se observan usualmente en los organismos y por qué (Gordon y Gordon, 2019).

En este proyecto estudié algunas propiedades estructurales de redes de diferenciación obtenidas a partir de redes de regulación genética, utilizando simulación en computadora. Intenté responder por qué los procesos del desarrollo siguen las rutas características que se observan en la naturaleza y si las redes que corresponden a sistemas biológicos muestran propiedades estructurales diferentes en comparación a redes aleatorias. A su vez, el obtener un modelo de redes de diferenciación que permita conocer las razones detrás del potencial del desarrollo de los distintos tipos celulares puede ser un punto de partida fundamental para comprender mejor cómo evoluciona el desarrollo en los organismos (Kishi y Parker, 2021; Parker, 2024).

Para lograr todo esto, recopilé más de 50 modelos de redes regulación genética del desarrollo, incluyendo modelos dinámicos con reglas lógicas y modelos estáticos. Realizado esto, para cada uno de los modelos dinámicos, obtuve su respectiva red de diferenciación celular y medí algunas de sus propiedades estructurales. La construcción de las redes de diferenciación estuvo limitada por qué tan fielmente los modelos originales representan los procesos reales y por las suposiciones de este enfoque que me obligaron a descartar múltiples modelos. Por lo tanto, los resultados que se presentan a continuación respecto a esa parte del trabajo deben ser tomados precavidamente. Entonces, busqué atributos topológicos en los modelos estáticos de redes de regulación genética que estuvieran relacionados con su tendencia a formar redes de diferenciación jerárquicas, una condición que aquí llamaré *identidad jerárquica*. Puedo destacar que en más de la mitad de modelos dinámicos estudiados, las redes de diferenciación celular presentan un comportamiento jerárquico. Asimismo, al ponderar la probabilidad de transiciones entre los atractores de las redes, encuentro que existe una tendencia a que ocurran de manera que las redes sean jerárquicas. Además, al explorar la topología de todos los modelos seleccionados encontré que las redes en la naturaleza presentan estos atributos con mayor frecuencia de manera significativa respecto a muestreos de redes aleatorias. Esto lleva a pensar que la presencia de *identidad jerárquica* en las redes de regulación genética de diferenciación celular es un patrón estructural relevante para dictaminar si los caminos de diferenciación son irreversibles o no. Sin embargo, dadas las limitaciones que se describen más adelante, aún quedan incógnitas que responder respecto a por qué los organismos conservan y favorecen estas estructuras, así como abordar algunos problemas que detecté, lo que permitiría pulir este enfoque. Los resultados del análisis topológico de las redes de regulación genética están siendo utilizados para la elaboración de un artículo, actualmente en preparación (Meraz-Segura *et al.*, 2026).

Índice

1. Introducción	11
1.1. Avances experimentales	13
1.2. Avances teóricos	14
1.3. Árboles de diferenciación, irreversibilidad y la metáfora más popular de la biología del desarrollo	15
1.4. Redes de regulación genética	17
1.4.1. Componentes de las redes de regulación genética, grados de conectividad y matriz genotípica	17
1.4.2. Propiedades de las redes de regulación genética	20
1.4.3. Usos de las redes de regulación genética	21
1.5. Redes de regulación genética en procesos del desarrollo	21
1.5.1. Patrones topológicos identificados en las redes de regulación genética del desarrollo	22
1.5.2. Pertinencia	24
1.6. Redes booleanas aleatorias	24
1.6.1. Estado y actualización de una red	25
1.6.2. Atractores y cuencas de atracción	27
1.6.3. Tipos de redes booleanas en base al esquema de actualización que utilizan . . .	28
1.6.4. Propiedades de las redes de regulación genética booleanas	29
1.6.5. Redes booleanas para estudiar la diferenciación celular y el desarrollo	30
1.7. Las redes de diferenciación jerárquicas se originan a partir de redes de regulación genética con identidad jerárquica	31
2. Objetivos	37
3. Metodología	39
3.1. Recopilación y obtención de modelos lógicos booleanos de redes de regulación genética del desarrollo	39
3.2. Creación de redes de diferenciación	40
3.2.1. Búsqueda de los atractores de las redes	40
3.2.2. Perturbación de los atractores para determinar sus transiciones y construcción de redes de diferenciación	41
3.2.3. Ponderación de las redes de diferenciación	44
3.3. Definición y evaluación de la jerarquía en redes de diferenciación	45
3.3.1. Condensación y división en capas de una red	45
3.3.2. Coordenadas y morfoespacio jerárquico	48
3.4. Reconocimiento y cuantificación de atributos topológicos que establecen la <i>identidad jerárquica</i> en modelos de GRN del desarrollo	53
3.4.1. Recopilación y obtención de modelos estáticos de redes de regulación genética del desarrollo	55

3.4.2.	Muestreo de redes topológicamente aleatorias con las mismas características estructurales que las originales	56
3.4.3.	Medición de patrones objetivo en las GRN del desarrollo que cuentan con topología definida	57
4.	Resultados	59
4.1.	Las redes de diferenciación celular son jerárquicas	59
4.1.1.	La proporción de redes de diferenciación estructuralmente jerárquicas supera a las no jerárquicas	61
4.1.2.	Las redes de diferenciación efectivas son estructuralmente jerárquicas	64
4.2.	Los atributos topológicos que definen la <i>identidad jerárquica</i> están presentes en las redes de regulación genética del desarrollo	66
4.2.1.	Los circuitos de retroalimentación positiva abundan en las GRN naturales que controlan el desarrollo	66
4.2.2.	Circuitos de retroalimentación positiva de la misma clase se acumulan en las GRN de manera independiente	69
4.2.3.	Las GRN presentan un perfil mucho más similar a la <i>identidad jerárquica ideal</i>	74
5.	Discusión	77
6.	Perspectivas	81
7.	Apéndice	107
7.1.	Las redes de diferenciación celular exhiben una estructura jerárquica	107
7.2.	La identidad jerárquica está presente en las redes de regulación genética del desarrollo	111

Índice de figuras

1. **Grados de potencia celular.** De izquierda a derecha: En los primeros días del desarrollo, el cigoto se divide y las células son capaces de diferenciarse en todos los tipos celulares que forman un organismo completo, incluyendo células extraembrionarias de la placenta, por lo que son totipotenciales (zona verde). Al pasar 5-6 días, la totipotencialidad se pierde al formarse el blastocisto, que consta de la masa celular interna —células en la zona interior del blastocisto—, trofoectodermo —células alrededor del blastocisto—, y blastocele —cavidad con líquido interno que sostiene a la masa celular interna—. La potencia celular disminuye dado que las células pueden generar todos los tejidos de un organismo, pero ya no pueden generar células extraembrionarias, por lo que en este punto son pluripotenciales (zona amarilla). Posteriormente, la masa celular interna da lugar al hipoblasto y epiblasto. De este último surgen las tres capas germinales que forman el organismo tras la gastrulación: endodermo, mesodermo y ectodermo. Tras esto, las células quedan restringidas a producir tipos celulares de su capa germinal, por lo que son multipotenciales (zona naranja). Finalmente, en el último nivel de potencia, células madre progenitoras son capaces de especializarse en un único tipo celular, fundamental para la renovación y reparación de los tejidos (zona roja). 12
2. **Segmentación en *D. melanogaster*.** De arriba a abajo: un gradiente de expresión de los mRNA y proteínas maternas controla la actividad de los genes *gap*, por los que el embrión se divide en distintas franjas superpuestas. La combinación específica de estos genes determina la actividad de los genes *pair-rule*, que compartimentalizan al embrión en 14 parasegmentos transversales. Finalmente, cada uno de estos segmentos expresa un patrón de expresión específico que corresponde a la región anterior o posterior de los mismos, lo cual está controlado por los genes *segment polarity*. 13
3. **Árbol de diferenciación de células madre hematopoyéticas.** A partir de células madre hematopoyéticas se generan las distintas células sanguíneas existentes. Figura recreada a partir de la que se encuentra en (Chulián *et al.*, 2022). HSC: células madre hematopoyéticas; MP: progenitor mielóide; LP: progenitor linfóide; Ery: eritrocitos; Mye: mielocitos; Lym: linfocitos; NK: células asesinas naturales; Mno: monocitos, Bso: basófilos; Neu: neutrófilos; Eos: eosinófilos; Thr: trombocitos, T: linfocitos T; B: linfocitos B. 15
4. **Paisaje epigenético de Waddington.** (A) Representación abstracta del paisaje original (Waddington, 1957). (B) Interpretación reimaginada como un árbol de diferenciación. PSC: célula madre pluripotencial; MSC: célula madre multipotencial; CT: tipo celular. 16
5. **Redes de regulación genética.** Las interacciones entre genes o productos de genes constituyen las redes. Las regulaciones pueden ocurrir en cualquiera de los niveles en que ocurre la expresión genética (DNA, RNA o proteínas). Los arcos verdes indican activación o regulación positiva, los arcos rojos inhibición o regulación negativa. . . . 18
6. **Tipo de componentes que tienen las redes de regulación genética.** Esta red contiene 13 genes, 16 regulaciones en total, de las cuales 10 son positivas y 6 negativas. Obsérvese que el gen *K* tiene $k_{in} = 2$ y $k_{out} = 3$ (arcos discontinuos de la red). Nótese la presencia de *inputs* (triángulos blancos), *outputs* (pentágonos rojos) y *genes hub* (círculos azules). 19
7. **Matriz genotípica de una red de regulación genética.** Cada una de las filas contiene las regulaciones que ejerce el gen correspondiente, mientras que en las columnas están las regulaciones que se dirigen a esos respectivos genes. Por ejemplo, la entrada a_{AD} indica que el gen A regula al gen D, y la entrada a_{CA} señala que el gen C regula al gen A. Esta matriz representa todas las regulaciones que dan forma a la topología de la red. 20

8.	Las GRN involucradas en la segmentación de <i>D. melanogaster</i>. (A). GRN controlando la interacción de genes <i>gap</i> al inicio del proceso. Figura basada en el modelo reportado en (Sánchez y Thieffry, 2001). (B) GRN controlando la interacción de genes <i>pair-rule</i> durante el transcurso del proceso. Figura basada en el modelo reportado en (Sánchez y Thieffry, 2003). (C) GRN controlando la interacción de genes <i>segment polarity</i> al final del proceso. Figura basada en el modelo reportado en (Albert y Othmer, 2003). Nótese cómo estas redes controlan el proceso descrito en la figura 2.	22
9.	Circuitos de retroalimentación identificados en distintas GRN del desarrollo. (A) Circuito interruptor de palanca clásico controlando la hematopoyesis. Reportado en (Rhodes <i>et al.</i> , 2005). (B) Circuito de retroalimentación positiva en la diferenciación de la masa celular interna. Reportado en (Bessonnard <i>et al.</i> , 2014). (C) Circuito de retroalimentación negativa en la neurogénesis apical en erizo de mar. Reportado en (Feuda y Peter, 2022).	23
10.	Modelo de Graf-Enver. Un grupo de genes determinando un tipo celular tiende a estimular su propia actividad (región amarilla) y a inhibir la actividad de otro grupo de genes que definen a otro tipo celular (región rosa), y viceversa. Los genes que conforman el circuito principal de regulación regulan cascada abajo a múltiples genes objetivo que determinan el fenotipo a expresar. CRN: circuito principal de regulación (core regulatory network); TG: gen objetivo (target gene). Figura recreada a partir de la encontrada en (Graf y Enver, 2009).	24
11.	Estado de una red booleana (A) Representación de grafo. Cada nodo exhibe explícitamente el estado que expresa en un determinado momento, indicado por su color y el valor que contiene. (B) Representación sencilla. Las celdas negras indican activo, las celdas blancas inactivo.	25
12.	Actualización sincrónica de una red booleana. (A) Funciones lógicas que controlan la dinámica de la red a su derecha. (B). En un tiempo t , se evalúa cada uno de los nodos siguiendo sus reglas específicas y se determina su estado posterior x^{t+1} . Véase el ejemplo del nodo C , que depende de que esté activo o el nodo G o él mismo. Dado que en el momento t , G está activo, en el momento posterior $t + 1$, C estará activo. Este procedimiento se repite para cada uno de los nodos.	26
13.	Dos tipos de atractores (A) Atractor punto fijo. El estado posterior siempre será el mismo. (B). Atractor periódico de 5 estados. Los 5 estados oscilan continuamente entre ellos al progresar la dinámica de la red sin salida.	27
14.	Cuencas de atracción de una red booleana. (A) Cuenca de atracción (región verde) del atractor punto fijo de la figura 13A (zona sombreada en azul). Obsérvese como, partiendo de cualquier estado que se encuentre dentro de este espacio de estados, se llega al estado del atractor punto fijo inequívocamente y jamás saldrá de ahí la dinámica de la red. (B) Cuenca de atracción del atractor periódico de la figura 13B. Obsérvese cómo, al llegar a alguno de los tres estados que conforman el atractor (zona sombreada azul) a partir de cualquier otro estado que pertenece a su cuenca (región roja), los tres estados continuarán alternando entre estados eternamente.	28
15.	Los atractores corresponden a los tipos celulares observados en la naturaleza. (A) Tipos celulares que se originan en la determinación floral en <i>A. thaliana</i> . Inf1: células meristemáticas de inflorescencia; Sep: células primordiales del sépalo; Pe1,2: células primordiales del pétalo; St1,2: células primordiales del estambre; Car: células primordiales del carpelo. (B) Atractores de la red booleana del proceso anterior (Espinosa-Soto <i>et al.</i> , 2004), construida en base a datos experimentales. El estado de actividad de los genes en los atractores corresponde bastante bien con los patrones de expresión genética que presenta cada una de estas células. Los encabezados de las columnas muestran los genes que conforman la red.	31

16.	Patrones de regulación genética identificados en las GRN que producen redes de diferenciación jerárquicas.. (A) La <i>identidad jerárquica ideal</i> consiste en grupos de genes que se inhiben mutuamente, provocando una red de diferenciación perfectamente jerárquica. (B) Red de diferenciación celular resultante de la GRN de (A). Obsérvese cómo los estados de los genes de los atractores 2 y 3 son recíprocos (celdas a los costados de los nodos). (C) La <i>identidad jerárquica mínima</i> consiste en una activación de genes mutua, además de que alguno de ellos se autorregula positivamente. Esto provoca una red de diferenciación jerárquica simple, con una transición de un estado indiferenciado a uno maduro. (D) Red de diferenciación celular resultante de la GRN en (B). Nótese que los genes están inactivos en el atractor 1 y activos en el atractor 2.	33
17.	Modelo para construir redes de diferenciación celular. (A) Las señales extracelulares determinan si una célula se diferenciará o no, en el ejemplo se aprecia cómo influyen en la neurogénesis. Figura basada en la encontrada en (Lee <i>et al.</i> , 2024). NSC: células madre neuronales; DA: dopamina; 5-HT: 5-hidroxitriptamina, mejor conocida como serotonina. (B). Estrategia para obtener redes de diferenciación celular. Perturbo los estados estables del sistema gen por gen, con la intención de emular los mecanismos moleculares que influyen en la diferenciación celular, como ocurre en (A). Estas perturbaciones pueden provocar una transición a un estado estable distinto o no. . . .	43
18.	Ponderación de una red de diferenciación celular. (A). Red de diferenciación celular original. (B). Red de diferenciación celular ponderada. (C). Red de diferenciación celular efectiva.	44
19.	Las redes de diferenciación se condensan y posteriormente se evalúa su jerarquía. (A) Red de diferenciación celular original indicando a qué CFC pertenece cada uno de los atractores. (B). Red de diferenciación celular condensada. Nótese cómo el peso de CFC corresponde al número de atractores que aglomera.	46
20.	Determinación de capas y subredes de la red original. (A) Izquierda: Red de diferenciación condensada \mathcal{D}_C original. Obsérvese que los nodos maximales M están remarcados en guinda y los nodos minimales μ en cian. Derecha: Subredes que resultan de eliminar el primer conjunto de nodos maximales o minimales, según sea el caso. En este caso, con un solo paso basta para definir todas las subredes conectadas derivadas de la \mathcal{D}_C original. (B) Capas de la red de diferenciación celular en (A).	48
21.	Coordenadas que definen la jerarquía de una red. (A). Piramidalidad. (B) Progresividad. (C) Ordenabilidad.	51
22.	Jeraquía de una red. (A). Red perfectamente jerárquica ($\mathcal{T}, \mathcal{F}, \mathcal{O} = 1$). (B) Red perfectamente antijerárquica ($\mathcal{T} = -1, \mathcal{F}, \mathcal{O} = 1$). (C) Red no piramidal, más no nulamente jerárquica ($\mathcal{T} = 0, \mathcal{F}, \mathcal{O} = 1$).	52
23.	Autorregulaciones. (A) Autorregulación positiva. (B). Autorregulación negativa.	53
24.	Regulaciones mutuas simétricas y asimétricas. (A) Activaciones mutuas. (B). Inhibiciones mutuas. (C). Activación-inhibición.	54
25.	Tipos de C_3. (A). C_3 tipo I. (B). C_3 tipo II. (C). C_3 tipo III. (D) C_3 tipo IV.	55
26.	Muestreo de redes topológicamente aleatorias. (A) Red de regulación genética de origen. (B) Red aleatoria que comparte las características del modelo original.	56
27.	Red de diferenciación con 1 CFC. (A) Red de regulación genética de origen, proveniente de (Liquitaya-Montiel y Mendoza, 2018). Figura basada en el modelo reportado en la recién mencionada fuente. (B). Red de diferenciación de células asesinas naturales (NK). HSC: células madre hematopoyéticas; CMP: progenitores linfoides comunes; proB: progenitores de linfocitos B; ETP: progenitores tímicos tempranos; NK1: célula asesina natural 1; NK2: célula asesina natural 2; NK3: célula asesina natural 3. (C) Red de diferenciación celular condensada.	59

28.	Red de diferenciación con 2 CFC. (A) Red de regulación genética de origen, proveniente de (Herrmann <i>et al.</i> , 2012). Figura basada en el modelo reportado en la recién mencionada fuente. (B). Red de diferenciación celular en la determinación del campo cardiogénico en ratón. CSC: células madre cardíacas; FHF: campo cardiogénico primario; SHF: campo cardiogénico secundario. (C) Red de diferenciación celular condensada.	60
29.	Red de diferenciación con > 2 CFC. (A) Red de regulación genética de origen, proveniente de (Ríos <i>et al.</i> , 2015). Figura basada en el modelo reportado en la recién mencionada fuente. (B). Red de diferenciación celular en la determinación del sexo en humano. GSC: células madre germinales. Granulosa y Sertoli son células somáticas de soporte en la determinación sexual. (C) Red de diferenciación celular condensada.	61
30.	La proporción de redes de diferenciación estructuralmente jerárquicas supera a las no jerárquicas. (A) Histograma con todas las subcategorías. J: jerárquicos; NJ: nulamente jerárquicos; AJ: antijerárquicos. (B) Proporción de modelos jerárquicos, no jerárquicos y antijerárquicos.	63
31.	Las redes de diferenciación efectivas son estructuralmente jerárquicas. (A). Histograma de todas las subcategorías tras la ponderación de las redes. J: jerárquicos; NJ: nulamente jerárquicos; AJ: antijerárquicos. (B) Proporción de modelos jerárquicos, no jerárquicos y antijerárquicos tras la ponderación.	65
32.	Cantidad de autorregulaciones positivas en las redes representativas de sistemas biológicos y en las redes aleatorias. Este circuito está más presente en las redes de los sistemas biológicos que en las redes aleatorias.	67
33.	Cantidad de cada tipo de regulaciones simétricas en las redes de los sistemas biológicos y en las redes aleatorias. (A). Activaciones mutuas. (B) Inhibiciones mutuas. En ambos casos se encuentran más los circuitos en las redes de los sistemas biológicos que en las aleatorias.	68
34.	Cantidad de C_3 positivos (tipo I + tipo II) en las redes representativas de sistemas biológicos y en las redes aleatorias. Se encuentran en mayor abundancia en las redes de los sistemas biológicos en comparación del caso aleatorio.	69
35.	Todos los circuitos de retroalimentación positiva. Se encuentran en mucha mayor cantidad en las redes representativas de los sistemas biológicos en comparación a todos los circuitos de retroalimentación negativa.	70
36.	Grupos de patrones de retroalimentación positiva. (A) El grupo P consta de CRP que tienen puras activaciones. Aquí A_P : autorregulación positiva; M_P : activación mutua; T_P : C_3 tipo I. (B) El grupo N lo forman CRP que tienen al menos una inhibición. Aquí M_N : inhibición mutua; T_N : C_3 tipo II.	71
37.	Los patrones del Grupo P y el grupo N son más numerosos en las redes representativas de los sistemas biológicos en comparación a las redes aleatorias (A) Cantidad de patrones del grupo P en las redes representativas de sistemas biológicos y en las aleatorias. (B). Cantidad del grupo N en las redes representativas de sistemas biológicos y en las aleatorias.	72
38.	Ambos grupos (P y N) están necesariamente presentes. (A) Cantidad de patrones del grupo P y el grupo N enlazadas formando un par para cada red representativa y cada red aleatoria. (B) Elegí el peor elemento del par en cada caso para poder medir estadísticamente si existe una diferencia entre los conjuntos. Encontré que sí, aunque es pequeña.	73
39.	Patrones conjugados. Estos atributos topológicos constan de CRP combinados. Nótese cómo cada una de las topologías consta de un patrón del grupo P (genes verdes) y uno del grupo N (genes amarillos), con ambos patrones compartiendo un gen (genes azules destacados en su contorno).	74

40.	Los patrones conjugados aparecen en mayor abundancia en las redes representativas de sistemas biológicos que en las aleatorias. Los CRP combinados son más numerosos en los modelos biológicos que lo esperado en más de la mitad de las redes analizadas.	75
41.	Morfoespacio jerárquico con las redes de diferenciación celular tras realizar su análisis estructural. El punto rojo $\mathbf{u} = (0, 0, 0)$ representa las redes no jerárquicas de la categoría 1. La región naranja corresponde al espacio antijerárquico (categoría 3d), el plano verde $T = 0$ contiene a las redes de diferenciación de la categoría 2 y 3 que tienen el componente progresivo de la jerarquía. Finalmente, la región violeta corresponde al espacio jerárquico, donde se encuentran las redes de diferenciación de la categoría 3 que tienen el componente piramidal de la jerarquía.	108
42.	Morfoespacio jerárquico con las redes de diferenciación celular efectivas tras realizar su análisis estructural. El significado de las regiones y colores es el mismo que en la figura 30. Nótese cómo las redes de diferenciación de la categoría 1 se eliminan casi en su totalidad. La mayor parte de las redes de diferenciación se encuentran en la región que corresponde a una estructura jerárquica.	110
43.	Cantidad de autorregulaciones negativas en las redes representativas de sistemas biológicos y en las redes aleatorias. Este patrón de conectividad se encuentra en menor cantidad en las redes de los sistemas biológicos que en las aleatorias.	115
44.	Cantidad de regulaciones simétricas y asimétricas en las redes representativas de sistemas biológicos y en las redes aleatorias. (A) Regulaciones simétricas (activaciones mutuas + inhibiciones mutuas). Véase que se encuentran más en las redes de los sistemas biológicos que en las aleatorias. (B) Regulaciones asimétricas. Véase como las redes de los sistemas biológicos tienen menos este circuito que las redes aleatorias.	116
45.	Cantidad de los CRN (tipo III + tipo IV) en las redes representativas de sistemas biológicos y en las redes aleatorias. Estos circuitos se encuentran menos en las redes del desarrollo de los sistemas biológicos que en las redes aleatorias.	117
46.	Cantidad de cada tipo de C_3 en las redes representativas de sistemas biológicos y en las redes aleatorias. (A) C_3 tipo I, i.e., 0 regulaciones positivas. (B) C_3 tipo II, i.e., dos regulaciones negativas. (C) C_3 tipo III, i.e., 3 regulaciones negativas. (D) C_3 tipo IV, i.e., 1 regulación negativa. Obsérvese que los C_3 I y II son CRP, los C_3 III y IV son CRN. Los CRP se encuentran más en las redes de los sistemas biológicos. Los CRN se encuentran más en las redes del muestreo aleatorio.	118
47.	Todos los circuitos de retroalimentación negativa. Se encuentran en mucha menor cantidad en las redes representativas de los sistemas biológicos en comparación a todos los circuitos de retroalimentación negativa.	119
48.	Diferencia entre todos los circuitos de retroalimentación positiva y todos los circuitos de retroalimentación negativa. Además de la diferencia significativa entre las redes biológicas y las aleatorias, obsérvese como en las redes aleatorias la diferencia se concentra en 0.	120
49.	Patrones conjugados negativos. Aparecen en menor abundancia en las redes que controlan el desarrollo de los sistemas biológicos que en las aleatorias.	121

1. Introducción

Es bien sabido que, en general, en un organismo multicelular —salvo las células no nucleadas— casi todas las células contienen el mismo material genético (Alberts *et al.*, 2002). No sorprende entonces que aparezcan algunas de las preguntas clásicas de la biología evolutiva del desarrollo (evo-devo) a las que mucho tiempo se les ha dedicado con la intención de responderlas: ¿Cómo se forma un organismo con distintos niveles de organización, funciones altamente especializadas y amplia diversidad de estructuras específicas, así como múltiples tipos celulares conformándolas?

La diferenciación celular es un proceso clave que llevan a cabo todos los organismos eucariotas (y algunos procariotas) (Herskowitz, 1989; Loomis, 2015) en donde, a partir de una célula madre progenitora, se obtienen células hijas con un fenotipo distinto, la mayor parte de las veces más especializado (Slack, 2013). En la fase temprana de estos individuos, los múltiples procesos de diferenciación que se llevan a cabo para finalmente formar las estructuras que definirán su forma y funcionamiento, así como los componentes que los dirigen, representan el mecanismo central que permite el desarrollo y morfogénesis en los organismos multicelulares, dando lugar, a partir del cigoto, a la gran variedad de distintos tipos celulares conocidos y las estructuras (tejidos, órganos, etc.) que forman (Michod, 2007; Zeng, 2022).

Las células suelen clasificarse en cuatro grados de potencia celular (Schöler, 2007). Primero están las células **totipotenciales** con el mayor potencial de diferenciación (Mahla, 2016). Estas células son capaces de producir las células que conforman un embrión, así como células extraembrionarias que permiten la correcta evolución del mismo, por lo cual pueden generar un organismo completo y corresponden únicamente a las células presentes en los momentos iniciales del desarrollo, desde el cigoto hasta los blastómeros tempranos involucrados en la formación del mórulo (Malik y Wang, 2022; Du y Wu, 2024). Le siguen las células **pluripotenciales**, que —al menos en mamíferos— pueden dar lugar a las tres capas germinales que tienen los organismos: mesodermo, endodermo y ectodermo (Romito y Cobellis, 2016; Riveiro y Brickman, 2020). Después, las células **multipotenciales**, restringidas dentro de una única capa germinal pero permitiendo su especialización en alguno de los tipos celulares de la gran camada disponible en cada una de ellas (Kumar y Verfaillie, 2012; Sobhani *et al.*, 2017) (e.g. si hablamos de una célula mesodérmica, esta puede dar lugar a condroblastos, osteoblastos y adipocitos, por mencionar algunos (Ferretti y Hadjantonakis, 2019)). Finalmente, están las células **unipotenciales**, que alcanzaron su grado máximo de potencial y únicamente pueden diferenciarse en un tipo celular específico más especializado (*Figura 1*) (Smith, 2006; Singh *et al.*, 2016).

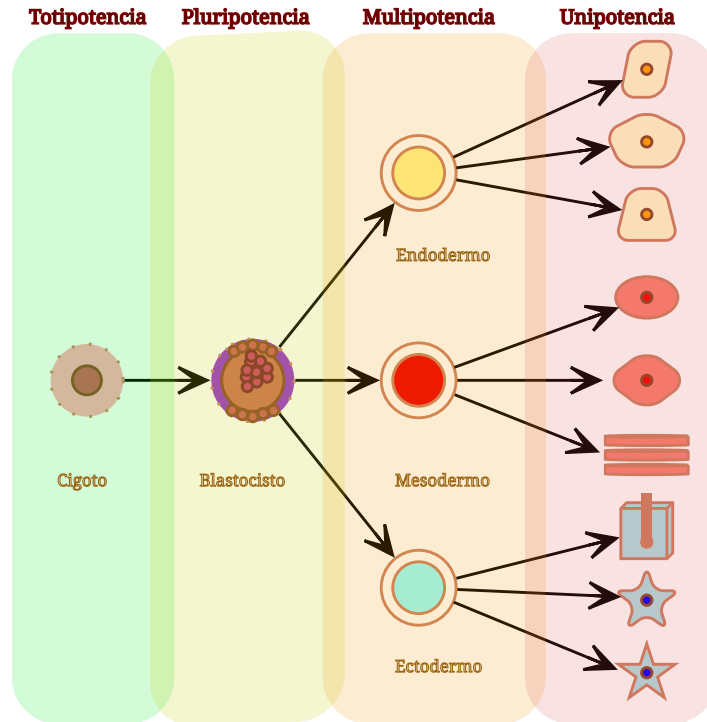


Figura 1: Grados de potencia celular. De izquierda a derecha: En los primeros días del desarrollo, el cigoto se divide y las células son capaces de diferenciarse en todos los tipos celulares que forman un organismo completo, incluyendo células extraembrionarias de la placenta, por lo que son totipotenciales (zona verde). Al pasar 5-6 días, la totipotencialidad se pierde al formarse el blastocisto, que consta de la masa celular interna —células en la zona interior del blastocisto—, trofoectodermo —células alrededor del blastocisto—, y blastocele —cavidad con líquido interno que sostiene a la masa celular interna—. La potencia celular disminuye dado que las células pueden generar todos los tejidos de un organismo, pero ya no pueden generar células extraembrionarias, por lo que en este punto son pluripotenciales (zona amarilla). Posteriormente, la masa celular interna da lugar al hipoblasto y epiblasto. De este último surgen las tres capas germinales que forman el organismo tras la gastrulación: endodermo, mesodermo y ectodermo. Tras esto, las células quedan restringidas a producir tipos celulares de su capa germinal, por lo que son multipotenciales (zona naranja). Finalmente, en el último nivel de potencia, células madre progenitoras son capaces de especializarse en un único tipo celular, fundamental para la renovación y reparación de los tejidos (zona roja).

La explicación más sencilla de cómo ocurren los eventos de diferenciación mientras transcurre la morfogénesis y organogénesis sugiere que las células madre no diferenciadas reciben señales específicas dependiendo del momento, espacio y necesidades particulares que presenten, las cuales promueven la transición a un tipo celular más maduro (Teleman *et al.*, 2001; de Mendoza *et al.*, 2014; Shellard y Mayor, 2019). Paulatinamente, estos tipos celulares recibirán otras señales que provocarán nuevas transiciones celulares y así sucesivamente hasta formar tejidos (Harold, 2005; Furlong, 2010; Hammarlund *et al.*, 2020). Aunado a esto, la disponibilidad y necesidad de las señales varía de acuerdo a la región y función particular que están desarrollando, lo cual explica la aparición de distintas estructuras y la organización compleja que es intrínseca de los seres multicelulares (Collinet y Lecuit, 2021; Pezzotta y Briscoe, 2023; DiFrisco y Priya, 2025).

Un ejemplo clásico ocurre durante la segmentación en *Drosophila melanogaster*, uno de los organismos modelo más estudiados en biología del desarrollo (Gergen, 1987) (Figura 2). Primero, un sistema

de genes, llamados *gap*, influyen unos sobre otros de manera altamente coordinada controlando su actividad. Esta regulación promueve una división en secciones amplias determinadas por un gradiente de expresión de morfogenes maternos preexistente en las distintas regiones del cuerpo (Jaeger, 2011). A partir de aquí comienza una cascada de regulación que provoca que estas regiones se subdividan subsecuentemente en más segmentos por la activación de otro grupo de genes, llamados *pair-rule* (Harding *et al.*, 1986). Finalmente, cada uno de los segmentos lleva a cabo una partición en la cual se define la región anterior y posterior de los mismos, lo cual depende de la activación de otro grupo de genes llamados *segment polarity* (Martinez Arias *et al.*, 1988). La suma de los procesos anteriores forma las distintas secciones que dividen el cuerpo del organismo (Schroeder *et al.*, 2004).

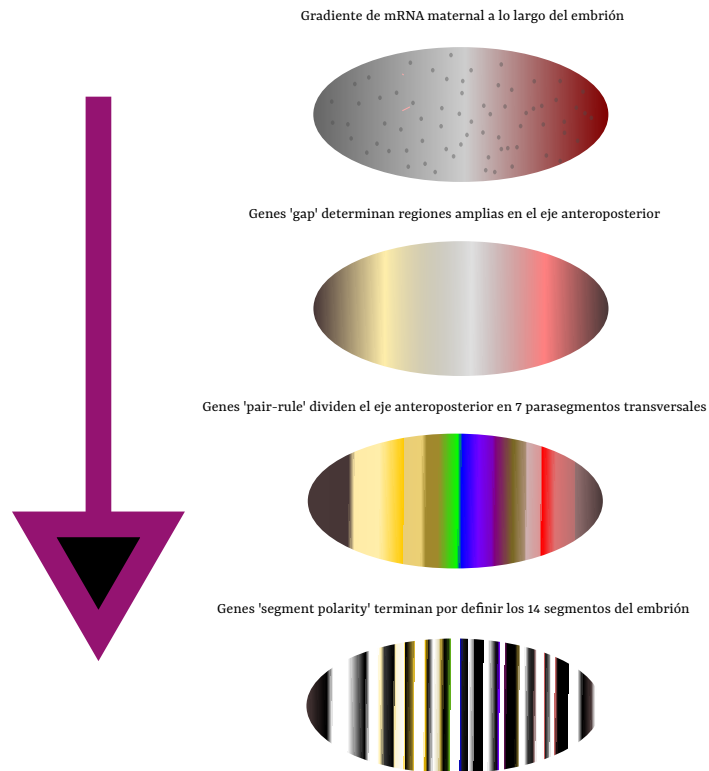


Figura 2: Segmentación en *D. melanogaster*. De arriba a abajo: un gradiente de expresión de los mRNA y proteínas maternas controla la actividad de los genes *gap*, por los que el embrión se divide en distintas franjas superpuestas. La combinación específica de estos genes determina la actividad de los genes *pair-rule*, que compartimentalizan al embrión en 14 parasegmentos transversales. Finalmente, cada uno de estos segmentos expresa un patrón de expresión específico que corresponde a la región anterior o posterior de los mismos, lo cual está controlado por los genes *segment polarity*.

1.1. Avances experimentales

Responder con exactitud el porqué una célula vaya a diferenciarse y cómo esto sucede son preguntas inquietantes en el campo de la biología en general, dadas sus potenciales aplicaciones en distintas subramas de la misma y las implicaciones que significaría conocer el funcionamiento de un proceso tan sofisticado (Guillot *et al.*, 2007; Ros-Rocher *et al.*, 2021). Esto ha provocado una extensa búsqueda por elucidar los componentes y mecanismos que intervienen en el proceso, desde quienes buscan revertir la proliferación celular descontrolada con terapia de células senescentes y células quiescentes (Paul *et al.*, 2022; Truskowski *et al.*, 2023), la transición epitelial-mesenquimal que representa una amenaza dado que puede incurrir en eventos de metástasis y eventualmente cáncer (Mani *et al.*, 2008; Yang *et al.*,

2020), pasando por la terapia utilizando células madre que se ha postulado como una gran candidata al tratar distintas enfermedades (Andrews, 2002; Kirkeby *et al.*, 2025), de la cual el gran objetivo es encontrar la manera más eficiente y menos riesgosa de inducir células madre pluripotenciales (Piscaglia, 2008; Moy *et al.*, 2023), llegando incluso hasta quienes intentan aplicarlo en proyectos de biorrobótica e inteligencia artificial (Roli *et al.*, 2018), así como quienes lo proponen como enfoque para búsqueda de homología (Arendt, 2005; Sepp *et al.*, 2024), etc.

Aunque se han buscado los mecanismos moleculares que intervienen en la diferenciación celular (Dixon *et al.*, 2015; Laurenti y Göttgens, 2018; Yi, 2024), se han intentado definir esquemas completos con los caminos de diferenciación que puedan descifrar los distintos destinos celulares en los organismos (Spanjaard *et al.*, 2018; Shapiro, 2018), así como identificar los distintos momentos clave en los que las células proceden a originarse (Zunder *et al.*, 2015; Erkenbrack y Thompson, 2019), en realidad aún existen más preguntas que respuestas.

Entre los avances más importantes está el descubrimiento del “efecto comunidad” de Gurdon, descubierto en embriones de *Xenopus laevis*. Este fenómeno es por el cual células progenitoras (originalmente observado en células musculares) con la misma identidad y en la misma ubicación interaccionan y se regulan entre sí de manera que, comunitariamente, conducen al mismo destino celular. Esto sería imposible de lograr individualmente para cada célula y de esta manera es que es posible la formación de tejidos (Gurdon, 1988). También destaca el descubrimiento de los factores de Yamanaka (Takahashi y Yamanaka, 2006; Yamanaka, 2008), de los cuales se ha demostrado que su expresión conjunta permite la reprogramación de células madre pluripotenciales a partir de fibroblastos y otros tipos celulares (Smith *et al.*, 2010; Morris, 2019). En línea con lo anterior, se han podido convertir células maduras de un tipo celular a otro dentro de la misma capa germinal de origen, así como entre distintas capas usando marcadores de linaje celular —factores de transcripción específicos que dirigen y controlan la expresión de genes en la formación de tipos celulares— (Caiazzo *et al.*, 2011; Panciera *et al.*, 2016), así como se han identificado una cantidad considerable de estos marcadores de línea embrionaria y de tipos celulares (Ostuni y Natoli, 2013a; Becker *et al.*, 2016; Fei *et al.*, 2022; Joung *et al.*, 2023).

1.2. Avances teóricos

Desde cierto punto de vista, el desarrollo es observar la evolución de un sistema a nivel organismo (Gould y Lloyd, 1999; Salazar-Ciudad y Cano-Fernández, 2023). Uno de los principales mecanismos que controlan este proceso son las redes de regulación genética (explicadas con mayor profundidad en la *sección 1.4* (Britten y Davidson, 1969a; Davidson *et al.*, 2003; Levine y Davidson, 2005), las cuales controlan la determinación jerárquica de linajes celulares y programas corporales (McShea, 2001; Sandler y Stathopoulos, 2016). Otro son las señales estocásticas que influyen en las decisiones celulares que dictaminan la diferenciación celular (Raser y O’Shea, 2005; Wu *et al.*, 2014). Por lo tanto, diversos modelos teóricos han sido propuestos a lo largo del tiempo tratando de explicar el papel de estos mecanismos en la morfogénesis, organogénesis y evolución corporal general.

Dos de los modelos que han sido más discutidos son el *modelo de embudo* (Rasmussen, 1987; Comte *et al.*, 2010) y el *modelo de reloj de arena* (Galis y Metz, 2001; Piasecka *et al.*, 2013). El primero proponía que en las etapas tempranas del desarrollo los mecanismos genéticos que determinan los planes morfológicos son similares, por lo que los distintos organismos comenzamos siendo similares y eventualmente, la diversidad fenotípica va aumentando conforme transcurre el proceso, generando la divergencia de especies y formas existentes. En el segundo, se propone que la diversidad fenotípica es mayor en etapas tempranas y tardías del desarrollo dado que la regulación de los genes que controlan los procesos que ocurren en estas etapas es mucho más flexible. Por esta razón es que hay una alta variabilidad de fenotipos entre especies distintas. Sin embargo, existe una fase intermedia, llamada *etapa filotípica*, donde la regulación de la actividad genética detrás del proceso está mucho más controlada. Es aquí donde se definen los planes corporales vitales para el correcto desarrollo del organismo. Acordemente, los genes que participan en esta etapa son los más conservados entre distintos organismos. La diversidad fenotípica de las etapas tempranas y tardías explicaría parcialmente la gran diversidad de tipos celulares que pueden surgir, puesto que las alteraciones ocurridas en las primeras fases pueden repercutir en una mayor cantidad de rasgos. Aunque posteriormente estos también quedan condicionados por la etapa filotípica, después vuelven a divergir en etapas tardías, brindando la heterogeneidad de

formas existentes (Arlotta y Hobert, 2015). Estos modelos han aparecido tratando de explicar cómo se lleva a cabo el desarrollo y qué está detrás de su funcionamiento, así como el surgimiento de múltiples estructuras y tipos celulares en los organismos (Richtsmeier, 2018; Irie y Kuratani, 2011).

Si bien los avances experimentales y teóricos han sido prominentes y útiles al momento de descifrar los mecanismos involucrados en la diferenciación, al tratarse de estudios en contextos puntuales que no permiten ser generalizados o teorías tan generales que resultan imposibles de confirmar experimentalmente, aún no se han obtenido respuestas que podamos considerar definitivas (Newman, 2020; Mao *et al.*, 2025). Incluso en los casos más avanzados como es el del nematodo transparente *Caenorhabditis elegans*, del que se conoce la trayectoria completa de los distintos linajes celulares y las rutas que dan origen a todos sus tipos celulares (Horvitz y Sulston, 1980; Bao *et al.*, 2006), aún quedan bastantes preguntas por resolver acerca de su funcionamiento. Por lo tanto, un enfoque vital para poder responder las preguntas que se presentan al tratar con estos procesos es el computacional, el cual, a pesar de no ser realmente nuevo, sigue siendo novedoso (Herberg y Roeder, 2015; Nijhout *et al.*, 2015).

1.3. Árboles de diferenciación, irreversibilidad y la metáfora más popular de la biología del desarrollo

Siempre que se habla de diferenciación celular, desarrollo y rutas de diferenciación, surge el concepto de jerarquía, el cual implica que a partir de una misma célula madre progenitora, la diferenciación celular opera en un mecanismo de divergencia por el que se derivan las distintas células y morfología que forman un organismo (Fisher, 2002; Swalla, 2006; Notta *et al.*, 2016; Weinreb *et al.*, 2020). En la literatura se han reportado numerosos “árboles de diferenciación” describiendo el origen y destino de múltiples tipos celulares de una o varias líneas del desarrollo específicas (Figura 3 con un ejemplo) y en prácticamente todos se observa una estructura jerárquica (García-Bellido y Ripoll, 1978; Sulston *et al.*, 1983; Kondo *et al.*, 2003; Nishida y Stach, 2014; Guan *et al.*, 2025). Diversos grupos de investigación se han aventurado en construir o cuantificar estructuras de esta clase en las rutas de diferenciación existentes, algunos incluso desarrollando modelos y herramientas que permitieran medir la jerarquía, complejidad e irreversibilidad presentes en los caminos de diferenciación, con resultados variables ((Azevedo *et al.*, 2005; Lohaus *et al.*, 2007; Larsson *et al.*, 2011; Schiebinger *et al.*, 2019; Voulgarakis, 2024) etc.).

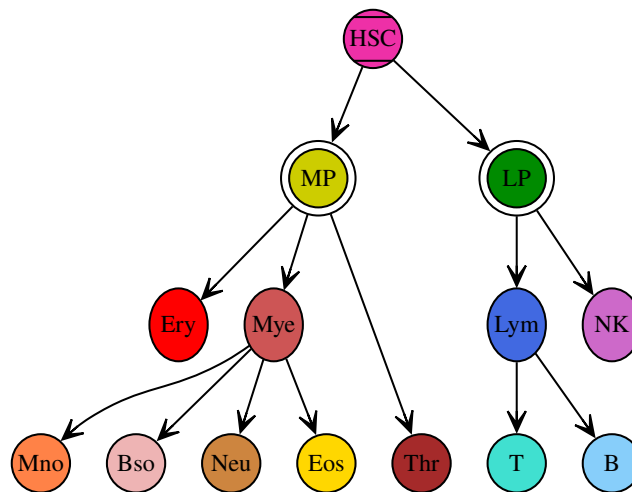


Figura 3: Árbol de diferenciación de células madre hematopoyéticas. A partir de células madre hematopoyéticas se generan las distintas células sanguíneas existentes. Figura recreada a partir de la que se encuentra en (Chulián *et al.*, 2022). HSC: células madre hematopoyéticas; MP: progenitor mieloide; LP: progenitor linfóide; Ery: eritrocitos; Mye: mielocitos; Lym: linfocitos; NK: células asesinas naturales; Mno: monocitos, Bso: basófilos; Neu: neutrófilos; Eos: eosinófilos; Thr: trombocitos, T: linfocitos T; B: linfocitos B.

En 1957, Conrad H. Waddington compartió por primera vez su representación del *paisaje epigenético*, la cual consiste de una canica rodando desde la cima de una colina hasta alcanzar algún valle (*Figura 4A*). En este sentido, pretendía describir el proceso mediante el que las células no diferenciadas (las canicas) se especializan en la gran variedad de tipos celulares de la siguiente manera. La canica continúa su recorrido a través de las cordilleras del paisaje, las cuales están definidas por las interacciones genéticas que participan en el proceso, de manera que se desplaza por una ruta en particular (Waddington los definió como *creodos*, un *portmanteau* de “camino” y “necesario”) hasta alcanzar un valle, que representa un tipo celular (Waddington, 1957).

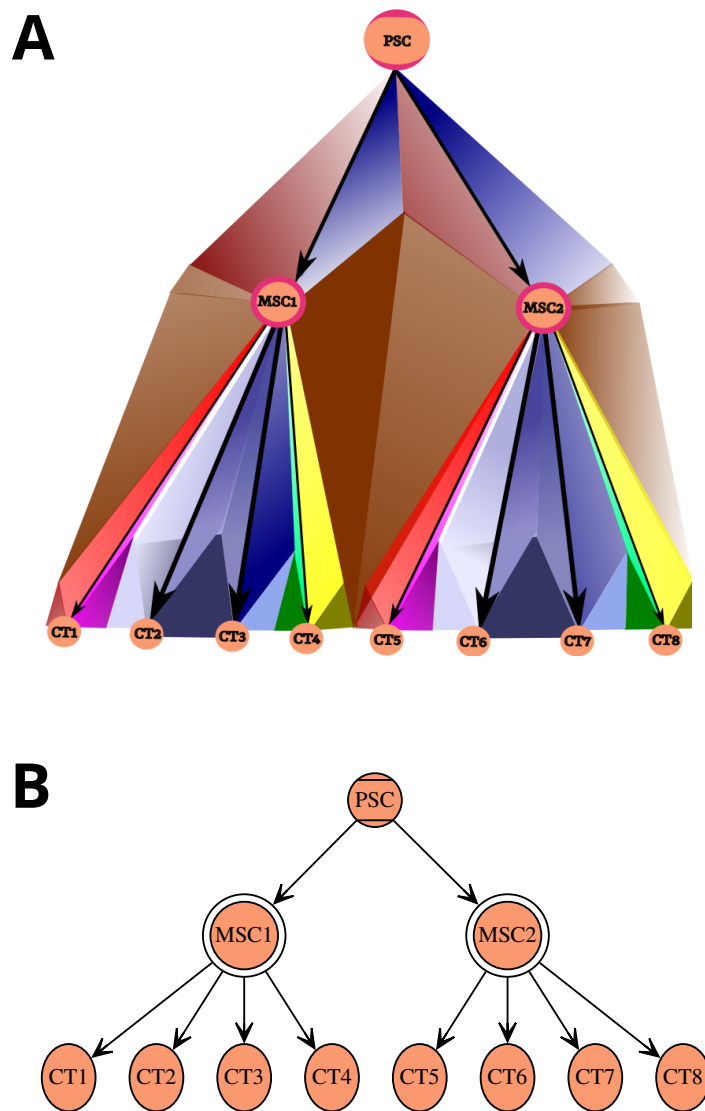


Figura 4: Paisaje epigenético de Waddington. (A) Representación abstracta del paisaje original (Waddington, 1957). (B) Interpretación reimaginada como un árbol de diferenciación. PSC: célula madre pluripotencial; MSC: célula madre multipotencial; CT: tipo celular.

Uno de los aspectos más importantes de esta descripción es poder visualizar de manera sencilla que, dada una trayectoria seguida, las canicas no pueden simplemente regresar a la cumbre de la colina o desplazarse a trayectorias alternativas puesto que se encuentran con barreras físicas: la fuerza de gravedad y las cordilleras que delimitan cada camino disponible a partir de que descienden desde lo alto de la colina. En lo que respecta a diferenciación y desarrollo, las células son marcadas por las señales externas que reciben y es gracias a esto que no pueden desviarse de llegar a un fenotipo determinado.

Es decir, las células no diferenciadas pueden seguir distintas trayectorias en un inicio y dependiendo de las distintas señales ambientales que reciben se establece su destino celular de manera **irreversible** (Huang, 2012; Spirov *et al.*, 2018).

Con este simbolismo en mente, Waddington desarrolló dos de los conceptos más importantes de la biología evolutiva del desarrollo: *plasticidad fenotípica* y *robustez* (Waddington, 1942, 1953; Salazar-Ciudad, 2007; Nijhout, 2025). La plasticidad fenotípica es la expresión de distintos fenotipos sin necesidad de cambios a nivel genético, es decir, un fenotipo distinto se determina únicamente por perturbaciones externas, como lo son señales ambientales. En cambio, la robustez representa la obtención de un mismo fenotipo pese a distintas perturbaciones a nivel genético (mutaciones), lo que significa que existe una resistencia y tendencia para que se exprese ese fenotipo en particular (Kitano, 2004). A este último Waddington lo llamó *canalización* (Waddington, 1942, 1953) y con este recurso pictórico pretendía explicar por qué los organismos siguen ciertos caminos particulares al desarrollarse (*Figura 4B*). Su explicación instituyó el estándar para describir procesos del desarrollo y diferenciación en los organismos desde entonces, siendo muestra de ello los múltiples estudios y herramientas que se han desarrollado para modelar y cuantificar el paisaje (Hemberger *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2010; Teschendorff y Enver, 2017; Cislo *et al.*, 2025).

Aunque el significado del término *epigenética* ha cambiado sustancialmente con el tiempo dentro del campo de la biología (Ptashne, 2013; Pisco *et al.*, 2016), más específicamente la biología molecular (Huang, 2022), lo que Waddington pretendía señalar era cómo influían las interacciones entre genes para definir un fenotipo, dictaminando el precedente directo de las redes de regulación genética (Waddington, 1957; Noble, 2015). Esta poderosa metáfora remarca con bastante claridad la pertinencia de estas redes y no solo implica que sean útiles para estudiar el desarrollo de los seres vivos, sino necesarias.

1.4. Redes de regulación genética

En 1905, Bateson fue el primero en describir un fenómeno en donde la actividad de un gen tenía efecto en la actividad de otros. En su caso, observó que un alelo “enmascaraba” la actividad fenotípica de otro en un *locus* distinto al suyo (Bateson, 2002; Tyler *et al.*, 2009). A este proceso lo acuñó como *epistasia*. Tiempo después, Jacob y Monod describieron por primera vez de manera funcional un sistema de regulación de genes encargado de controlar la expresión génica al investigar el operón *lac* (lactosa) en bacterias (Jacob y Monod, 1961), marcando el primer antecedente del comprender cómo funciona una red de regulación genética en la naturaleza. Inspirado por esto y más, Eric Davidson se dedicó durante mucho tiempo en construir y validar de la manera más íntegra posible modelos de redes de regulación describiendo procesos del desarrollo (Davidson y Erwin, 2006; Erwin, 2015).

1.4.1. Componentes de las redes de regulación genética, grados de conectividad y matriz genotípica

En su forma más fundamental, una red de regulación genética (GRN, por sus siglas en inglés) se representa como una estructura que consta de nodos o vértices, simbolizando a los genes que forman parte de ella (o productos de los genes, como lo pueden ser distintos RNA y proteínas), y conexiones o arcos, simbolizando las regulaciones (interacciones) que hay entre ellos (*Figura 5*). Formalmente, una red regulación genética es determinada mediante un grafo $\mathcal{R}(G, C)$, donde $G = \{g_1, \dots, g_n\}$, $|G| = N$ es el conjunto de nodos, representando a los genes que forman la red, y su cardinalidad es el tamaño N de la misma. Asimismo, $C = \{g_i g_j, \dots, g_k g_m\}$ es el conjunto de conexiones, representando las interacciones entre los genes, donde la notación $g_i g_j$ señala que la conexión involucra a los genes g_i, g_j y además especifica que la dirección en que ocurre la interacción es $g_i \rightarrow g_j$. Del mismo modo, $g_j g_i$ implica que en la interacción participan los mismos genes que en el caso anterior pero ahora ocurre en la dirección $g_j \rightarrow g_i$ (los conceptos básicos sobre grafos pueden consultarse en (Gross *et al.*, 2018)).

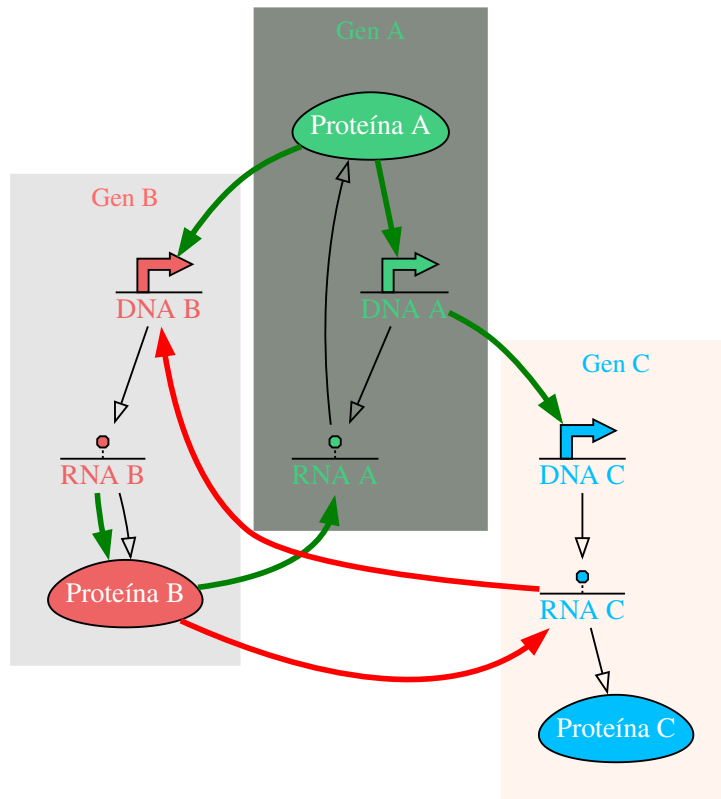


Figura 5: Redes de regulación genética. Las interacciones entre genes o productos de genes constituyen las redes. Las regulaciones pueden ocurrir en cualquiera de los niveles en que ocurre la expresión genética (DNA, RNA o proteínas). Los arcos verdes indican activación o regulación positiva, los arcos rojos inhibición o regulación negativa.

Cada gen es regulado por un conjunto de genes y a su vez regula a un conjunto de genes (Materna y Davidson, 2007). El número de elementos que pertenecen a cada uno de estos conjuntos determina los *grados de conectividad* para cada gen que conforma la red, siendo el grado de conectividad de entrada k_{in} el número de genes que lo regulan y el grado de conectividad de salida k_{out} el número de genes que regula (Barabási y Oltvai, 2004). Al conjunto de genes para los que $k_{in} = 0$ se le conoce como *inputs* y estos suelen representar señales extracelulares o cualquier producto de una cascada de señalización ajena a la red principal, que participan únicamente regulando cascada abajo a otros genes. De igual forma, el conjunto de genes para los que $k_{out} = 0$ es llamado *outputs* y representa a los genes que son marcadores del comportamiento de toda la red en cuestión (Davidson y Erwin, 2006). Además de los *inputs* y *outputs*, están los genes que tienen $k_{in}, k_{out} > 0$, los cuales forman parte del *circuito interior*, en el cual se concentra la mayor parte de la actividad (regulaciones) de la red (Figura 6) (Barabási y Oltvai, 2004).

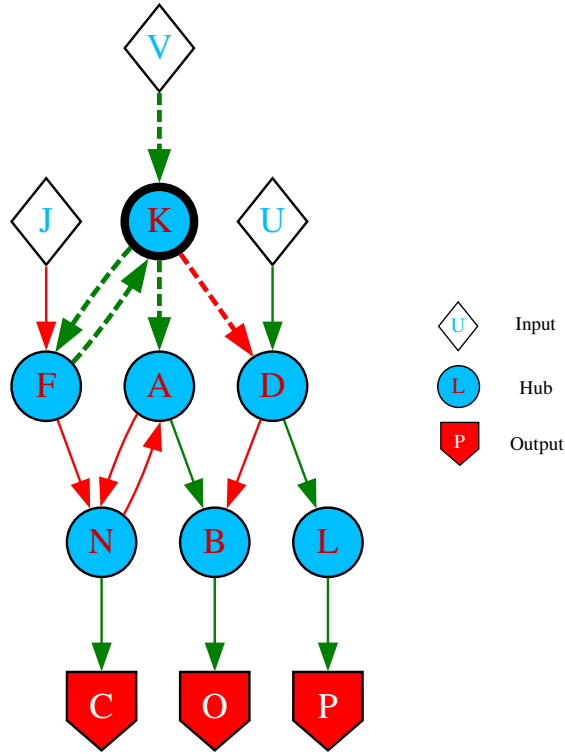
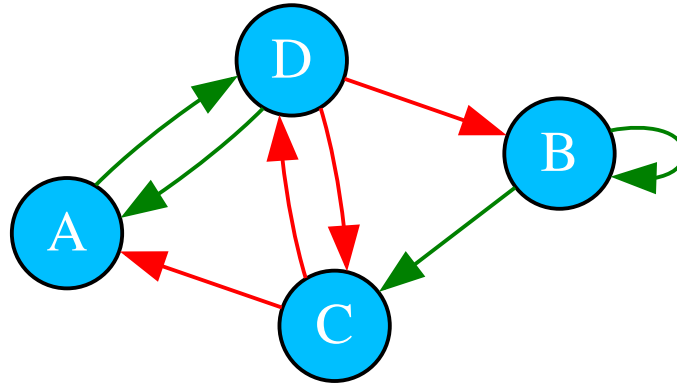


Figura 6: Tipo de componentes que tienen las redes de regulación genética. Esta red contiene 13 genes, 16 regulaciones en total, de las cuales 10 son positivas y 6 negativas. Obsérvese que el gen K tiene $k_{in} = 2$ y $k_{out} = 3$ (arcos discontinuos de la red). Nótese la presencia de *inputs* (triángulos blancos), *outputs* (pentágonos rojos) y *genes hub* (círculos azules).

Al conjunto de interacciones entre los genes de estos sistemas suele considerársele el genotipo del individuo. Todas las regulaciones que existen entre los genes de la red se compactan en una representación matemática sencilla pero poderosa, a la cual llamo *matriz genotípica*, en la que los valores de las entradas representan las interacciones o relaciones entre los genes, que corresponden a nodos de la red. Este arreglo está inspirado directamente en las matrices de adyacencia de la *teoría de grafos*, las cuales contienen las relaciones existentes entre los vértices y aristas que las conforman (Newman, 2018; Gross *et al.*, 2018). El tamaño de la matriz es de $n \times n$, donde n es el número total de nodos que conforman la red. Supongamos una red formada por N genes, en la cual sus genes están regulándose unos a otros de una manera determinada. Las interacciones que se llevan a cabo entre los genes se ordenan de manera que constituyen una matriz ternaria $\mathcal{A} \in \{-1, 0, 1\}^{N \times N}$, que es su matriz genotípica. Las entradas a_{ij} representan todas las posibles combinaciones que pueden tener estas interacciones. Cuando $a_{ij} = 1$, significa que el gen i activa al gen j de la red. A su vez, si $a_{ij} = -1$, indica que existe represión del gen i al gen j . También existe la posibilidad de que $a_{ij} = 0$, que ocurre cuando no hay interacción entre los genes en cuestión (*Figura 7*).



**Matriz
genotípica:**

	A	B	C	D
A	0	0	0	1
B	0	1	1	0
C	-1	0	0	-1
D	1	-1	-1	0

Figura 7: Matriz genotípica de una red de regulación genética. Cada una de las filas contiene las regulaciones que ejerce el gen correspondiente, mientras que en las columnas están las regulaciones que se dirigen a esos respectivos genes. Por ejemplo, la entrada a_{AD} indica que el gen A regula al gen D, y la entrada a_{CA} señala que el gen C regula al gen A. Esta matriz representa todas las regulaciones que dan forma a la topología de la red.

Dado que todas las GRN son dirigidas, las matrices genotípicas que integran la información de conectividad de los genes participantes no suelen ser simétricas. Es posible definir los grados de conectividad de cada uno de los genes de la red a partir de la matriz genotípica como:

$$k_{in}(g_i) = \sum_{j=0}^N |a_{ji}(\mathcal{R})|; \quad k_{out}(g_i) = \sum_{j=0}^N |a_{ij}(\mathcal{R})|. \quad (1)$$

1.4.2. Propiedades de las redes de regulación genética

Al analizar las distintas redes de regulación genética que han sido caracterizadas a lo largo del tiempo, se han logrado identificar ciertas propiedades que definen la estructura que contienen (Davidson y Levine, 2008).

La **modularidad** es una propiedad que refleja la tendencia que existe entre algunos componentes de la red a interactuar mucho más entre ellos de lo que se esperaría por azar y que con otros componentes de la red, formando módulos o equipos de actividad genética (Wagner, 1996; Kashtan y Alon, 2005; Clune *et al.*, 2013). Esta organización provoca que la regulación genética que ocurre entre genes sea relativamente independiente entre los módulos de la red, lo que influye en la capacidad de resistir perturbaciones de la misma, ya que su efecto se limita al módulo en el que aparecen. También, la formación de módulos puede brindar diversidad fenotípica puesto que la actividad genética concentrada dentro de ellos les permitiría controlar funciones específicas, además de desarrollar nuevos roles al

adaptarse en entornos distintos (Espinosa-Soto y Wagner, 2010; Espinosa-Soto, 2018; Hernández *et al.*, 2022).

La **jerarquía**, *en este contexto*, considera que la organización ordenada de los nodos que se observa en la estructura de las redes de regulación genética es debida al orden de aparición en que los genes ejercen su función (Britten y Davidson, 1969b; Erwin y Davidson, 2009; Peter y Davidson, 2011). Es decir, los genes se estructuran por niveles, los cuales se determinan por el momento en que participan sobre la dinámica de la red o la etapa en la que más repercuten de todo el proceso de regulación en cuestión (Cosentino Lagomarsino *et al.*, 2007; Sabrin y Dovrolis, 2018).

Albert y Barabási demostraron que las redes (grafos) de sistemas reales, incluyendo las biológicas, obedecen una distribución de conectividad que se define por la siguiente función: $P(k) \approx k^{-\gamma}$, donde $P(k)$ es la probabilidad de que un nodo tenga grado de conectividad k , k es el número de conexiones y γ es un parámetro cuyo valor suele estar entre 2 o 3 (Jeong *et al.*, 2000). A este modelo de distribución de conectividad en los grafos le llamaron **red libre de escala** (Barabási y Albert, 1999). Este resultado es relevante dado que implica que la manera en que se organizan las interacciones entre los componentes de la red no es completamente aleatoria (a diferencia de otros modelos populares en teoría de grafos, como lo son Erdős-Rényi (Erdős y Rényi, 1959) o el modelo configuracional (Bollobás, 1980)), sino que implica que hay un grupo de pocos genes, llamados hubs, en los cuales están concentradas la mayor parte de las interacciones de la red (Albert y Barabási, 2002; Albert, 2005), aunque la presencia de esta distribución ha sido debatida (Khanin y Wit, 2006; Broido y Clauset, 2019).

La **asortatividad** describe el sesgo por el que ocurren interacciones entre nodos con grados de conectividad correlacionados (Newman, 2002; Foster *et al.*, 2010). La existencia de esta propiedad corrobora aún más la presencia de genes hub en donde se concentra y controla principalmente la actividad de las redes biológicas. Además, se ha observado que esta propiedad influye en la capacidad de resistir perturbaciones de las mismas (Piraveenan *et al.*, 2012; Pechenick *et al.*, 2013).

1.4.3. Usos de las redes de regulación genética

Las redes de regulación genética están presentes ubicuamente en los sistemas biológicos, por lo que son de interés al momento de estudiar distintos procesos, desde eventos de señalización celular (Watson *et al.*, 2013; Carthew, 2021), procesos del sistema nervioso (Imai *et al.*, 2009; Sinha *et al.*, 2020), ciclos celulares (Scott *et al.*, 2015; Riba *et al.*, 2022), etc. Sin embargo, no cabe duda de que el protagonismo con el que cuentan las redes recae principalmente en su utilidad para responder preguntas evolutivas y del desarrollo de los organismos (como se describe en la *sección 1.5*). Se ha estudiado ampliamente qué efecto tienen en las redes de regulación genética distintos mecanismos celulares, como la recombinación genética (Martin y Wagner, 2009; Espinosa-Soto *et al.*, 2021) o la duplicación de genes (Wagner, 1994; Soyer y Creevey, 2010; Posadas-García y Espinosa-Soto, 2022), así como la influencia de fuerzas evolutivas como la deriva génica (Tsuda y Kawata, 2010; Papadodonakis *et al.*, 2024). Principalmente, han remarcado el papel de la plasticidad fenotípica (Masel, 2004; Fierst, 2011; Uller *et al.*, 2018; Espinosa-Soto, 2025) y la robustez al dirigir la evolución (Aldana *et al.*, 2007; Ciliberti *et al.*, 2007; Abley *et al.*, 2016; Nagata y Kikuchi, 2020).

1.5. Redes de regulación genética en procesos del desarrollo

Gracias al trabajo de toda la vida de Eric Davidson y colegas (Hood y Rothenberg, 2015; Rothenberg, 2016), se ensambló la red de regulación genética que define el endomesodermo en el erizo de mar *Strongylocentrotus purpuratus*. Esta es la red de regulación genética de un proceso del desarrollo más completa hasta ahora, publicada por primera vez en 2002 (Davidson *et al.*, 2002) y actualizada tanto en estructura como para poder estudiarse dinámicamente (Howard-Ashby *et al.*, 2006; Peter *et al.*, 2012; Peter y Davidson, 2017). A partir de este hecho, el interés por caracterizar las redes de regulación implicadas en procesos de diferenciación celular creció considerablemente (Li y Davidson, 2009; Abou-Jaoudé *et al.*, 2016). Por destacar otro ejemplo, las redes de regulación genética involucradas en cada una de las etapas del proceso jerárquico de segmentación en *D. melanogaster*, así como su topología, ya han sido caracterizadas (*Figura 8*) (Sánchez y Thieffry, 2001, 2003; Albert y Othmer, 2003). A raíz

de la acumulación de distintos modelos de redes de regulación genética del desarrollo, han logrado observarse características que parecen desempeñar funciones importantes al momento de definir cómo progresan estos procesos (Davidson, 2010).

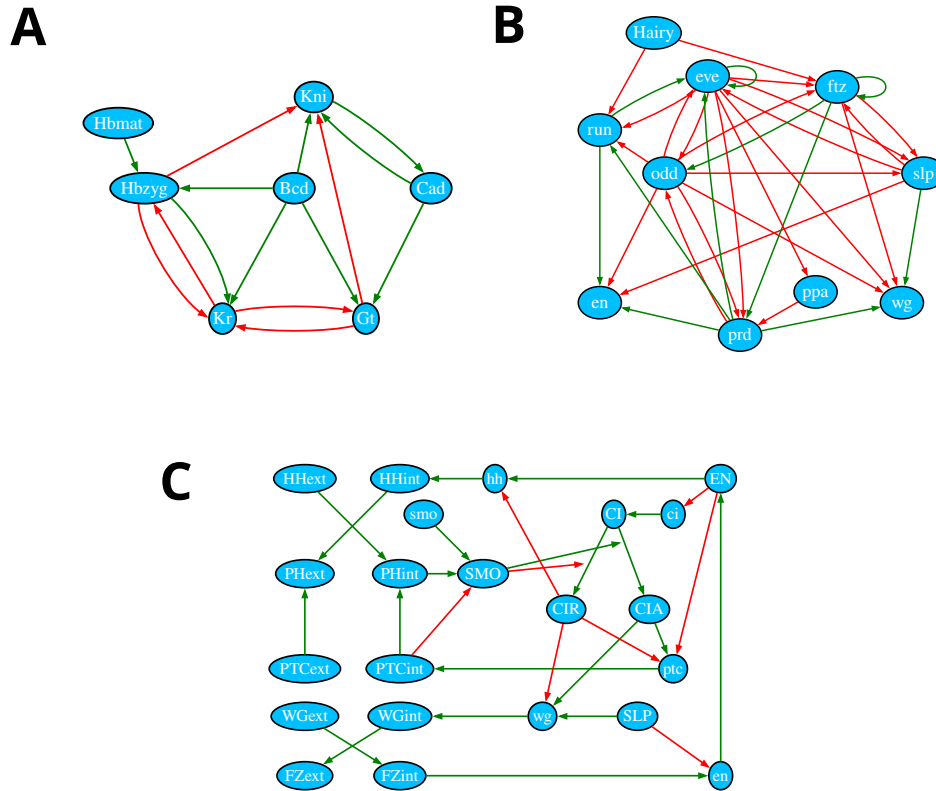


Figura 8: Las GRN involucradas en la segmentación de *D. melanogaster*. (A). GRN controlando la interacción de genes *gap* al inicio del proceso. Figura basada en el modelo reportado en (Sánchez y Thieffry, 2001). (B) GRN controlando la interacción de genes *pair-rule* durante el transcurso del proceso. Figura basada en el modelo reportado en (Sánchez y Thieffry, 2003). (C) GRN controlando la interacción de genes *segment polarity* al final del proceso. Figura basada en el modelo reportado en (Albert y Othmer, 2003). Nótese cómo estas redes controlan el proceso descrito en la figura 2.

1.5.1. Patrones topológicos identificados en las redes de regulación genética del desarrollo

Represión recíproca

También se le llama interruptor de palanca (más conocida es su expresión en inglés: *toggle switch*). En esta estructura dos genes se inhiben mutuamente, pero también pueden activarse a sí mismos (Figura 9A). De esta manera la activación de uno u otro decide el rumbo que seguirá la actividad genética de la red (Snoussi, 1998; Cherry y Adler, 2000; Niwa *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2007; Enver *et al.*, 2009; Bessonard *et al.*, 2014; Schröter *et al.*, 2015; Jia *et al.*, 2017), lo cual está asociado a las bifurcaciones que suceden en algunos procesos biológicos (Huang *et al.*, 2007; Chickarmane y Peterson, 2008; Wang *et al.*, 2010; Bhattacharya *et al.*, 2011; Zhou y Huang, 2011; De Mot *et al.*, 2016). El caso más documentado de este atributo se encuentra en la red de regulación genética que especifica el linaje linfoide o mieloide de las células madre hematopoyéticas (Figura 9A) (Visvader *et al.*, 1992; Nerlov

y Graf, 1998; Rhodes *et al.*, 2005; Arinobu *et al.*, 2007; Iwasaki y Akashi, 2007; Orkin y Zon, 2008; Chickarmane *et al.*, 2009; Hoppe *et al.*, 2016; Strasser *et al.*, 2018).

Circuitos de retroalimentación positiva

Un circuito de retroalimentación positiva ocurre cuando la actividad a largo alcance de un gen repercute en el mismo gen de manera que, indirectamente, se estimula (*Figura 9B*). Esto quiere decir que la activación de los genes eventualmente promueve aún más la activación de ellos mismos (Alon, 2007). Nótese que el circuito de retroalimentación positiva más sencilla es un gen autoactivándose a sí mismo. Las represiones recíprocas mencionadas anteriormente también corresponden a circuitos de retroalimentación positiva. Este mecanismo se ha asociado con distintos procesos a nivel celular, incluyendo la formación de memoria de marcaje epigenético y comprometimiento de linaje celular (Xiong y Ferrell, 2003; Han *et al.*, 2007; Tang *et al.*, 2009; Doncic *et al.*, 2015; Biswas *et al.*, 2021; Sevlever *et al.*, 2025), la proliferación celular descontrolada (Harris y Levine, 2005; Yang *et al.*, 2010) y la expresión irreversible de fenotipos determinados (Isaacs *et al.*, 2003; Yates *et al.*, 2004; Brandman *et al.*, 2005; Seo *et al.*, 2009; Jukam *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2021; Massri *et al.*, 2023). Incluso se ha demostrado que este circuito es necesario para que una red pueda adquirir múltiples estados estacionarios al analizar su dinámica (para consultar qué es un estado estacionario, ver *sección 1.6.2*), comportamiento que algunos llaman la “regla de Thomas” (Thomas, 1981; Thomas y Kaufman, 2001; Soulé, 2006).

Circuitos de retroalimentación negativa

Al igual que en el caso de la retroalimentación positiva, en los circuitos de retroalimentación negativa la regulación genética de un gen sobre otros genes a la larga influye en la actividad del mismo gen, solo que aquí, en vez de promover su actividad, la inhibe (*Figura 9C*) (Alon, 2007). Al igual que en el caso anterior, el circuito de retroalimentación negativa más sencilla es un gen autoinhibiéndose a sí mismo. La principal explicación que se le ha encontrado a este patrón es que funciona como un sistema de control, evitando posibles acumulaciones de proteínas producidas o sobrecarga de actividad que ya no es necesaria, es decir, dentro de un contexto biológico, lo que conocemos como homeostasis (Demongeot *et al.*, 2000; Harris y Levine, 2005; Jukam *et al.*, 2013; Park *et al.*, 2016; Jiang y Hao, 2021), además de permitir oscilaciones en los patrones de actividad de las redes (Suzuki y Kimura, 2011; Nguyen, 2012; Marrone *et al.*, 2023).

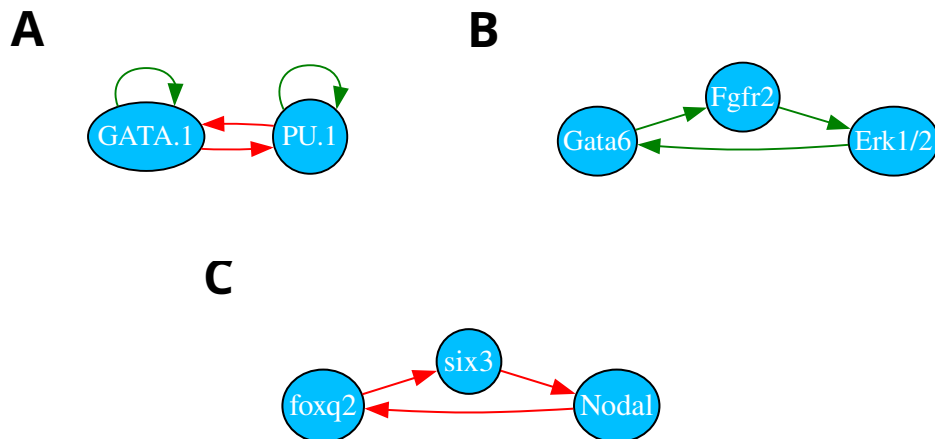


Figura 9: Circuitos de retroalimentación identificados en distintas GRN del desarrollo. (A) Circuito interruptor de palanca clásico controlando la hematopoyesis. Reportado en (Rhodes *et al.*, 2005). (B) Circuito de retroalimentación positiva en la diferenciación de la masa celular interna. Reportado en (Bessonnard *et al.*, 2014). (C) Circuito de retroalimentación negativa en la neurogénesis apical en erizo de mar. Reportado en (Feuda y Peter, 2022).

Subredes de genes reprimiéndose unas a otras

Este patrón ha sido propuesto gracias a la comprensión del funcionamiento de sistemas que determinan tipos celulares como el de hematopoyesis descrito anteriormente. Graf y Enver definieron un modelo que explica cómo el destino de los distintos tipos celulares es controlado por las condiciones de las redes de regulación genética implicadas (*Figura 10*) (Graf y Enver, 2009). En estas, existen subredes de genes centrales (circuitos principales de regulación) controlando la actividad de ciertos genes objetivo dentro de cada subred, los cuales, dependiendo de su patrón de actividad, determinarán el fenotipo que se expresará. Además, los genes que pertenecen a distintas subredes se inhiben mutuamente, siendo esta organización lo que permite que ocurra una cascada de regulación que determina un tipo celular u otro (Enver *et al.*, 2009; Arendt *et al.*, 2016). A esto G. Wagner lo llamó *representación abstracta* de la red, ya que los tipos celulares son determinados, más que por el fenotipo observable que presenta, por el patrón de actividad que expresan las subredes principales de genes que hay en la red (Wagner, 2014).

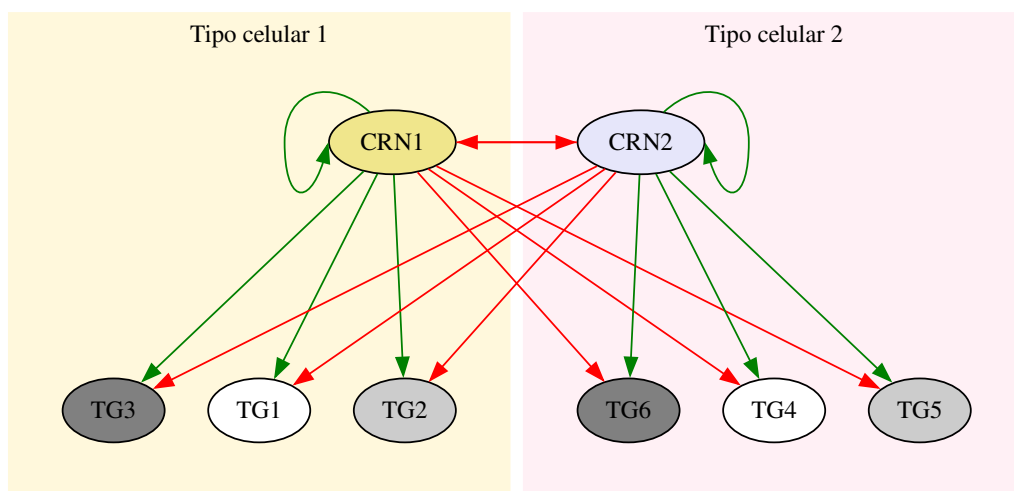


Figura 10: Modelo de Graf-Enver. Un grupo de genes determinando un tipo celular tiende a estimular su propia actividad (región amarilla) y a inhibir la actividad de otro grupo de genes que definen a otro tipo celular (región rosa), y viceversa. Los genes que conforman el circuito principal de regulación regulan cascada abajo a múltiples genes objetivo que determinan el fenotipo a expresar. CRN: circuito principal de regulación (core regulatory network); TG: gen objetivo (target gene). Figura recreada a partir de la encontrada en (Graf y Enver, 2009).

1.5.2. Pertinencia

Gracias a que las redes han sido utilizadas para buscar los mecanismos que expliquen los caminos de diferenciación en el desarrollo, se han estudiado ampliamente las características estáticas de estas redes, encontrando resultados optimistas (Milo *et al.*, 2002; Sorrells y Johnson, 2015; Stone *et al.*, 2019). Sin embargo, dado que la actividad de los genes y su expresión cambia con el tiempo, lo que hace que estas redes sean dinámicas por naturaleza, es necesario ampliar el enfoque de estudio y no limitarse únicamente a su topología (Tyson *et al.*, 2003; DiFrisco y Jaeger, 2021; Kadiyala *et al.*, 2025).

1.6. Redes booleanas aleatorias

Kauffman, en su trabajo seminal de 1969, concibió y analizó por primera vez un sistema dinámico que simbolizaba la actividad de los genes, interactuando unos con otros aleatoriamente, introduciendo

un paradigma para estudiar dinámicamente las redes de regulación genética (Kauffman, 1969). A este tipo de sistemas se les conoce como **redes booleanas aleatorias**. Desde entonces, estas redes han sido estudiadas profundamente buscando encontrar características relevantes respecto a su funcionamiento y que permitan predecir su comportamiento, las cuales pueden estar contenidas en propiedades generales de su estructura o en propiedades relacionadas con su dinámica y simulación. El objetivo es interpretar estos resultados al utilizarse como herramienta de modelado en contextos biológicos, brindando explicaciones que de otra manera no serían posibles.

Formalmente, una red booleana (*BN* por sus siglas en inglés) es un modelo de un sistema dinámico discreto donde un conjunto de variables booleanas, que representan los nodos de la red, actualizan su estado a partir de un conjunto de funciones booleanas de las que dependen. Es decir, $BN = (V, F)$ donde $V = \{v_1, v_2, \dots, v_N\}$ es el conjunto de N variables lógicas, $v_i \in \mathbb{B}$ donde $\mathbb{B} = \{0, 1\}$; y $F = f_1, f_2, \dots, f_n$ el conjunto de funciones de actualización de estado, $f_i : \mathbb{B}^N \rightarrow \mathbb{B}$ (Schwab *et al.*, 2020).

1.6.1. Estado y actualización de una red

Las variables booleanas tienen un subíndice asociado, encargado de definir un orden específico de las mismas. En un momento discreto en el tiempo, ocurre una configuración particular de todas las variables de la red, la cual determina el *estado* del sistema. Se representa como un vector booleano $\vec{x} = (x_1, x_2, \dots, x_N)$. En palabras simples, el *estado* de una red es básicamente el patrón de actividad que presentan los genes en un tiempo t , i.e., la combinación de genes activos e inactivos en un instante dado (*Figura 11*).

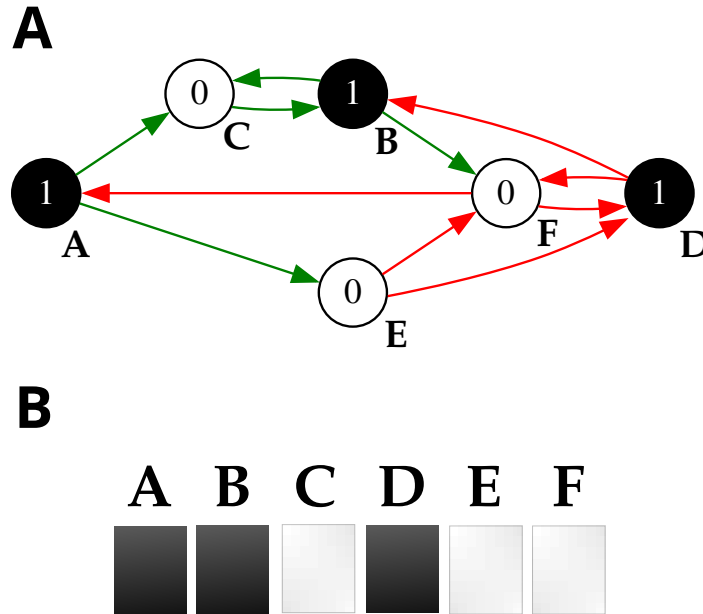


Figura 11: Estado de una red booleana (A) Representación de grafo. Cada nodo exhibe explícitamente el estado que expresa en un determinado momento, indicado por su color y el valor que contiene. (B) Representación sencilla. Las celdas negras indican activo, las celdas blancas inactivo.

Partiendo de un estado particular $\vec{x}^{(t)}$ en un instante discreto t , el siguiente estado $\vec{x}^{(t+1)}$ viene dado por la función de *actualización de estado de la red* $\vec{x}^{(t+1)} = \vec{f}(\vec{x}) = f_1(\vec{x}^{(t)}), f_2(\vec{x}^{(t)}), \dots, f_N(\vec{x}^{(t)})$. Aquí, $\vec{f} : \mathbb{B}^N \rightarrow \mathbb{B}^N$ es una función vectorial booleana que describe la actualización sincrónica (ver *sección 1.6.3* para más detalles sobre los esquemas de actualización), es decir, todas las variables actualizan su valor simultáneamente (Schwab *et al.*, 2020). Los genes interactúan entre sí según las reglas contenidas en \vec{f} , definiendo la dinámica de la red (*Figura 12*).

A

Funciones lógicas

A = F
 B = A && D
 C = C || G
 D = !C && !G
 E = A && !D
 F = B || !E
 G = B

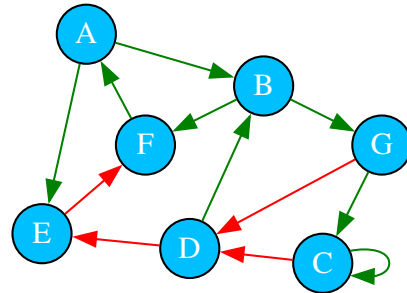
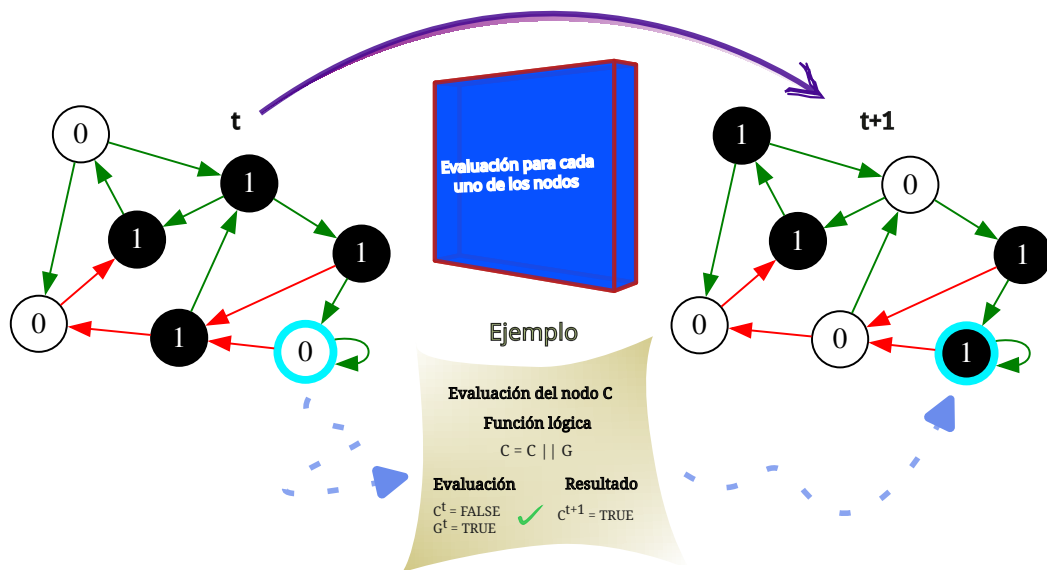
**B**

Figura 12: Actualización sincrónica de una red boelana. (A) Funciones lógicas que controlan la dinámica de la red a su derecha. (B). En un tiempo t , se evalúa cada uno de los nodos siguiendo sus reglas específicas y se determina su estado posterior x^{t+1} . Véase el ejemplo del nodo C , que depende de que esté activo o el nodo G o él mismo. Dado que en el momento t , G está activo, en el momento posterior $t + 1$, C estará activo. Este procedimiento se repite para cada uno de los nodos.

De entrada, cada función de actualización f_i puede depender de todos los demás genes de la red. Sin embargo, lo que suele ocurrir en realidad es que un gen en particular depende solo de un pequeño subconjunto de los demás; a este subconjunto se le denomina conjunto de reguladores o *variables de entrada*. Los reguladores posteriormente se etiquetan como *activadores* o *inhibidores* de un gen de acuerdo a si ejercen de manera positiva o negativa su efecto sobre el gen en el que actúan (Davidson y Peter, 2015).

Al explorar la dinámica de una red es común interesarse por rastrear la *trayectoria* que sigue. Una trayectoria representa una sucesión de L estados al actualizar la dinámica de la red, i.e., los estados resultantes de aplicar L veces consecutivas la función de actualización $\vec{x}_{i+1} = \vec{f}(\vec{x}_i)$. Esto forma un conjunto de estados $\{\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_{L+1}\}$, que define una trayectoria de la red. En el contexto de las GRN, explorar las trayectorias que se siguen en el espacio de estados puede ser importante para identificar el papel de los distintos genes en los caminos que sigue su dinámica (Mar y Quackenbush, 2009).

1.6.2. Atractores y cuencas de atracción

Debido a que cada variable lógica es binaria, $v_i \in \mathbb{B}$, el número de distintas configuraciones que puede adquirir el sistema es finito. Esto quiere decir que el espacio de estados es de tamaño fijo y es igual a 2^N , donde N es el número de genes que conforman la red. Asimismo, dado que las redes booleanas sincrónicas estándar son deterministas, un estado x^t siempre conducirá al mismo estado posterior x^{t+1} . Por lo anterior, al evaluar el sistema desde una condición inicial dada, la dinámica adquirirá un estado particular de la red \vec{x}^* que posteriormente volverá a ser transitado, lo cual implica que, en ausencia de perturbaciones externas, este estado representa un punto estable que eventual y inevitablemente será alcanzado, i.e., es un estado del cual el sistema no puede salir. En jerga de sistemas dinámicos, es un **atractor** del sistema (Wuensche, 1998). Si repetimos el procedimiento anterior para cada uno de los estados del espacio de estados del sistema podemos obtener todos los *atractores* de la red.

Los atractores pueden ser de dos tipos, ya sea estados estacionarios, también llamados *puntos fijos*, o atractores *cíclicos*. Los atractores puntos fijos implican que, al actualizar el estado del sistema el resultado obtenido será el mismo estado, es decir, la dinámica de la red queda confinada a un único estado que continuará presentándose indefinidamente (Figura 13A). Formalmente, \vec{x}^* es un estado estacionario o punto fijo si $\vec{f}(\vec{x}^*) = \vec{x}^*$. Los puntos fijos son biológicamente relevantes porque pueden representar tipos celulares específicos, idea planteada originalmente por el mismo Kauffman en su trabajo describiendo las redes (Kauffman, 1969; Huang y Ingber, 2000; Huang, 2012).

Los atractores cíclicos representan trayectorias periódicas en el espacio de estados (Figura 13B). Formalmente, consideremos una trayectoria en el espacio de estados $\{\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_T\}$ donde $\vec{x}_i \neq \vec{x}_j$ para todo $i \neq j$ entonces si $\vec{x}_i^{(t)} = \vec{x}_i^{(t+nT)}$ para $i = 1, 2, \dots, T$ y $n = 1, 2, 3, \dots$, los estados que forman la trayectoria definen un atractor cíclico de longitud T . Los atractores cíclicos han sido asociados a distintos eventos representativos de esta conducta, como lo son los ciclos celulares, ciclos circadianos y en general cualquier proceso biológico con un comportamiento periódico (Young y Kay, 2001; Pomerening *et al.*, 2005; Ortiz-Gutiérrez *et al.*, 2015).

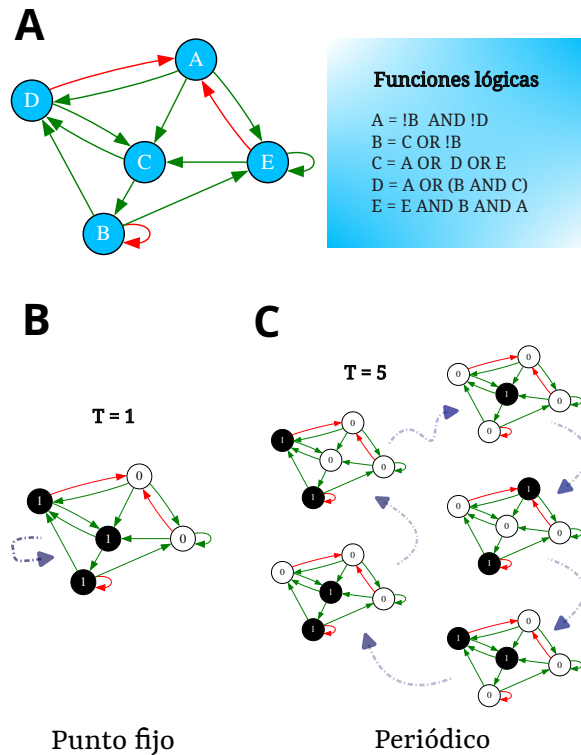


Figura 13: Dos tipos de atractores (A) Atractor punto fijo. El estado posterior siempre será el mismo. (B). Atractor periódico de 5 estados. Los 5 estados oscilan continuamente entre ellos al progresar la dinámica de la red sin salida.

Al conjunto de estados que recorre un sistema antes de desembocar en un estado atractor \vec{x}^* se le conoce como *cuenca de atracción*. El tamaño de una cuenca de atracción, i.e., el número de estados que la conforman, está relacionado con la estabilidad y robustez del atractor y el fenotipo que representa. Esto es debido a que, en presencia de modificaciones a un estado en particular, que significa alterar el patrón de actividad de genes que corresponde a ese estado, será más probable que el estado resultante de la perturbación pertenezca a la cuenca del mismo atractor y no transicione a una cuenca distinta (Wuensche, 1998). Las trayectorias que siguen los estados pueden ser vistas en otra clase de representación, el llamado *grafo de transición de estados*, donde cada nodo representa un estado particular y los arcos representan los estados a los que transiciona cada uno de ellos (Figura 14) (Schwab *et al.*, 2020).

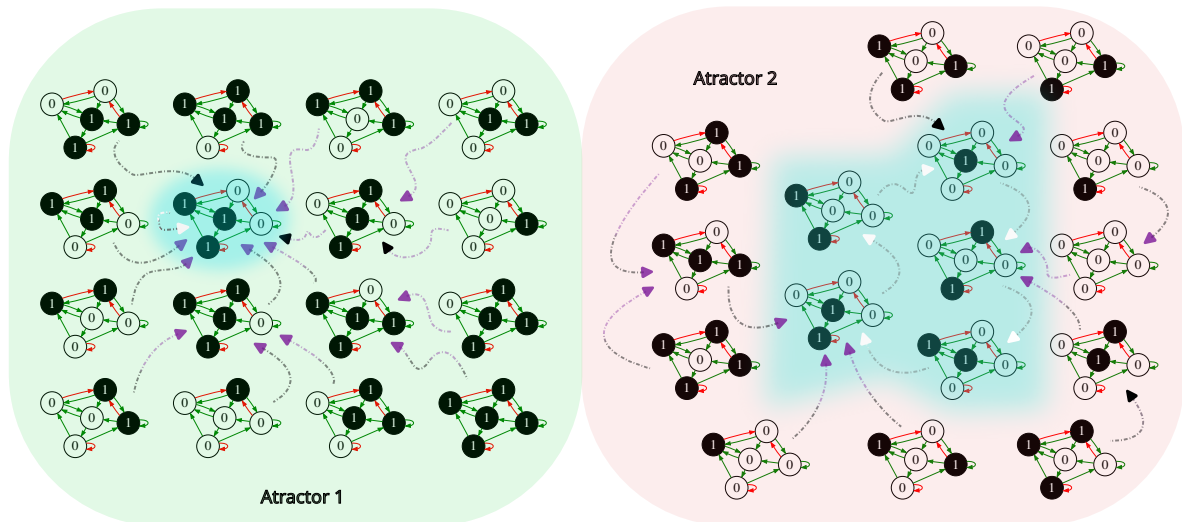


Figura 14: Cuencas de atracción de una red booleana. (A) Cuenca de atracción (región verde) del atractor punto fijo de la figura 13A (zona sombreada en azul). Obsérvese como, partiendo de cualquier estado que se encuentre dentro de este espacio de estados, se llega al estado del atractor punto fijo inequívocamente y jamás saldrá de ahí la dinámica de la red. (B) Cuenca de atracción del atractor periódico de la figura 13B. Obsérvese cómo, al llegar a alguno de los tres estados que conforman el atractor (zona sombreada azul) a partir de cualquier otro estado que pertenece a su cuenca (región roja), los tres estados continuarán alternando entre estados eternamente.

1.6.3. Tipos de redes booleanas en base al esquema de actualización que utilizan

A continuación se describen las principales modalidades que se utilizan para simular la dinámica de una red booleana (Karlach y Shamir, 2008):

Esquema de actualización sincrónico

En este esquema, la actividad de todos los genes se actualiza al mismo tiempo siguiendo la ecuación explicada anteriormente (Saadatpour y Albert, 2013). Como ya se explicó, esto provoca que el estado posterior $\vec{x}^{(t+1)}$ al simular la dinámica desde un estado particular $\vec{x}^{(t)}$ siempre sea el mismo, por lo que este esquema es *determinista*.

El principal problema de este enfoque, a pesar de su gran sencillez, es que implica que la variación temporal en la expresión de todos los genes es la misma, que equivale a que el período de tiempo que toma a cada gen para cambiar su estado es el mismo o que los procesos por los que son regulados son equitemporales, lo que no es cierto (Garg *et al.*, 2008). Es decir, la actualización de los genes en

un sistema de regulación en la naturaleza no ocurre al mismo tiempo, como sí lo hace este esquema (Norrell *et al.*, 2007; Albert *et al.*, 2008). Aunado a lo anterior, esta suposición provoca que la simulación pueda arrojar falsos positivos, es decir, que su dinámica desemboque en atractores falsos (Klemm y Bornholdt, 2005).

Esquema de actualización asincrónico

Al actualizar asincrónicamente, se selecciona qué gen/genes de la red serán actualizados en cada paso de la dinámica, a diferencia del caso sincrónico en el que todos los genes se actualizan al mismo tiempo. Dependiendo de la manera en que se defina cuáles son los genes a actualizar, este esquema puede ser *determinista* o *estocástico*. En la actualización asincrónica determinista, suelen utilizarse reglas periódicas específicas para definir cuáles genes se actualizan en cada momento (puede elegirse que un gen i se actualice únicamente en los estados con t par, por mencionar un ejemplo). A pesar de esto, cada estado posterior $\vec{x}^{(t+1)}$ seguirá siendo siempre al mismo a partir de un $\vec{x}^{(t)}$. En la actualización sincrónica estocástica, la manera de elegir qué genes se actualizan se efectúa de manera aleatoria. Esto permite asignar probabilidades de actualización específicas para cada gen o permitir que todos tengan la misma probabilidad de actualizarse. Por lo anterior, a partir de un estado particular $\vec{x}^{(t)}$, es posible llegar a estados $\vec{x}^{(t+1)}$ distintos.

La ventaja más importante que ofrece este esquema de actualización es que corresponde con mayor fidelidad a lo que ocurre en las redes de regulación genética en la naturaleza, puesto que los eventos de señalización y regulación no suceden al mismo tiempo, ni en secuencias temporales de la misma magnitud, por lo que representan de manera más realista el componente temporal de las redes (Bornholdt, 2008; Saadatpour *et al.*, 2010). Sin embargo, aunque es más eficaz al momento de encontrar atractores deseados, dado su componente estocástico al momento de actualizar cada gen, el tamaño del espacio de estados de la red incrementa. Por lo tanto, este comportamiento también provoca que su análisis computacional sea desafiante, además de que determinar las escalas temporales con precisión del proceso estudiado en cuestión es muy complicado (Garg *et al.*, 2008).

Probabilística

En las redes booleanas probabilísticas se asigna más de una función de actualización lógica para cada uno de los genes. Las distintas funciones que se definen para cada gen cuentan con una probabilidad determinada y de esta dependerá la elección de cuál utilizar en cada actualización de estado (Shmulevich *et al.*, 2002). De este modo, aunque el esquema de actualización de los genes se efectúa sincrónicamente, al no utilizarse siempre las mismas funciones este modelo también es estocástico. La idea de establecer distintas funciones para cada gen se originó ya que existe incertidumbre en la validez de los datos que se obtienen al medir experimentalmente la expresión temporal de los distintos genes que conforman la red (Shmulevich *et al.*, 2002; Pal *et al.*, 2005).

1.6.4. Propiedades de las redes de regulación genética booleanas

El estudio extenso que se ha realizado de las redes de regulación genética booleanas ha permitido identificar algunas características que están altamente presentes en la mayoría de las mismas. Entre las más destacadas se encuentran:

Funciones canalizantes y robustez dinámica

Una característica que se ha reportado es que las funciones booleanas que describen sistemas de redes de regulación genética siguen una tendencia respecto al tipo de reglas de actualización que obedecen los genes. En estas, el valor lógico que se obtendrá al evaluarlas podría determinarlo solo una de entre todas las variables de entrada de esa función en específico. Es decir, si para un gen i que depende de k reguladores se evalúa su función de actualización $f_i(x_1, x_2, \dots, x_k)$, el valor (ya sea *verdadero* o *falso*) de al menos una de sus variables de entrada determinará el resultado de toda la función,

independientemente de las otras $k - 1$ variables. A las reglas que presentan este comportamiento se les conoce como *funciones canalizantes* (Kauffman, 1993). También se ha propuesto el concepto de *funciones canalizantes anidadas*. En este caso, cada una de las k variables de entrada de las que depende su evaluación cumple con la condición de canalización para la función que evalúan (Jarrah *et al.*, 2007). Está bien documentado que en los modelos de procesos biológicos la actualización de los genes, en general, sigue funciones canalizantes o funciones canalizantes anidadas, lo que se ha relacionado con robustez dinámica y mínima complejidad booleana de las redes, es decir, que la regulación génica esté determinada principalmente por funciones que se pueden expresar de la manera más simple posible le confiere robustez a perturbaciones en la dinámica de la red. ((Kauffman *et al.*, 2003; Gershenson *et al.*, 2006; Subbaroyan *et al.*, 2022; Kadelka, 2026).

Criticalidad y heterogeneidad

Se ha sugerido ampliamente que el funcionamiento de las redes de regulación genética se encuentra en un régimen *crítico*, lo cual ha sido demostrado parcialmente (Shmulevich *et al.*, 2005; Nykter *et al.*, 2008; Daniels *et al.*, 2018; Borriello y Daniels, 2021), aunque este concepto aún tiene algunos detractores (Park *et al.*, 2023). La idea central postula que la estructura y dinámica de las redes permite que tengan un comportamiento que es parcialmente estable, representando la frontera entre la estabilidad y la inestabilidad a partir de la cual, ante pequeñas perturbaciones, la dinámica puede responder siguiendo un comportamiento caótico u ordenado (Lynch, 2002; Socolar y Kauffman, 2003). La criticalidad permite la evolución gracias a la variación en la robustez y acceso a plasticidad fenotípica que este comportamiento implica (Torres-Sosa *et al.*, 2012; Marques-Pita y Rocha, 2013). Asimismo, este comportamiento podría explicar cómo los procesos por los que los sistemas biológicos alcanzan niveles altos de organización están codificados principalmente en cómo se arregla su estructura, sin protagonismo de la selección natural, teoría que también fue planteada por Kauffman, donde mostró que los sistemas aleatorios pueden autoorganizarse y ordenarse bajo ciertos parámetros en específico (Fogelman-Soulie *et al.*, 1982; Kauffman, 1991, 1993; Gershenson, 2011). Esta propiedad ha sido relacionada con la heterogeneidad estructural y temporal que presentan (Lee y Rieger, 2008; Sánchez-Puig *et al.*, 2023). La heterogeneidad estructural significa que la distribución de conectividad de entrada y salida de los genes no es homogénea, por lo que la topología de la red contiene diversos sesgos estructurales (modularidad, asortatividad, jerarquía, etc.)(Solé y Valverde, 2004; Valverde *et al.*, 2015). La heterogeneidad temporal es la diferencia que existe en los períodos de tiempo de regulación de los distintos genes. Además, la heterogeneidad temporal también explica qué tan diversa es la composición y tamaño de los estados que conforman los atractores de la red (López-Díaz *et al.*, 2023).

1.6.5. Redes booleanas para estudiar la diferenciación celular y el desarrollo

La utilización de estas redes es preferible sobre otros modelos de simulación dinámica (Bornholdt y Kauffman, 2019; Márquez-Zacarías *et al.*, 2021), como lo son enfoques que utilizan ecuaciones diferenciales ordinarias, modelos bayesianos, ecuaciones de diferencia, etc. (Ristevski, 2012; Wang, 2019; Barbuti *et al.*, 2020), dada su simplicidad y efectividad para simular estos fenómenos. Entre sus limitaciones están la incompletitud de los modelos que se han construido hasta ahora, aunque se ha demostrado que aún así son útiles (Tripathi *et al.*, 2023), aunado a que su viabilidad computacional resulta desafiante cuando el tamaño de las redes es grande, aunque existen métodos de reducción que permiten su análisis (Tan *et al.*, 2010; Parmer *et al.*, 2022). Estas redes han descrito con éxito procesos biológicos como lo son el ciclo celular, redes neuronales, enfermedades como el cáncer, rutas metabólicas, procesos de señalización, además de procesos del desarrollo y diferenciación celular. En específico, los modelos de diferenciación celular resultan útiles ya que estudiar la dinámica de estos sistemas permite recorrer las trayectorias que conducen a los distintos tipos celulares, así como identificarlos. Lo más fascinante de esto es que permite corroborar que los atractores de sistemas curados y respaldados de manera experimental realmente corresponden con los atractores de la simulación *in silico* (Figura 15). Entre los resultados más destacados utilizando este enfoque se encuentran la determinación floral en *Arabidopsis thaliana* (Espinosa-Soto *et al.*, 2004), el desarrollo de segmentos durante la morfogénesis en *D. melanogaster* (Sánchez y Thieffry, 2001, 2003; Albert y Othmer, 2003), la determinación de la identidad cardíaca en humano (Herrmann *et al.*, 2012), el desarrollo del área

cortical murina (Giacomantonio y Goodhill, 2010), la diferenciación de linfocitos Th (Mendoza y Xenarios, 2006), entre otros. Sumado a lo anterior, se ha podido corroborar experimentalmente que las cuencas de atracción efectivamente corresponden con los patrones de expresión celular que ocurren en la naturaleza (Huang *et al.*, 2005).

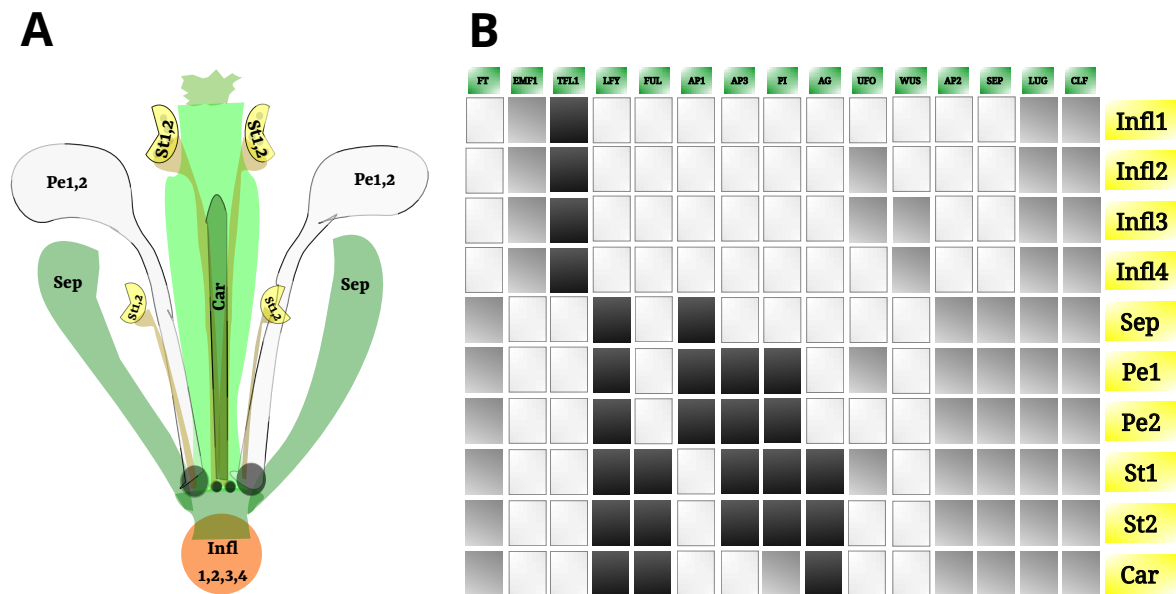


Figura 15: Los atractores corresponden a los tipos celulares observados en la naturaleza. (A) Tipos celulares que se originan en la determinación floral en *A. thaliana*. Infl: células meristemáticas de inflorescencia; Sep: células primordiales del sépalo; Pe1,2: células primordiales del pétalo; St1,2: células primordiales del estambre; Car: células primordiales del carpelo. (B) Atractores de la red booleana del proceso anterior (Espinosa-Soto *et al.*, 2004), construida en base a datos experimentales. El estado de actividad de los genes en los atractores corresponde bastante bien con los patrones de expresión genética que presenta cada una de estas células. Los encabezados de las columnas muestran los genes que conforman la red.

1.7. Las redes de diferenciación jerárquicas se originan a partir de redes de regulación genética con identidad jerárquica

Dentro del grupo de investigación que formo parte, se está estudiando cómo las propiedades de las redes de regulación genética influyen en la estructura de las **redes de diferenciación celular** (Meraz-Segura, 2026). Utilizando una variación del esquema de actualización del modelo de GRN propuesto por Wagner (Wagner, 1994), Meraz-Segura construye una red que contenga a los atractores de la red de regulación genética de origen, conectados por las posibles transiciones que existen entre ellos ante la presencia de perturbaciones, que pueden trasladar el sistema de un estado estable a otro. De esta manera se pueden representar los potenciales caminos que sigue un proceso de diferenciación celular (consultar *sección 3.2* para mayor claridad). Buena parte de su trabajo ha sido generar todas las redes que se pueden formar con un determinado número de nodos (o el mayor número alcanzable computacionalmente) y a su vez, constituir un muestreo de redes de diferenciación con los atractores de cada una de las redes. Sin embargo, esto es una tarea muy demandante computacionalmente y obtener muestreos que abarquen siquiera una parte considerable del espacio de redes formables a partir de más de 4 nodos resulta inaccesible, por lo que ha tenido que recurrir a métodos de optimización, como lo es el simulated annealing (Rutenbar, 1989; Guilmeau *et al.*, 2021).

Además de estudiar cómo algunas de las propiedades que presentan las redes de regulación genética

descritas en este escrito determinan las propiedades de las redes de diferenciación, se ha centrado principalmente en buscar qué condiciones conducen a una red de diferenciación con alta jerarquía (para comprender a qué me refiero con jerarquía en este aspecto y cómo se calcula, consultar la *sección 3.3*) que, como he explicado anteriormente, es de alto interés para nosotros dado que parece indicar el comportamiento de los procesos de diferenciación en la naturaleza. En su investigación, de entre todas las posibles características de una red de regulación genética que se pueden tomar en cuenta para definir la estructura de una red de diferenciación, ha identificado la presencia o ausencia de patrones de conectividad que parecen necesitarse y tal vez sean suficientes en una red de regulación genética de manera que se pueda obtener una red de diferenciación jerárquica.

Entre los patrones de conectividad identificados se encuentran los siguientes:

I. Regulaciones recíprocas.

a. Regulaciones simétricas:

Consisten en dos nodos que se regulan mutuamente pero que ejercen el mismo tipo de acción sobre el otro (activación-activación, inhibición-inhibición). La aparición de este patrón es la que ha sido detectada principalmente de entre las que se han identificado.

b. Regulaciones asimétricas:

Como en el caso anterior, consisten en dos nodos que se regulan mutuamente pero ahora la acción que realizan uno sobre el otro es opuesta (activación-inhibición, inhibición-activación). Esta configuración ha sido observada escasamente a comparación del otro tipo de regulación recíproca.

II. Autorregulaciones.

a. Positivas:

Genes que se regulan a sí mismos induciendo su propia actividad. Muchas de las veces están presentes junto a las regulaciones simétricas del caso anterior.

b. Negativas:

Genes que se regulan a sí mismos inhibiendo su propia actividad. Se ha detectado que este tipo de conexiones tiene una muy escasa presencia.

III. Circuitos de retroalimentación.

a. Positivos:

Consisten en genes conectados de manera que existe un camino a partir de un gen que regresa a ese mismo gen. Las regulaciones que conforman este circuito deben tener un número par de regulaciones negativas, así el efecto que ocasiona es positivo, ocasionando retroactivación constante.

b. Negativos:

Del mismo modo que en la situación anterior, hay genes conectados de manera que se forma un camino que parte de un gen y que regresará a ese mismo gen. Sin embargo, en

este caso las regulaciones que contiene el circuito tienen un número impar de regulaciones negativas, así el efecto que ocasiona es negativo, ocasionando retroinhibición constante, que se asocia a oscilaciones en la actividad de los genes.

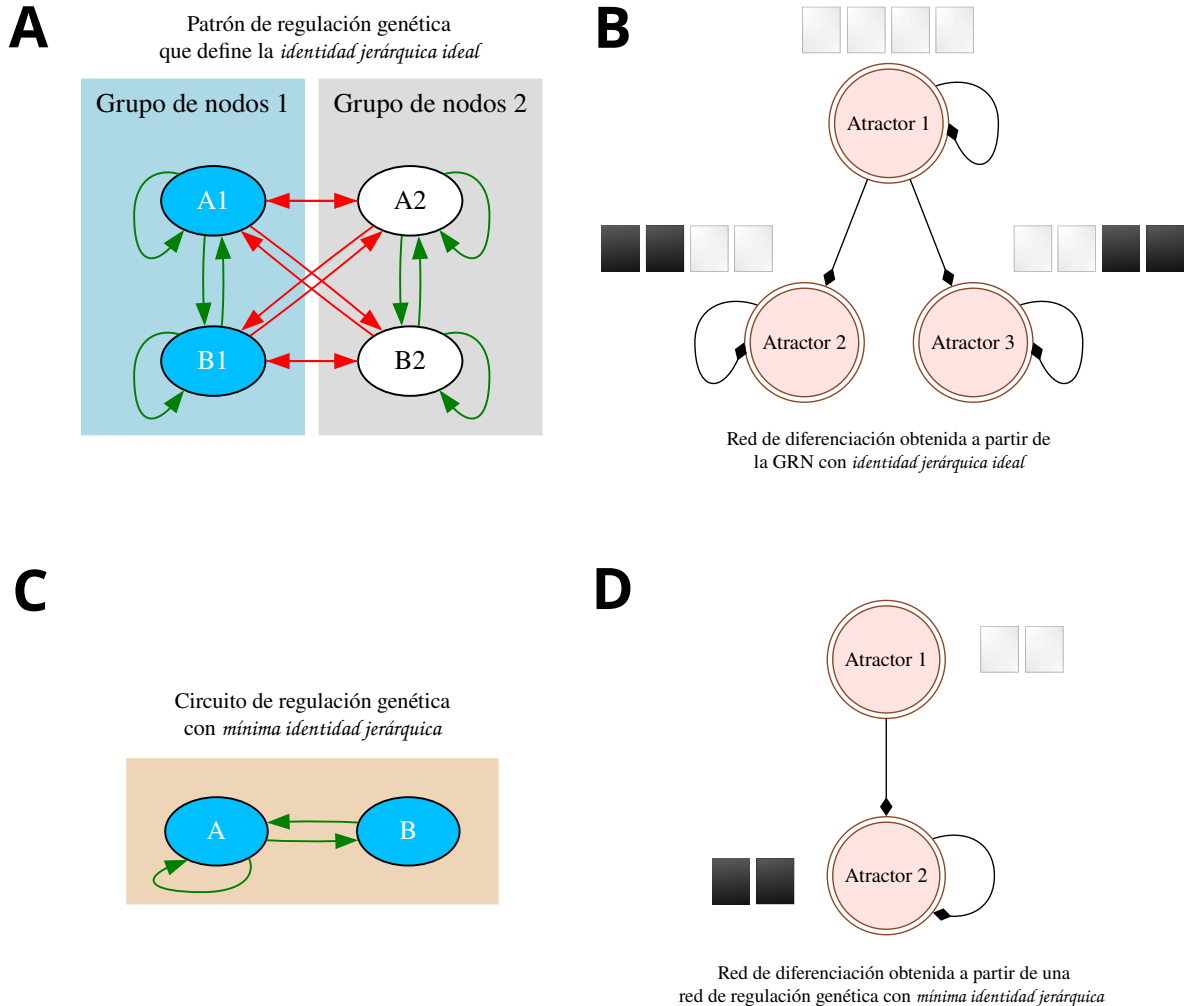


Figura 16: Patrones de regulación genética identificados en las GRN que producen redes de diferenciación jerárquicas. (A) La *identidad jerárquica ideal* consiste en grupos de genes que se inhiben mutuamente, provocando una red de diferenciación perfectamente jerárquica. (B) Red de diferenciación celular resultante de la GRN de (A). Obsérvese cómo los estados de los genes de los atractores 2 y 3 son recíprocos (celdas a los costados de los nodos). (C) La *identidad jerárquica mínima* consiste en una activación de genes mutua, además de que alguno de ellos se autorregula positivamente. Esto provoca una red de diferenciación jerárquica simple, con una transición de un estado indiferenciado a uno maduro. (D) Red de diferenciación celular resultante de la GRN en (B). Nótese que los genes están inactivos en el atractor 1 y activos en el atractor 2.

En general, el acoplamiento de todos estos patrones genera redes simétricas formando dos grupos de genes (para el caso más grande estudiado exhaustivamente hasta ahora, que es de 4 genes por red). Los genes que pertenecen al mismo grupo forman circuitos de retroalimentación positiva entre ellos (regulaciones recíprocas activación-activación, autoactivaciones, etc.) e inhiben a los genes que pertenecen al otro grupo (*Figura 16A*). Estos resultados parecen concordar bastante bien con lo observado

en algunas de las redes de regulación que han sido estudiadas hasta ahora, tanto experimental como computacionalmente (Kauffman, 1982; Davidson *et al.*, 2003; Alon, 2007; Huang *et al.*, 2007; Guantes y Poyatos, 2008; MacArthur *et al.*, 2008; Seo *et al.*, 2009; Burda *et al.*, 2011; Fuller, 2016; Azpeitia *et al.*, 2017; Teschendorff y Enver, 2017; Ye *et al.*, 2019; Montagna *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2023a; Bv *et al.*, 2025; Rashid y Hegade, 2025), incluyendo el modelo de Graf-Enver (Graf y Enver, 2009). Si bien el patrón de inhibición-inhibición, de entrada, también representa un circuito de retroalimentación positiva, la dirección en la que ejercerá su efecto dependerá de qué gen se activa primero, “inclinándose la balanza” hacia el grupo de genes que comanda. Esto también implica que las señales “cascada arriba” que reciben estos genes son vitales para determinar la trayectoria y fenotipo que expresará la red (Kim *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2010; Gupta *et al.*, 2011; Pina *et al.*, 2012; Shu *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2013; Kalkan *et al.*, 2017; De Caluwé *et al.*, 2019; Palii *et al.*, 2019; Bell *et al.*, 2024).

Motivados por lo anterior, este comportamiento estructural también lo hemos relacionado con los atractores de la red. Por ejemplo, en redes con 4 genes y 3 atractores que contienen esta organización, hemos observado que el patrón de actividad de los estados atractores también presenta un comportamiento simétrico, de manera que, además de un atractor raíz con todos los genes inactivos, los dos atractores a los que puede transicionar ante perturbaciones son mutuamente excluyentes, i.e., los genes que están activados en uno no lo están en el otro y viceversa (Véase la *figura 16B*). Esto también concuerda con observaciones experimentales al rastrear las modificaciones epigenéticas que acumulan los tipos celulares mientras avanza su proceso de especialización (Vierbuchen y Wernig, 2011; Trott *et al.*, 2012; Ostuni y Natoli, 2013b; Davis y Rebay, 2017).

Otro resultado interesante que se ha encontrado es que, para obtener las redes de diferenciación jerárquicas más simples, es necesaria una red de regulación genética con dos genes regulándose positivamente entre ellos y que además, alguno de los dos se autorregule positivamente también (*Figura 16C*). Una red de diferenciación con la estructura jerárquica más simple consta únicamente de dos atractores unidos en una sola dirección, que en el contexto de diferenciación celular representaría la transición de una célula indiferenciada a un estado más especializado. Es importante aclarar que en este patrón, la autorregulación positiva de alguno de los genes no debe estar estrictamente presente, dado que esto depende de las especificaciones del modelo que se esté utilizando al actualizar los genes. En el estudio de (Meraz-Segura, 2026), se definió que la ausencia de activadores de un gen en un tiempo particular t provoque que ese gen se inactive en el tiempo $t + 1$. Por consiguiente, sí es necesaria su autoactivación para mantener encendido al gen y que se forme el patrón de expresión del tipo celular diferenciado (véanse las *figuras 16C, 16D*).

En el caso en que una red contenga, en general, los patrones antes mencionados, considero que cuenta con lo que llamo **identidad jerárquica**. Si una red contiene todos los patrones descritos anteriormente aglomerados de manera que forma dos grupos simétricos, cuenta con la **identidad jerárquica ideal** (*Figura 16A*). De igual manera, si la red contiene los patrones que originan una red de diferenciación jerárquica simple, dictamino que cuenta con la **identidad jerárquica mínima** (*Figura 16B*). Este es el antecedente inmediato a partir del cual he desarrollado esta investigación, ya que como se ha reportado previamente, la dinámica de una red de regulación genética está codificada en su estructura (Pomerance *et al.*, 2009; Ahnert y Fink, 2016; Kobayashi *et al.*, 2018; Gates *et al.*, 2021; Mochizuki, 2023) y distinguir los patrones que conforman la identidad jerárquica en una amplia cantidad de modelos significaría una evidencia contundente de este mecanismo de organización genética en eventos del desarrollo.

(Para mayores detalles acerca de estos patrones y su identificación, ver la sección 3.4).

Estado del arte y justificación del proyecto

La diferenciación celular es una parte fundamental del desarrollo de organismos multicelulares, donde se crean diferentes tipos de células a partir de una célula embrionaria para formar los distintos tejidos y órganos en animales y plantas. En el cuerpo humano, se cree que hay más de doscientos tipos de células (Wu, 2011). El desarrollo está dirigido principalmente por la expresión controlada de genes que codifican factores de transcripción y componentes de rutas de señalización celular. Este mecanismo se lleva a cabo mediante reguladores del DNA que controlan la expresión genética durante la diferenciación. Las señales de regulación y las funciones de los genes de control del desarrollo forman redes de regulación genética (Levine y Davidson, 2005).

Al momento de estudiar el desarrollo en los seres vivos, es común encontrarse con los llamados árboles de diferenciación, los cuales muestran los “caminos” que se siguen durante el proceso de especialización de las células. Estos árboles han sido construidos en base a las observaciones hechas en experimentos donde se estudió algún evento del desarrollo en particular, pero esto no quiere decir que esta sea la única manera en que las células de determinado tipo sigan el proceso (Alicea *et al.*, 2014).

Aunque podría conocerse cómo están formadas todas las rutas de diferenciación posibles en un organismo, no sabemos por qué ocurren como ocurren. Esto depende de los patrones de expresión genética de las redes de diferenciación. Todas las rutas de diferenciación conocidas parece que tienden a formar árboles de diferenciación jerárquicos, pero no sabemos si esto siempre es verdad. Tal vez las redes de diferenciación conocidas tienen cierta estructura debido a que los tipos celulares se especializan siguiendo los caminos más accesibles. Esto depende de las condiciones de las redes de regulación genética que controlan el desenlace de estos eventos.

Al estudiarse procesos del desarrollo y evolutivos, las redes de regulación genética (GRN por sus siglas en inglés) destacan por considerar los múltiples y simultáneos mecanismos de epistasis que ocurren con frecuencia en procesos biológicos complejos. Las GRN describen la interacción entre conjuntos de genes o productos de esos conjuntos de genes unos con otros en un proceso del que dependen muchas funciones celulares. Estas redes ofrecen la posibilidad de estudiar un problema biológico clave como un sistema complejo, brindando explicaciones interesantes. Entre los procesos celulares en los que intervienen redes de genes están la diferenciación celular, vías de transducción de señales, procesos del metabolismo y ciclo celular, etc. (Karlebach y Shamir, 2008). En el contexto de la diferenciación celular, una GRN específica de un tipo celular permite conocer los eventuales destinos celulares posibles (especialización) (Hartmann *et al.*, 2019). Dada la dificultad para estudiar *in vivo* y *in vitro* múltiples interacciones moleculares y su comportamiento con el paso del tiempo, aunado al *cul de sac* que representa la acumulación cada vez más significativa de información reportada en las distintas bases de datos, resulta útil y necesario estudiar estos fenómenos biológicos computacionalmente (Lander, 2010; Arnosti y Ay, 2012). Considero que mi propuesta es atractiva y aún novedosa para sustentar observaciones y brindar información adicional para entender mecanismos de la evolución y el desarrollo (Servedio *et al.*, 2014).

2. Objetivos

■ General

1. Obtener redes de diferenciación a partir de redes de regulación genética del desarrollo y estudiar algunas de sus propiedades.
2. Determinar qué características estructurales de las redes de regulación genética de diferenciación celular explican las rutas de diferenciación jerárquicas que aparecen durante el desarrollo en la naturaleza.

■ Específicos

1. Construir redes de diferenciación a partir de los atractores obtenidos al simular las redes de regulación genética representativas de procesos de diferenciación en la naturaleza, analizar su estructura jerárquica y comparar las redes obtenidas con los árboles de diferenciación disponibles en la literatura.
2. Distinguir patrones topológicos de las redes de regulación genética asociados con la diferenciación celular jerárquica e irreversible en los sistemas biológicos y comparar su contenido con muestreos aleatorios generados para cada uno de ellos, observando si existe una diferencia entre el caso natural y el artificial.

3. Metodología

3.1. Recopilación y obtención de modelos lógicos booleanos de redes de regulación genética del desarrollo

Realicé una recopilación de modelos de redes de regulación genética en procesos del desarrollo utilizando primordialmente la base de datos *Cell Collective* (Helikar *et al.*, 2012). Esta es una plataforma creada principalmente para almacenar distintos modelos de GRN obtenidos a partir de resultados experimentales producidos alrededor del mundo. De esta plataforma pude extraer los archivos .sbml con la información de los modelos obtenidos. SBML (siglas de Systems Biology Markup Language) es un lenguaje de marcado desarrollado específicamente para codificar la información requerida para estudiar modelos biológicos computacionales. Por lo tanto, este archivo es fundamental para poder simular la dinámica de las redes utilizando funciones lógicas o matemáticas. La elección de *Cell Collective* se debe principalmente a que representa, hasta ahora, el mejor intento de establecer un sitio donde se concentre la mayor cantidad de modelos matemáticos de redes de regulación genética en el mismo lugar. Dado el posible sesgo que representa considerar únicamente modelos almacenados en una sola fuente, utilicé *GINsim* (Chaouiya *et al.*, 2012) para la recopilación de más modelos de redes de regulación genética del desarrollo que no se encontraran en la anterior, los cuales se encuentran en su propio archivo de importación .zginml. Sumado a las anteriores, también utilicé los repositorios de *Biodivine* (Pastva *et al.*, 2023) y de *CoLoMoTo* (Naldi *et al.*, 2015) para la recolección de más modelos lógicos

Además del conjunto de modelos que obtuve de las anteriores bases de datos/repositorios, recopilé aún más modelos realizando una búsqueda extensiva en la literatura, lo que incluye a todos los que fueron reportados en artículos que se hayan publicado antes de agosto de 2025, con la intención de acumular la mayor cantidad de evidencia disponible y así analizar el mayor número de modelos que me fuera posible. De entrada, los únicos requisitos que establecí para seleccionar los modelos a estudiarse fueron:

- que utilizaran funciones lógicas booleanas, es decir, consideré aquellos que representaran sistemas dinámicos discretos,
- que estas reglas fueran de dominio público y por lo tanto accesibles; y,
- que correspondieran a redes de regulación genética involucradas en eventos de diferenciación o el desarrollo.

Sin embargo, dado el componente estocástico que contienen, los modelos que hacen uso de la actualización asincrónica representaron un problema. La manera de simular la dinámica en estos modelos repercute claramente en mi manera de buscar las transiciones entre tipos celulares (que explicaré más adelante), ya que a partir de un estado $\vec{x}^{(t)}$ se puede llegar a múltiples estados posteriores distintos $\vec{x}^{(t+1)}$. Si bien es posible simular sincrónicamente estos modelos y alcanzar los mismos atractores que en el caso asincrónico (con la posibilidad de además encontrar atractores cíclicos artificiales), dado que las funciones booleanas para estudiar el sistema fueron determinadas con el esquema asincrónico en consideración, su dinámica intermedia no sería representativa del modelo original. Por todo lo anterior, he decidido descartar estos modelos. Esta es una limitación importante de mi modelo, puesto que una cantidad considerable de modelos reportados hasta ahora hacen uso de este esquema de actualización y no fueron considerados (Sanchez *et al.*, 2008; Giacomantonio y Goodhill, 2010; Krumsiek *et al.*, 2011; Bonzanni *et al.*, 2013; Moignard *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2015; Mbodj *et al.*, 2016; Yachie-Kinoshita *et al.*, 2018; Floc'hlay *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2021; Nuñez-Reza *et al.*, 2021; Hérault *et al.*, 2023; Yuste *et al.*, 2024).

Otra limitación que vale la pena señalar es que existen múltiples modelos que describen el mismo evento del desarrollo, lo cual está relacionado con el sesgo intrínseco que implica que los autores se enfocan en algún proceso en específico, y que además, suelen ser procesos de los que existen muchos más datos, por lo que son candidatos a ser modelados. Por esta razón, decidí conservar únicamente un modelo por proceso. Las redes booleanas probabilísticas fueron descartadas debido a las múltiples

funciones que otorgan a cada uno de los genes, dadas las posibles complicaciones que representa la elección específica de los parámetros de probabilidad que utilizan cada una de las reglas y al componente estocástico que significaría un problema similar al caso de los asincrónicos. Es importante señalar que los modelos multivaluados fueron aceptados.

Las consideraciones anteriores redujeron considerablemente el número de modelos a analizar, una restricción relevante.

3.2. Creación de redes de diferenciación

3.2.1. Búsqueda de los atractores de las redes

En la primera parte del proyecto hice uso principalmente de la biblioteca *BoolNet*, la cual es un esfuerzo de Müssel et al. (Müssel *et al.*, 2010), implementada para el lenguaje de programación *R*. Con esta herramienta se pueden analizar y obtener información relevante de redes lógicas booleanas de manera sencilla y rápida, dadas las múltiples funciones que contiene para estos fines. Resulta realmente útil dado que está diseñada específicamente para analizar los modelos de tipo booleano, ya que los que recolecté son de este tipo.

Para poder analizar un modelo de red de regulación genética, utilicé las funciones *loadSBML* y *loadNetwork* para importar la información necesaria para simular el sistema. Por esta razón, es necesario contar con una versión del modelo a analizar en un archivo *.sbml* o *.bnet*. Este último utiliza notación propia de la misma biblioteca. Otra utilidad que tiene *GINsim* es que permite obtener el archivo *.sbml* de una red de regulación genética que ha sido previamente importada en la plataforma de otra manera, lo cual es importante cuando no está disponible este archivo en algún otro lugar. Además, dado que *BoolNet* no permite importar redes multivaluadas, también utilicé *GINsim* para “booleanizar” este tipo de modelos. La manera en que se realiza esto es añadiendo nodos a la red, representando los estados adicionales a los dos binarios del mismo, los cuales dependen tanto de los reguladores del nodo original, así como del nodo original en sí. Para que estos estados se activen, deben estar activados el nodo que contiene el estado binario original y los mismos estados adicionales. Una consecuencia de hacer esto es que el tamaño de la red a simular aumenta, así como su espacio de estados, incluyendo estados no presentes en el modelo multivaluado original, que suelen denominarse *estados imaginarios*. Por lo anterior, tanto encontrar los mismos atractores, así como lograr que coincida la dinámica de la actividad génica del nuevo sistema con el comportamiento del sistema original resulta desafiante. Sin embargo, existen métodos que logran obtener los mismos atractores y evitar que la dinámica encuentre *estados imaginarios* (Naldi, 2018). Hecho esto, utilicé este recurso para obtener todos los atractores de las redes de regulación genética de diferenciación que ocurren en la naturaleza documentadas. Además, la biblioteca cuenta con herramientas que me han permitido visualizar las relaciones entre los genes que conforman las redes, así como las cuencas de atracción de los respectivos atractores encontrados.

Dos de las funciones estelares de esta biblioteca son *getAttractors* y *getBasinOfAttraction*. Utilizando la primera, pude encontrar los atractores de los sistemas de manera exhaustiva, i.e., simular a partir de cada una de las condiciones iniciales $\vec{x}_i \in X$, donde $X = \{\vec{x}_1, \dots, \vec{x}_L\}$, $|X| = 2^N$ es el conjunto finito de todos los estados posibles de la red. Para analizar exhaustivamente las redes es necesario que cumplieran con la condición $N \leq 29$. La segunda me permitió conocer todos los estados que forman parte de las distintas cuencas de atracción, para cada uno de los atractores de una red en particular, y su uso también está limitado por la condición con $N \leq 29$. Para los modelos que $N > 29$, emplé la misma función *getAttractors*, pero especificando que lo realizara de manera no exhaustiva, sino heurística. Para lograr esto la biblioteca emplea un algoritmo de satisfacibilidad booleana (SAT), mediante el cual puede encontrar los estados estacionarios en redes más grandes (Dubrova y Teslenko, 2011).

Para maximizar el número de redes que simulara con el enfoque exhaustivo, decidí eliminar aquellos genes que tuvieran $k_{out} = 0$, i.e., los *outputs* (*Out*) del sistema, puesto que su presencia no influye en la dinámica de la red y por lo tanto los atractores de la red se pueden encontrar en ausencia de ellos. Además, en las redes que contenían *inputs*, i.e., genes para los que $k_{in} = 0$, la manera en que determiné qué estados corresponden a un atractor fue distinta. Esto es debido a que, si tomamos

en cuenta los *inputs* (Inp) del sistema, donde $|Inp|$ es el número de *inputs* que contiene, podemos encontrar muchos atractores que difieren únicamente en su estado por el valor de las entradas de estos genes. Sin embargo, los *inputs* sí que son cruciales para simular la dinámica y encontrar los atractores de la red, así que lo que decidí hacer fue distinguir entre dos tipos de componentes de la red. Primero, están los elementos de (Inp) que como ya se explicó, son parte importante para la dinámica de la red pero no tienen relevancia alguna al momento de definir un atractor. También están los componentes que llamo *genes efectivos* G_e , los cuales corresponden a cualquier gen que no esté en Inp o Out . Por lo anterior, para cada estado correspondiente a un atractor $\vec{x}^* \in A$ extraigo las entradas que conforman Inp y el estado \vec{x}^* depende únicamente de G_e . También, para las redes con $N \leq 29$, simulé todas las combinaciones posibles de estados $\vec{x}_i \in X$, incluyendo las $2^{|Inp|}$ que implican una diferencia respecto a otro estado $\vec{x}_j \in X$ únicamente por la del *input*. Sin embargo, para cada uno de los atractores $a_i \in A$, las entradas $input \in Inp$ fueron retiradas de cada $\vec{x}_i \in X$ en las cuencas de atracción. Para las redes con $N > 29$, ya que no es posible evaluar la dinámica desde todas las condiciones iniciales \vec{x}_i , únicamente se obtuvieron los atractores del sistema con la función *getAttractors*; sin embargo, la consideración de In será crucial al momento de obtener las transiciones entre atractores, como se verá más adelante.

3.2.2. Perturbación de los atractores para determinar sus transiciones y construcción de redes de diferenciación

Los atractores encontrados, representando los tipos celulares del proceso, los someto a perturbaciones simbolizando modificaciones epigenéticas o cualquier otro tipo de alteración en la actividad de los genes de manera individual, i.e., conmuto por su contraparte binaria el valor que presenta alguno de los genes g_i en el atractor \vec{x}^* , y repito el proceso para cada uno de los N genes $g_1 \dots g_n$ por separado. Conmutar por separado implica que, por evento de *modificación de estado*, solo puedo cambiar un solo elemento del vector que define al atractor, mientras los demás conservan su valor. Sea a_i uno de los atractores de la red, defino entonces al conjunto P_i , conteniendo todos los posibles N estados perturbados como $P_i(a_i) = \{\vec{p}_1, \dots, \vec{p}_k\}$, con cada elemento \vec{p}_k difiriendo del estado original del atractor a_i por un valor. Por ejemplo, si $g_i(\vec{x}^*) = 1$, $g_i(\vec{p}_i) = 0$, mientras que los demás $N - 1$ se mantienen iguales. Además, dado que para cada $a_i \in A$ corresponde un P_i , puedo definir al conjunto P englobando cada uno de los P_i , los conjuntos de estados que se obtienen al perturbar cada uno de los atractores, como $P = \{P_1, \dots, P_F\}$.

Para simular lo anterior y poder encontrar las transiciones entre atractores *in silico*, desarrollé código propio apoyado de algunas funciones que contiene la biblioteca *BoolNet*. Más específicamente, para las redes donde $N \leq 29$, dado que contaba con las cuencas de atracción de cada uno de los atractores, para cada $P_i \in P$, busqué a qué atractor a_j correspondía cada uno de los elementos $\vec{p}_k \in P_i$, examinando exhaustivamente cada una de las cuencas de atracción. De esta manera, si uno de los $\vec{p}_k \in P_i$ se encuentra en la cuenca de atracción del atractor a_j , existe una transición del atractor a_i al atractor a_j , simbolizada como $a_i a_j$ o $a_i \rightarrow a_j$. Este proceso lo realicé para cada uno de los conjuntos $P_i(a_i) \in P$. Para las redes donde $N > 29$, utilicé la función *getPathToAttractor*, también de *BoolNet*, la cual me permite conocer en qué atractor desemboca un estado en específico. Sin embargo, es importante identificar si la red que estamos analizando contiene *inputs* (Inp), puesto que esto dificulta cómo se buscan las transiciones a partir del conjunto $P_i(a_i)$. Como se explicó en la *sección 3.2.1*, la presencia de los elementos de Inp es importante al momento de simular la dinámica de la red, pero no al momento de definir los atractores, por lo que son retirados de los $\vec{x}_i^* = a_i \in A$. Por lo tanto, cada estado $\vec{p}_k \in P_i$ solo contiene a elementos de G_e . Sin embargo, al utilizar la función *getPathToAttractor*, es necesario evaluar todas las $2^{|Inp|}$ combinaciones de estados que contienen a las entradas de Inp para cada $\vec{p}_k \in P_i$ puesto que sí tienen un impacto en la dinámica de la red. Para evaluar todas las $2^{|Inp|}$ combinaciones asignadas a cada \vec{p}_k , decidí codificar cada combinación con una etiqueta binaria única $i \leq 2^{|Inp|}$, indicando las posiciones del vector \vec{p}_k que pueden ser cambiadas y que corresponden a los elementos de In . Repetí el proceso con cada uno de los $2^{|Inp|}$ estados y así obtener la *dinámica efectiva* del estado \vec{p}_k en particular. Considerando lo anterior, defino al estado efectivo $p_{k_{inp}}(\vec{p}_k \in P_i \in P) = \{p_{k_1}, \dots, p_{k_{|Inp|}}\}$ conteniendo todos los estados asociados al estado original \vec{p}_k . Este procedimiento lo realicé con cada $\vec{p}_k \in P_i \in P$ en los modelos que lo requirieran. Aclarado lo anterior, para cada uno de los \vec{p}_k , busqué hacia que atractor $a_j \in A$ se dirige al estabilizarse el sistema, donde nuevamente, si algún estado $\vec{p}_k \in p_{k_{inp}}(\vec{p}_k \in P_i \in P)$

alcanza un atractor $a_j \in A$, significa que existe una transición del atractor a_i al atractor a_j , i.e., $a_i a_j$ o $a_i \rightarrow a_j$. Como ya se mencionó anteriormente (y tal vez se mencione otra vez), es fundamental darse cuenta de que una transición $a_i \rightarrow a_j$ no es igual a una $a_j \rightarrow a_i$, ya que distinguir entre el sentido en que ocurren las transiciones es imprescindible al momento de construir las redes de diferenciación que se presentarán más adelante.

La noción de esta estrategia es emular computacionalmente las *modificaciones de estado* de los genes que ocurren biológicamente, que pueden deberse a la aparición de señales extracelulares o factores de transcripción que provoquen cambios en la actividad de los genes (*Figura 17A*), y encontrar qué variantes fenotípicas $a_i \in A$ son accesibles al seguir la dinámica de la red después de perturbar un atractor a_i representando un tipo celular, i.e., que otros atractores alcanzan los estados que conforman cada uno de los $P_i(a_i)$, obtenidos al perturbar cada uno de los atractores de la manera descrita anteriormente. En otras palabras, observo si la perturbación a un atractor provoca que la dinámica se traslade hacia otro atractor o no. Ya que en este contexto cada atractor simboliza un tipo celular, las transiciones representan la diferenciación de algún tipo celular en otros, que son las variantes fenotípicas accesibles para ese tipo celular en particular. Al realizar esto para todos los atractores de la red puedo identificar todas las transiciones que ocurren entre ellos e identificar todos los eventos de diferenciación celular que ocurren en el sistema (*Figura 17B*).

Se puede apreciar que la probabilidad de que ocurra un evento de diferenciación depende directamente de las cuencas de atracción, donde los atractores tenderán a transicionar hacia el atractor con la cuenca de mayor tamaño y viceversa, es muy difícil transicionar hacia un atractor con una cuenca pequeña. además, dado que los componentes de $\vec{p}_k \in P_i$ tienden a pertenecer a la cuenca del mismo atractor a_i , es casi seguro que la transición $a_i a_i$ o $a_i \rightarrow a_i$ ocurra. Lo mismo es cierto para cada $a_i \in A$. Esta es una manera de demostrar la robustez que presentan los sistemas biológicos, puesto que simboliza la tendencia del sistema a permanecer en el mismo tipo celular en presencia de las *modificaciones de estado genéticas*, pero a la vez revela a qué otros tipos celulares es posible que se diferencie cuando recibe señales específicas. Esta manera de buscar transiciones entre atractores representando tipos celulares ya se ha utilizado anteriormente en otros estudios donde analizan redes de regulación genética implicadas en la diferenciación celular Martínez-Sánchez *et al.*, 2015.

De manera análoga a cómo se define una GRN, los atractores y todas las posibles transiciones entre ellos pueden describirse mediante un grafo, al cual me refiero como **red de diferenciación celular** a lo largo de todo este escrito, en el que cada nodo representa un atractor de la red de origen y cada arco representa una posible transición de un atractor a otro. Formalmente, defino una red de diferenciación $\mathcal{D}(A, T)$, donde $A = \{a_1, \dots, a_n\}$, $|A| = F$, es el conjunto de nodos, representando a los atractores del sistema y su cardinalidad es el número de atractores, i.e., los fenotipos F que expresa la red. Asimismo, $T = \{a_i a_j, \dots, a_k a_m\}$ es el conjunto de arcos, representando las transiciones entre los atractores, donde la notación $a_i a_j$ señala que la transición involucra a los atractores a_i y a_j y además especifica que la dirección en que ocurre la transición es $a_i \rightarrow a_j$. Del mismo modo, $a_j a_i$ implica que en la transición participan los mismos atractores que en el caso anterior pero ahora ocurre en la dirección $a_j \rightarrow a_i$. La dirección de las transiciones entre atractores es vital para los propósitos de este proyecto, ya que está íntimamente ligada a los conceptos de *jerarquía* e *irreversibilidad*.

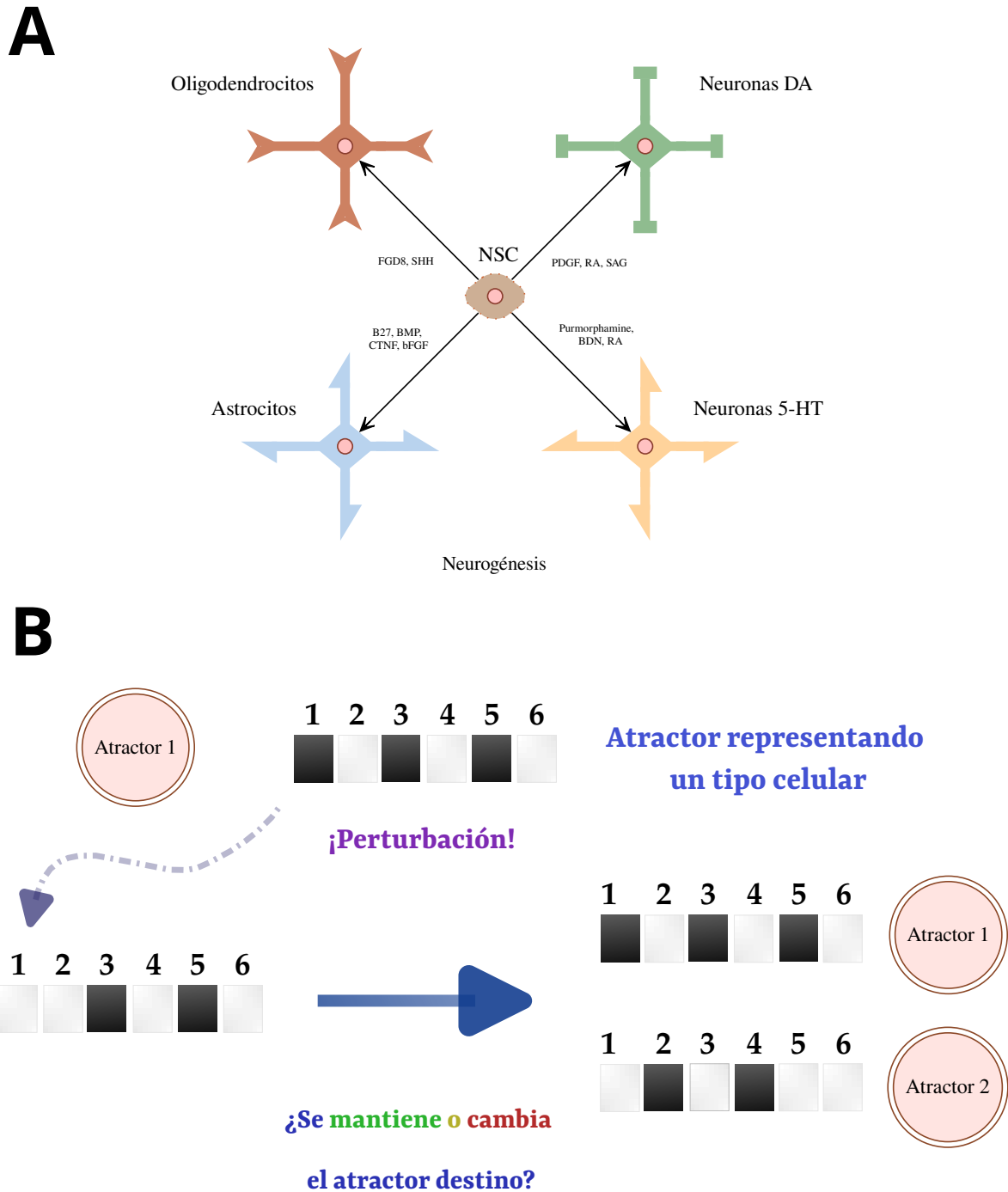


Figura 17: Modelo para construir redes de diferenciación celular. (A) Las señales extracelulares determinan si una célula se diferenciará o no, en el ejemplo se aprecia cómo influyen en la neurogénesis. Figura basada en la encontrada en (Lee *et al.*, 2024). NSC: células madre neuronales; DA: dopamina; 5-HT: 5-hidroxitriptamina, mejor conocida como serotonina. (B). Estrategia para obtener redes de diferenciación celular. Perturbo los estados estables del sistema gen por gen, con la intención de emular los mecanismos moleculares que influyen en la diferenciación celular, como ocurre en (A). Estas perturbaciones pueden provocar una transición a un estado estable distinto o no.

3.2.3. Ponderación de las redes de diferenciación

Tomando en cuenta que es posible que exista una tendencia a que las transiciones que relacionan dos nodos en una red de diferenciación de manera cíclica ocurran con mayor frecuencia en una dirección que en otra (Ver *sección 4.1.2*), defino al peso de una transición w (por su nombre en inglés, *weight*) como el número de perturbaciones que ocasionan una transición entre atractores en una dirección específica (*Figura 15B*). Esto es importante ya que así puedo conocer la probabilidad de cada transición y, por lo tanto, determinar cuál es la transición que efectivamente ocurrirá. Si no tomara en cuenta lo anterior, como ejemplo, supongamos que tenemos dos atractores a_i, a_j con una relación cíclica en la red de diferenciación, entonces sabría que existen las transiciones $a_i \rightarrow a_j$ y $a_j \rightarrow a_i$, pero no cuántas perturbaciones ocasionan cada una de las mismas (*Figura 15A*). Por lo tanto, para cada uno de los arcos que conforman las redes calculé:

$$T_e = \frac{w_i}{w_r} \quad (2)$$

donde, T_e determina la transición efectiva que ocurre entre dos nodos de la red, definida como la razón entre los pesos de las transiciones w_i, w_j en direcciones opuestas, w_i es el número de perturbaciones que provocaría una transición que, de ser efectiva, contribuiría a formar una relación acíclica entre los nodos (transición de ida), y w_r es el número de perturbaciones que provocaría una transición que, de ser efectiva, contribuiría a formar una relación acíclica entre los nodos (transición de regreso). En general, son pocas las perturbaciones que causan transiciones de un atractor a otro, por lo que son pocos los casos en los que T_e es $\gg 1$ o $\ll 1$. Aclarado lo anterior, para considerar una relación cíclica ponderada entre dos nodos como una sola transición efectiva en la red, consideré los casos en que T_e fuera ≥ 3 o $\leq \frac{1}{3}$, es decir, que independientemente del sentido en que ocurra, el número de perturbaciones que causa una transición en una dirección es al menos tres veces el de la dirección opuesta (*Figura 18*). Ya que la condensación de una red, al eliminar todos los ciclos presentes en la misma, no toma en cuenta este posible fenómeno (Ver *sección 3.3.1*), es vital cuantificar T_e antes de realizar este proceso. Esta consideración me permitió obtener una red efectiva \mathcal{D}_e (*Figura 15C*) (para los casos que lo meritaban), a la que posteriormente condensé y evalué su jerarquía.

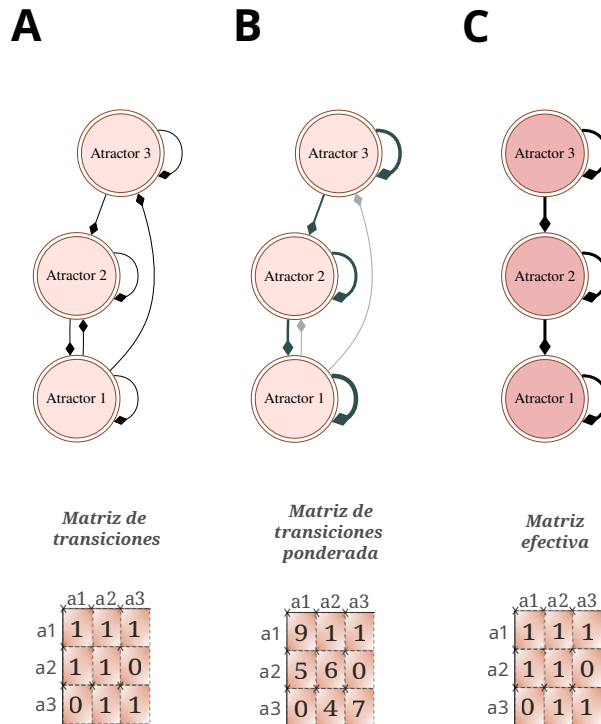


Figura 18: Ponderación de una red de diferenciación celular. (A). Red de diferenciación celular original. (B). Red de diferenciación celular ponderada. (C). Red de diferenciación celular efectiva.

3.3. Definición y evaluación de la jerarquía en redes de diferenciación

A lo largo de los años se han propuesto diversos métodos para obtener una medida de la jerarquía de las redes, incluyendo a las GRN. Sin embargo, la mera definición de jerarquía es polisémica respecto a qué se está refiriendo específicamente. Muchas veces se encuentra que en la literatura de las GRN hace referencia a la estructura modularmente jerárquica que presentan, lo que significa que los genes forman módulos que además se agrupan entre ellos dentro de clústeres que los contienen, lo cual está relacionado con modularidad y la topología libre de escala (Mones *et al.*, 2012; Mengistu *et al.*, 2016). También se ha propuesto optimizar la estructura en capas (de arriba a abajo) que toman en cuenta el orden de aparición de los genes en la red (de *inputs* a *outputs*) y observan si existen más interacciones que vayan hacia capas superiores o inferiores a lo largo de la red (Cheng *et al.*, 2015). Sin embargo, para los fines de este proyecto seguí la definición propuesta por Corominas *et al.* (Corominas-Murtra *et al.*, 2013) por las razones que se mencionan a continuación.

Según la teoría desarrollada en por Corominas-Murtra *et al.*, la jerarquía en una red parte de tres supuestos: que sea **ordenable**, **rastreable** y **piramidal**. *Ordenable* significa que, si nombramos los nodos de la red en orden numérico, los arcos siempre apuntarán hacia nodos con un nombre mayor del que provienen. En otras palabras, no existen relaciones cíclicas en la red. *Rastreable* quiere decir que cada arco que apunta hacia un nodo tiene un nodo de origen único, es decir, no existe duda de cuál es el arco de origen que apunta hacia él. Que la red sea *piramidal* implica más cosas: primero, que cada nodo con arcos de salida apunta hacia más de un nodo; segundo, que solo existe un nodo sin arcos de entrada; finalmente, que todos los nodos sin arcos de salida tienen el mismo número de reguladores “cascada arriba” hasta llegar hasta el nodo sin arcos de entrada. Dicho de otra manera, para llegar al nodo de la “cima” (sin arcos de entrada) desde los nodos del “fondo” (sin arcos de salida) siguiendo los arcos de la red, se deben atravesar la misma cantidad de nodos para cada uno de los nodos del “fondo”. Esto asegura que la medida de la jerarquía, como la han definido ellos, sea máxima cuando la topología de la red se asemeja a un diagrama en forma de pirámide o árbol invertido con simetría bilateral. Ya que determinaron cómo es el arquetipo de red jerárquica, ahora es posible evaluar qué tanto difiere cualquier red respecto a la misma en los tres supuestos anteriores, brindando flexibilidad respecto a las distintas variaciones estructurales que pueden ocurrir (Ver *sección 3.3.2*).

Esto es pertinente para analizar las características “morfológicas” de las redes de diferenciación que he definido anteriormente, puesto que cuantificar qué tan cercana es su estructura a una idealmente jerárquica según los supuestos presentados anteriormente es un buen indicador de cómo se organizan los caminos de diferenciación ya que, a diferencia de los métodos mencionados anteriormente, no es solo cuantificar si existe un sesgo respecto a la dirección que siguen los arcos al ordenar la red en capas, sino que al considerar los tres supuestos conocemos información adicional de cómo se organiza su estructura y los caminos que existen al seguir sus arcos, algo que llaman “cadena de comando” en el artículo original del trabajo. De esta manera puedo evaluar si las redes de diferenciación obtenidas se asemejan a los diagramas presentes en la literatura que fueron construidos experimentalmente, usualmente llamados árboles de diferenciación, pero no visualmente, sino de una forma puramente matemática.

3.3.1. Condensación y división en capas de una red

Para poder aplicar la definición de jerarquía presentada anteriormente en una red de diferenciación \mathcal{D} , es necesario eliminar cualquier relación cíclica que exista en su estructura, Con esto en mente, debo generar una división en capas de la red, las cuales son importantes para la *piramidalidad*, la primera de tres coordenadas de la jerarquía que se explicará más adelante. Las capas pueden ser obtenidas encontrando los componentes fuertemente conexos de la red, por lo que primero explicaré las características de estos objetos. Sea CFC el conjunto de componentes fuertemente conexos, definido como $CFC(\mathcal{D}) = \{CFC_1, \dots, CFC_k\}$, el cual contiene cada uno de los componentes CFC_i , que corresponden a las distintas estructuras cíclicas que tiene la red. Los elementos de cada CFC_i se definen con los atractores que forman parte de alguna ruta en la red que, partiendo de algún atractor de origen se puede volver al mismo, donde las relaciones entre sus elementos permiten que a partir de cualquier atractor que es parte de CFC_i se pueda llegar a otro que también está en CFC_i (*Figura*

19A). Realizar esto me permite deshacerme de cualquier ruta que se pueda seguir que parta de y llegue a un mismo nodo de origen a lo largo de toda la red.

Partiendo de lo anterior, puedo definir al conjunto A_C , conteniendo tanto a los atractores que pertenecen a algún CFC_i , representados con un solo elemento, así como a los atractores que no se encuentran en ningún CFC_i . De esta manera, el conjunto A_C considera a todos los atractores de la red. Cada CFC_i tiene asociado un peso \mathcal{W}_i (Figura 19B), equivalente al número de atractores que contiene, i.e.,

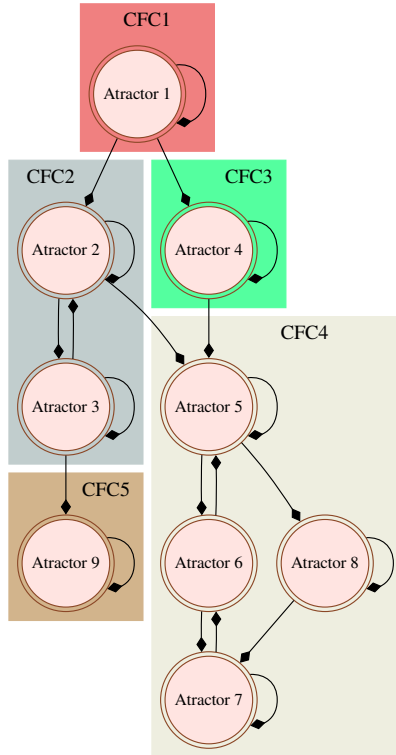
$$\mathcal{W}_i = |CFC_i|. \quad (3)$$

También adviértase cómo:

$$\sum_{i \in |CFC|} \mathcal{W}_i = |A| = F. \quad (4)$$

La ecuación (4) implica que la suma de los pesos de los componentes fuertemente conexos debe ser igual al número de atractores de la red. Esta idea, dentro del marco de diferenciación y desarrollo, es reminiscente a algo que ya se había estudiado en (Ribeiro y Kauffman, 2007; Serra *et al.*, 2010a). Ahí, también agrupaban en un solo objeto a los atractores que formaran relaciones cíclicas entre ellos al perturbarse, al cual llamaron *conjuntos ergódicos*.

A



B

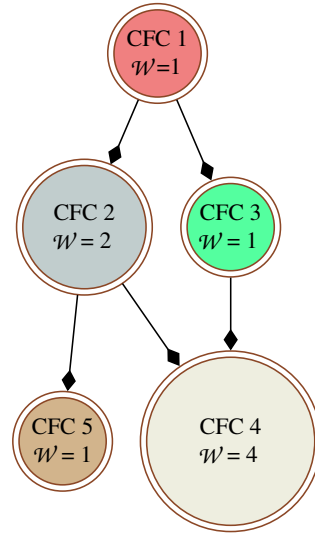


Figura 19: Las redes de diferenciación se condensan y posteriormente se evalúa su jerarquía. (A) Red de diferenciación celular original indicando a qué CFC pertenece cada uno de los atractores. (B). Red de diferenciación celular condensada. Nótese cómo el peso de CFC corresponde al número de atractores que aglomera.

La estrategia a seguir es ir condensando la red hasta obtener un *grafo acíclico dirigido* (*DAG*), que corresponde a la contraparte análoga en el caso no dirigido, la cual se conoce como *árbol* en la jerga de *teoría de grafos*. Al *DAG* obtenido lo llamo $\mathcal{D}_C(CFC, T_C)$, donde, similar a los grafos que se han definido previamente, $CFC = \{CFC_1, \dots, CFC_k\}$ es el conjunto de componentes fuertemente conexos que ya hemos definido representados por nodos. Asimismo, $T_C = \{CFC_i CFC_j, \dots, CFC_k CFC_m\}$ es el conjunto de transiciones entre los *CFC*, representados por los arcos del *DAG*. Otra vez, la notación $CFC_i CFC_j$ señala que la transición involucra a los componentes fuertemente conexos CFC_i y CFC_j y además especifica que la dirección en que ocurre la transición es $CFC_i \rightarrow CFC_j$. Del mismo modo, $CFC_j CFC_i$ implica que en la transición participan los mismos *CFC* que en el caso anterior pero ahora ocurre en la dirección $CFC_j \rightarrow CFC_i$. Con lo anterior, he convertido la red original \mathcal{D} a su versión condensada y simplificada \mathcal{D}_C . Es a partir de esta red condensada \mathcal{D}_C es que mediré las tres coordenadas que definen su jerarquía.

De la red condensada \mathcal{D}_C defino dos conjuntos, M y μ : el primero, compuesto por nodos con $k_{in} = 0$, i.e., nodos sin arcos de entrada, que se denomina *conjunto de nodos maximales*, y el segundo, el conjunto de nodos con $k_{out} = 0$, i.e., nodos de los que no se originan arcos, al que llamaré *conjunto de nodos mínimos* (*Figura 20A, izquierda*). Apercíbase cómo esto es posible gracias a que he eliminado las relaciones cíclicas existentes en la red original \mathcal{D} . Algo más que es posible hacer al obtener la red condensada \mathcal{D}_C es la división en capas de la misma. Esto lo conseguí efectuando una eliminación consecutiva de nodos de la misma naturaleza en la red. La esencia del procedimiento es derivar subredes de \mathcal{D} utilizando \mathcal{D}_C , dejando de considerar a los nodos para los que $k_{in} = 0$ o apartar aquellos en los que $k_{out} = 0$, es decir, ir eliminando ya sea a los nodos de entrada o salida sucesivamente de las subredes que se forman al realizar esto. Si quiero derivar las subredes al ir eliminando al conjunto de nodos con $k_{out} = 0$, debo comenzar a partir de los elementos del conjunto μ . De manera similar, si busco encontrar qué subredes se generan al partir de los nodos del conjunto M , debo eliminar aquellos nodos resultantes con $k_{in} = 0$.

Supongamos que parto del conjunto μ , es decir, de los nodos mínimos. Como se explicó previamente, dado que estoy en μ debo excluir aquellos nodos para los que $k_{out} = 0$, que son los del mismo conjunto μ . Así he encontrado la primer subred derivada de \mathcal{D}_C , que denomino C_{μ_1} y los nodos de μ corresponden a la primer capa \mathcal{C}_1 de \mathcal{D}_C (*Figura 19A, derecha arriba*). A partir de C_{μ_1} repito el paso anterior, eliminando todos los nodos para los que $k_{out} = 0$, obteniendo C_{μ_2} y \mathcal{C}_2 . Realizo esto sucesivamente hasta obtener las C_{L+1} capas de \mathcal{D}_C , donde L es el camino más largo existente entre algún nodo en M y otro en μ (esta equivalencia y todas las demás están demostradas en el artículo donde se desarolló esta teoría originalmente (Corominas-Murtra *et al.*, 2013)). Asimismo, obtengo las C_{μ_L} subredes derivadas a partir de \mathcal{D}_C , que equivalen a L pues, para fines de simplicidad, considero a \mathcal{D}_C como una subred de \mathcal{D} , además de que estoy considerando únicamente subredes que sean grafos conectados, que no es el caso de la subred generada por la ultima división, correspondiente a los nodos del conjunto M desconectados. De esta manera, defino al conjunto $\mathcal{C}_\mu(\mathcal{D}) = \{C_{\mu_1}, C_{\mu_L}\}$, que integra a todas las subredes derivadas de \mathcal{D} al eliminar capas en la dirección $\mu \rightarrow M$, incluyendo a \mathcal{D}_C . Ahora, si partiendo de un nodo en M , debo ir eliminando nodos para los que $k_{in} = 0$ donde, análogamente al caso anterior, los primeros nodos excluidos serán aquellos que están en M y corresponden a los nodos que definen la capa \mathcal{C}_{L+1} en el sentido $\mu \rightarrow M$ y la capa \mathcal{C}_1 en el sentido $M \rightarrow \mu$ (*Figura 19B, derecha abajo*). Repeto el proceso anterior hasta obtener las \mathcal{C}_{L+1} capas de la red (de ambas formas deben encontrarse el mismo número de capas $L + 1$) y las C_{M_L} subredes derivadas a partir de \mathcal{D}_C (*Figura 19C*). Ya que conozco todas las subredes de \mathcal{D} obtenidas al eliminar capas en la dirección $M \rightarrow \mu$, defino al conjunto $\mathcal{C}_M(\mathcal{D}) = \{C_{M_1}, C_{M_L}\}$, conteniendo las L subredes, incluyendo a \mathcal{D}_C y excluyendo a la subred que resulta de la ultima división en capas, que contiene a los elementos μ en un grafo desconectado. Con lo anterior en mente, defino el conjunto de todas las subredes de \mathcal{D} al dividarla en capas $\mathcal{C}(\mathcal{D}) = \{\mathcal{C}_\mu(\mathcal{D}), \mathcal{C}_M(\mathcal{D})\}$. Es evidente que $|\mathcal{C}(\mathcal{D})| = 2L - 1$. Finalmente, la red \mathcal{D} se encuentra dentro de un morfoespacio de jerarquía, el cual consta de las tres coordenadas asociadas a esta medida, donde algunas de ellas dependen del conjunto $\mathcal{C}(\mathcal{D})$ (ver *sección 3.3.2*).

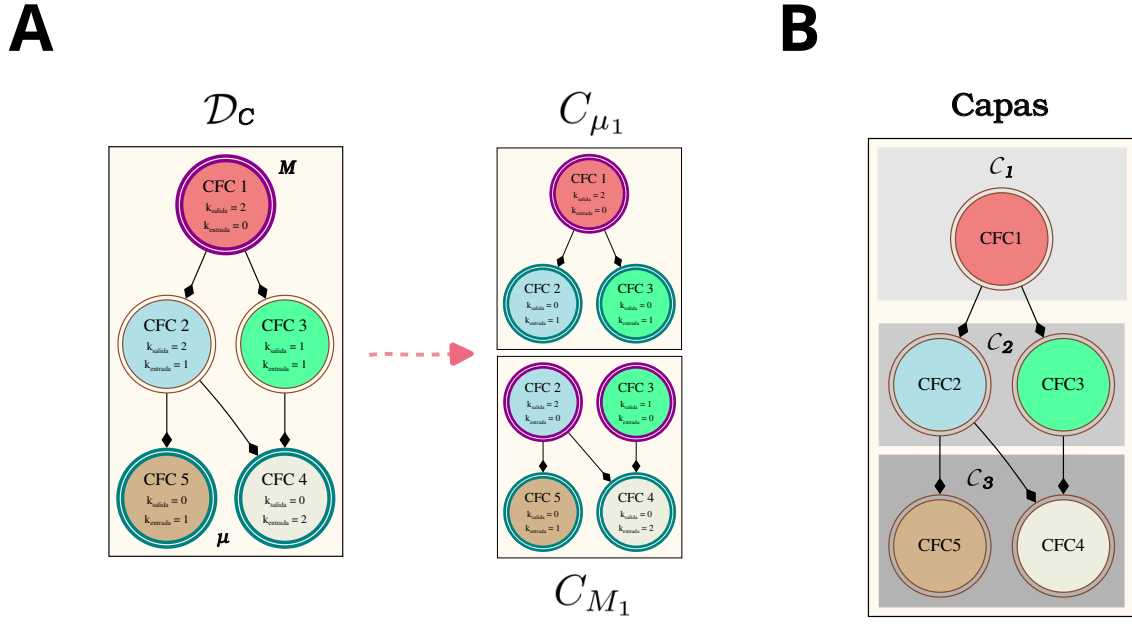


Figura 20: Determinación de capas y subredes de la red original. (A) Izquierda: Red de diferenciación condensada \mathcal{D}_C original. Obsérvense que los nodos maximales M están remarcados en guinda y los nodos minimales μ en cian. Derecha: Subredes que resultan de eliminar el primer conjunto de nodos maximales o minimales, según sea el caso. En este caso, con un solo paso basta para definir todas las subredes conectadas derivadas de la \mathcal{D}_C original. (B) Capas de la red de diferenciación celular en (A).

3.3.2. Coordenadas y morfosespacio jerárquico

A continuación describo las tres coordenadas de las que consta la jerarquía \mathbf{u} de una red \mathcal{D} , las cuales miden qué tanto cumple cada uno de los tres supuestos mencionados anteriormente.

Piramidalidad

La *piramidalidad* $\mathcal{T} [-1, 1]$ (T por su nombre en inglés, treeness) cuantifica el tercero de los tres supuestos que determinan la jerarquía, como su nombre lo dice. Para lograr esto, se debe medir qué tan ambiguos son los posibles caminos que puede seguir la red a partir de los conjuntos de nodos M y μ . En palabras simples, qué tanta incertidumbre existe respecto al destino al que se llegará a partir de un conjunto de nodos en particular (M o μ) y viceversa, es decir, si invierto la dirección del camino, ¿qué pasa con la incertidumbre del mismo?, ¿se conserva, destruye o crea esa incertidumbre? Nótese cómo en una red piramidal, dado que se necesita que cada nodo con salidas incida en más de un nodo, la probabilidad de seguir un posible camino que parte de algún nodo en M hacia otro en μ (*entropía de ida*) depende del número de nodos a los que llegue y es inversamente proporcional a este, por lo que existe ambigüedad respecto a cuáles son sus nodos destino. Sin embargo, al buscar una ruta de regreso de un nodo en μ hacia M (*entropía de regreso*) solo existe una alternativa, por lo que la probabilidad de seguirla es de 1. Lo anterior quiere decir que mediante la diferencia entre las entropías de ida (H_f) y regreso (H_b), puedo cuantificar si existe una tendencia hacia que muchos nodos provengan de un mismo nodo de origen en la red, así como en sus subredes al ir eliminando capas, o lo contrario, que muchos nodos tiendan a converger en el mismo nodo de origen a lo largo de la red y las subredes formadas al ir eliminando capas. Tomando en cuenta lo anterior, sea $\Pi_{M\mu}$ el conjunto de todos los caminos que parten de algún nodo maximal M y llegan a μ . Dado que \mathcal{D}_C es un grafo sin ciclos, este conjunto contiene un número finito de elementos π_1, \dots, π_N . La cantidad de

información que se necesita para seguir un camino que comienza en $a_i \in M$ y termina en algún nodo $a_j \in \mu$ se define con la siguiente *entropía de ida*,

$$h(a_i) = - \sum_{\pi_k \in \Pi_{M,\mu}} \mathbb{P}(\pi_k | a_i) \log \mathbb{P}(\pi_k | a_i), \quad (5)$$

donde $\mathbb{P}(\pi_k, a_i)$ es la probabilidad de seguir la trayectoria π_k , partiendo del nodo $a_i \in M$. El promedio de esta entropía sobre todas las trayectorias de M a μ da la información mínima promedio requerida para que pueda seguirse una trayectoria en la dirección $M \rightarrow \mu$. Es decir, la expresión final de la *entropía de ida* de \mathcal{D}_C se define como:

$$Hf(D_C) = \frac{1}{|M|} \sum_{a_i \in M} h(a_i), \quad (6)$$

De manera similar, se puede definir una *entropía de regreso* $H_b(D_C)$ de \mathcal{D}_C , que cuantifica cuánta información necesitamos para seguir un camino en la dirección opuesta, i.e., invertir una trayectoria π_j en la dirección $\mu \rightarrow M$, que forma parte del conjunto de caminos de regreso, es decir, $\pi_j \in \Pi_{\mu M}$. Para obtener el rango $[-1,1]$ normalizo $f(D)$ de la siguiente forma:

$$f(D) \equiv \frac{H_f(D_C) - H_b(D_C)}{\max\{H_f(D_C), H_b(D_C)\}}. \quad (7)$$

Si $H_f(D_C) > H_b(D_C)$, considero que la red es jerárquica. Obsérvese también que, cuando $H_f(D_C) = H_b(D_C) = 0$, entonces $f(D) \equiv 0$, y nos encontramos con que \mathcal{D}_C es un camino lineal, i.e., solo existe una sola ruta en la red conectando todos sus nodos. El valor final $\mathcal{T}(D)$ se calcula al promediar el valor de f después de aplicarlo sobre todos los elementos $\mathcal{C}(D)$, que es el conjunto que contiene a \mathcal{D}_C y todas las subredes de \mathcal{D}_C que se pueden obtener al ir eliminando capas sucesivamente a la red resultante (ya sea desde las capas inferiores hacia las superiores (\mathcal{C}_μ) o viceversa (\mathcal{C}_M)), como se mencionó en el apartado anterior (*Figura 21A*). Es decir,

$$\mathcal{T}(D) = \langle f \rangle_{\mathcal{C}(D)} \quad (8)$$

Además, $\mathcal{T}(D) \equiv 0$ si \mathcal{D}_C no tiene arcos, lo cual ocurre cuando D es completamente cíclico.

Progresividad

En la red condensada \mathcal{D}_C , los *CFC* que la conforman no pueden ordenarse intrínsecamente, ya que representan una desviación respecto del caso ideal del segundo supuesto de una red jerárquica. Sin embargo, ya que \mathcal{D}_C es un *DAG* formada por los *CFC*, esta desviación es ignorada como resultado de condensar la red original \mathcal{D} . Es importante considerar el peso \mathcal{W} de los *CFC* y su posición en la red para cuantificar el impacto negativo que tienen los ciclos sobre la jerarquía de la red original \mathcal{D} , ya que cuanto más cercana a los nodos maximales sea la posición del *CFC*, mayor será el número de nodos que dependen de él. De acuerdo con esto, se define la *progresividad* \mathcal{F} $[0, 1]$ (\mathcal{F} por su nombre en inglés, feedforwardness) como una medida que cuantifica qué tanto afecta la presencia de *CFC* en la jerarquía de la estructura original, donde los *CFC* más cercanos a la “cima” de \mathcal{D} implican una mayor penalización en el supuesto de orden que tienen las redes jerárquicas, que aquellos *CFC* ubicados próximos al “fondo”. Para cada trayectoria π_k que comienza desde M de \mathcal{D}_C , calculo la fracción de nodos que contiene (los *CFC*) en relación con los nodos que contendría la misma trayectoria en la red de diferenciación real \mathcal{D} . Formalmente, si $a(\pi_k)$ es el conjunto de nodos que participan en la ruta π_k ,

$$\mathcal{F}(\pi_k) \equiv \frac{|a(\pi_k)|}{\sum_{v_i \in a(\pi_k)} \mathcal{W}_i}. \quad (9)$$

Ahora, defino el conjunto Π_M , que es el conjunto que contiene todos los caminos posibles que parten del conjunto de nodos maximales, M , y terminan en cualquier otro nodo de \mathcal{D}_C y calculo $F(D)$, que

es el valor para toda la red, promediando los distintos $\mathcal{F}(\pi_k)$ que obtenemos al aplicar la ecuación (9) a todos los elementos de Π_M (*Figura 21B*); es decir,

$$F(D) = \langle F \rangle_{\Pi_M} \quad (10)$$

Ordenabilidad

La *ordenabilidad*, $\mathcal{O} [0, 1]$, de la red de diferenciación \mathcal{D} es la fracción de nodos A_O que no pertenecen a ningún ciclo y $\therefore A_O \notin CFC$ (*Figura 21C*). Como ya se explicó antes, los *CFC* son no ordenables y conocer la proporción de nodos de la red original que no pertenecen a un *CFC* cuantifica qué tan cercana respecto al ideal del primer supuesto es \mathcal{D} . Formalmente, la *ordenabilidad* de la red $\mathcal{O}(\mathcal{D})$ se define como:

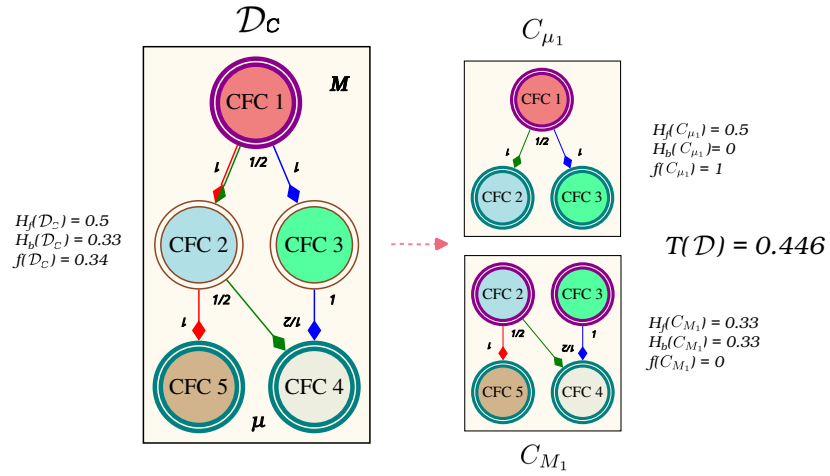
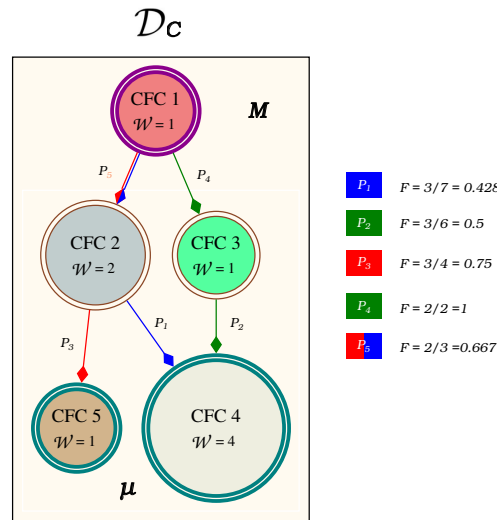
$$O(G) = \frac{A_O}{|A|}, \quad (11)$$

donde $A_O = |\{a_i \in A_C \cap A\}|$.

Morfoespacio

A partir de las tres coordenadas que definen la jerarquía, las características “morfológicas” de las redes se concentran en un punto $\mathbf{u}(\mathcal{D})$ del morfoespacio tridimensional Ω , siendo $\Omega \subset [-1, 1] \times [0, 1] \times [0, 1]$.

$$\mathbf{u}(D) \equiv (\mathcal{T}(D), \mathcal{F}(D), \mathcal{O}(D)). \quad (12)$$

A**Piramidalidad****B****Progresividad**

$$F(D) = 0.67$$

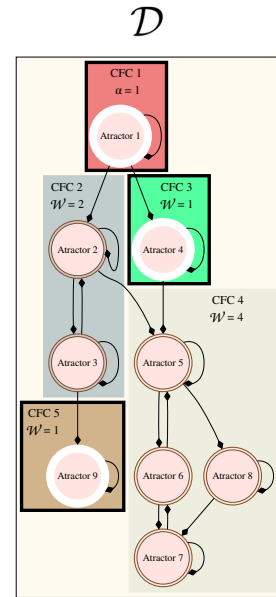
C**Ordenabilidad**

Figura 21: Coordenadas que definen la jerarquía de una red. (A). Piramidalidad. (B) Progresividad. (C) Ordenabilidad.

Una red perfectamente jerárquica se ubica en $\mathbf{u}(D) = (1, 1, 1)$ (Figura 22A), una red perfectamente antijerárquica se encuentra en $\mathbf{u}(D) = (-1, 1, 1)$ (Figura 22B). Nótese que una red totalmente piramidal ($\mathcal{T} = 1$) no es necesariamente perfectamente jerárquica, puesto que los valores de \mathcal{O} y \mathcal{F} pueden diferir, lo mismo ocurre con una red totalmente antipiramidal. Un caso interesante ocurre cuando se obtiene una red no piramidal ($\mathcal{T} = 0$) pero no nulamente jerárquica, mientras $\mathcal{O} \vee \mathcal{F} \neq 0$ (Figura

22C). Esta es una de las ventajas con las que cuenta la definición de (Corominas-Murtra *et al.*, 2013), puesto que considera más variables respecto a qué define la jerarquía y permite obtener más información estructural de una red al asociar la medida en coordenadas al morfoespacio jerárquico Ω . Una red solamente es nulamente jerárquica cuando es completamente cíclica, i.e., $\mathbf{u}(\mathcal{D}) = (0, 0, 0)$. Como se mencionó anteriormente, la *ordenabilidad* y la *progresividad* complementan a la *piramidalidad* para cuantificar de manera completa la diversidad de variaciones jerárquicas, lo que está determinado por la información que codifica la estructura de las redes, generando un mapeo estructura-morfoespacio.

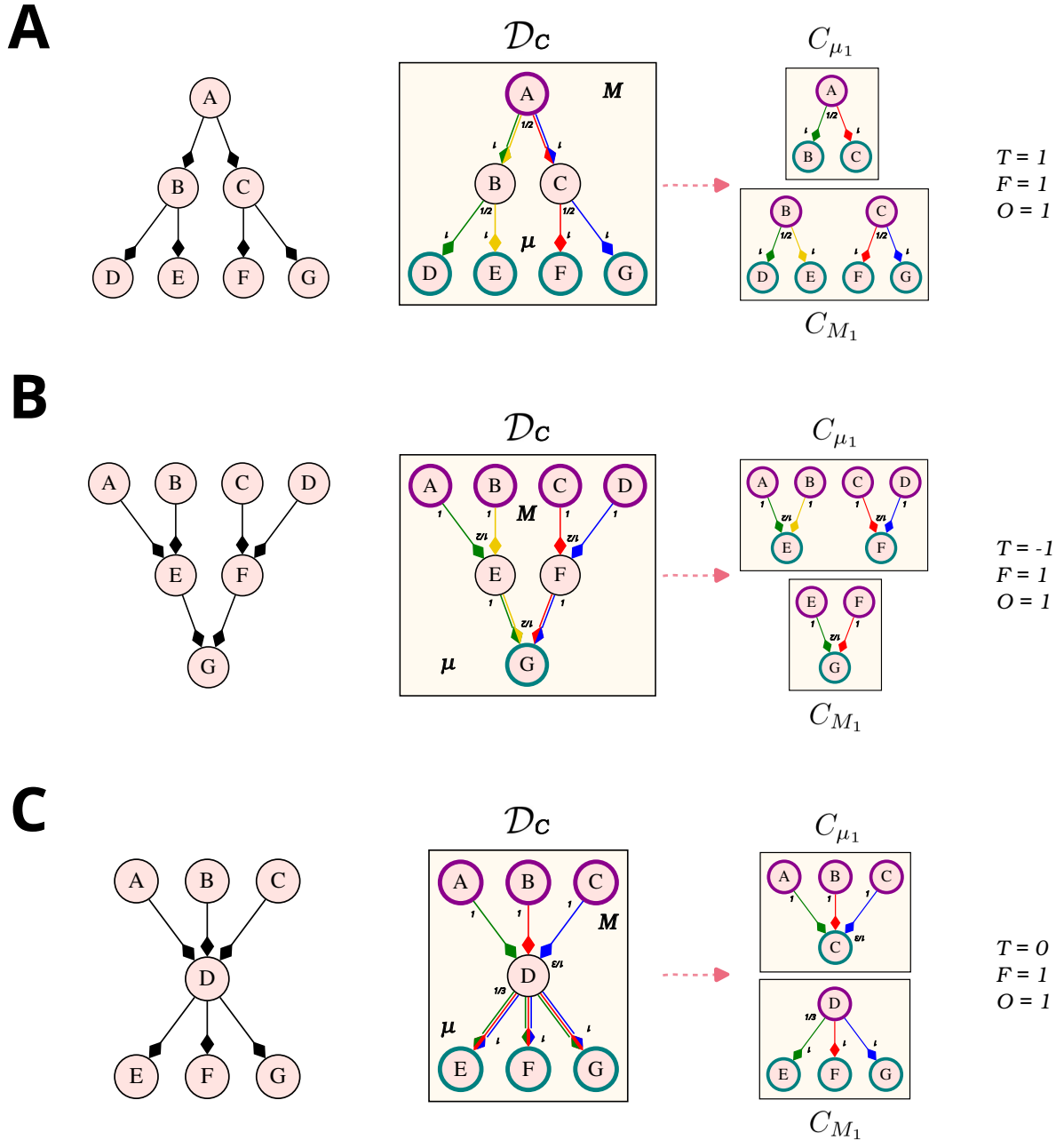


Figura 22: Jeraquía de una red. (A). Red perfectamente jerárquica ($\mathcal{T}, \mathcal{F}, \mathcal{O} = 1$). (B) Red perfectamente antijerárquica ($\mathcal{T} = -1, \mathcal{F}, \mathcal{O} = 1$). (C) Red no piramidal, más no nulamente jerárquica ($\mathcal{T} = 0, \mathcal{F}, \mathcal{O} = 1$).

3.4. Reconocimiento y cuantificación de atributos topológicos que establecen la *identidad jerárquica* en modelos de GRN del desarrollo

Aparte del análisis jerárquico ejercido sobre las redes de diferenciación de los modelos dinámicos del desarrollo, me enfoqué en cuantificar el contenido de ciertos atributos topológicos de más redes de regulación genética recopiladas, de los cuales, como ya se detalló en la *sección 1.7*, se ha observado que están involucrados en el comportamiento jerárquico de los procesos de diferenciación y a los que me refiero en conjunto como *identidad jerárquica*.

Los atributos topológicos que influyen en la jerarquía de las redes de diferenciación básicamente involucran la presencia de muchos **circuitos de retroalimentación positiva (CRP)** y una cantidad muy baja de **circuitos de retroalimentación negativa (CRN)**. A continuación describo estos circuitos, ordenados de menor a mayor complejidad:

I. Autorregulaciones.

a. Positivas:

Genes que se regulan a sí mismos induciendo su actividad (evitando posible inactivación) (*Figura 23A*).

b. Negativas:

Genes que se regulan a sí mismos limitando su actividad (evitando posible sobreexpresión) (*Figura 23B*). Me interesa que este comportamiento sea prácticamente inexistente.



Figura 23: Autorregulaciones. (A) Autorregulación positiva. (B). Autorregulación negativa.

II. Regulaciones mutuas simétricas.

En este patrón dos nodos se regulan mutuamente ejerciendo la misma acción uno sobre otro. Esto puede ocurrir de dos formas:

a. Activaciones mutuas:

Consisten en dos nodos que se regulan mutuamente pero que se activan el uno sobre el otro (*Figura 24A*). Este es uno de los patrones que ha sido identificado con mayor frecuencia.

b. Inhibiciones mutuas:

Nuevamente, consta en dos nodos que se regulan mutuamente, pero ahora la acción que realizan uno sobre el otro es negativa (*Figura 24B*). La aparición de este patrón es la que más se ha identificado.

Como en ambos escenarios el número de inhibiciones es par, estas regulaciones son consideradas circuitos de retroalimentación positiva.

c. **Regulaciones mutuas asimétricas.**

Consisten en dos nodos que se regulan mutuamente, como en los casos anteriores, pero ahora la acción que realizan uno sobre el otro es opuesta, formando una activación-inhibición (*Figura 24C*). Como solo hay una inhibición (número impar), estas regulaciones son circuitos de retroalimentación negativa. Aquí el patrón que se ha detectado es que este tipo de conexiones brillan por su ausencia.

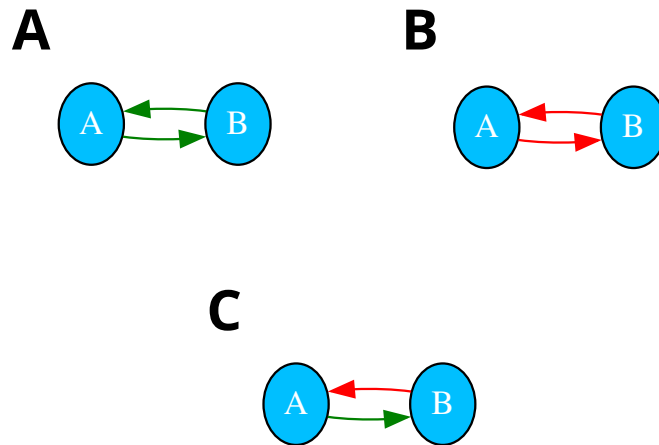


Figura 24: Regulaciones mutuas simétricas y asimétricas. (A) Activaciones mutuas. (B). Inhibiciones mutuas. (C). Activación-inhibición.

III. **Ciclos de 3 genes (C_3) positivos.**

Las regulaciones que conforman los C_3 deben sumar un número par de regulaciones negativas, como consecuencia provocando un efecto positivo, ocasionando retroactivación constante.

a. *Tipo I:*

Consisten en genes conectados de manera que existe un camino a partir de un gen que regresa a ese mismo gen. En este caso, todas las regulaciones que conforman el circuito son positivas (*Figura 25A*).

b. *Tipo II:*

Del mismo modo que en la situación anterior, hay genes conectados de manera que se forma un camino que parte de un gen y que regresará a ese mismo gen. Sin embargo, en este caso hay dos regulaciones negativas presentes en el mismo (*Figura 25B*).

IV. **Ciclos de 3 genes (C_3) negativos.**

En este caso, los C_3 deben sumar un número impar de regulaciones negativas del total que los conforman, lo que provoca un efecto negativo, i.e., retroinhibición constante.

a. *Tipo III:*

Los genes se conectan formando un camino que parte de un gen y regresa a ese mismo gen, donde todas las regulaciones que conforman el circuito son negativas (*Figura 25C*).

b. *Tipo IV:*

Al igual que en todos los casos anteriores, la conexión de los genes forma un camino que parte de un gen y regresa al mismo. Aquí, hay una sola regulación negativa y dos regulaciones positivas presentes en el mismo (*Figura 25D*).

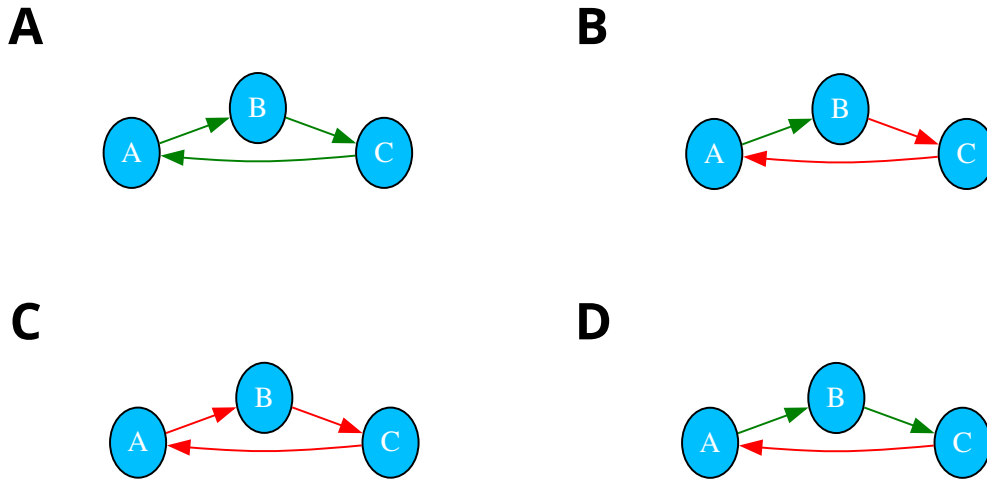


Figura 25: Tipos de C_3 . (A). C_3 tipo I. (B). C_3 tipo II. (C). C_3 tipo III. (D) C_3 tipo IV.

A estos patrones topológicos los consideré **patrones objetivo**. Por lo tanto, el siguiente paso en este proyecto fue recopilar modelos de redes de regulación genética del desarrollo de los que se conocía su topología, y ahora, sin evaluar su dinámica, buscar los patrones objetivo establecidos. Finalmente, comparé el contenido de estos patrones con el de redes aleatorias con las mismas características topológicas, sirviendo como un muestreo de control negativo para determinar si me encuentro ante propiedades únicas de la naturaleza en este tipo de procesos. Buscar estos patrones en más modelos (además de los lógicos) aportará evidencia complementaria a los hallazgos previamente observados en el grupo de investigación y a los resultados encontrados al analizar la jerarquía de las redes obtenidas, revelando el porqué de la presencia de jerarquía en las redes de diferenciación en la naturaleza.

3.4.1. Recopilación y obtención de modelos estáticos de redes de regulación genética del desarrollo

Dado que la cuantificación e identificación de las características que definen la identidad jerárquica es independiente de la dinámica de las redes de regulación genética, busqué más modelos de eventos del desarrollo reportados en la literatura y los cuales contarán, como mínimo, con la estructura de la GRN caracterizada. Para lograr esto, me apoyé principalmente del libro *Genomic Control Process* Davidson y Peter, 2015, el cual colecciona una cantidad considerable de modelos de redes de regulación genética del desarrollo, incluyendo su topología. Asimismo, también hice uso de BioTapestry (Longabaugh, 2012), una plataforma que cuenta con un repositorio con más modelos del desarrollo. Es ampliamente reconocida por haber sido utilizada por Eric Davidson e Isabelle Peter en el trabajo pionero donde caracterizaron por completo la red de regulación genética que determina el desarrollo temprano en el erizo de mar (Davidson *et al.*, 2002). Además de las fuentes antes mencionadas, busqué más redes con estructura definida, usando como punto de partida la bibliografía y referencias anteriores, pero también por mi propia cuenta. Las redes seleccionadas fueron obtenidas de artículos o libros que hayan sido publicados antes de octubre de 2025.

El realizar esto también implica una ventaja puesto que representa una mayor diversidad en los tipos de procesos del desarrollo y diferenciación que se estudiarán, ya que el contenido de las fuentes anteriores, así como de los modelos encontrados individualmente, es mucho más heterogéneo que los modelos lógicos existentes, por lo que este análisis permite eliminar el sesgo que representaba que muchos modelos se repitieran, como se ha de explicar en la sección 4.

3.4.2. Muestreo de redes topológicamente aleatorias con las mismas características estructurales que las originales

Para poder comparar las redes de diferenciación que obtuve a partir de las redes de regulación genética, tuve que obtener un muestreo de redes topológicamente aleatorias Barabási y Oltvai, 2004 que compartan las mismas características que las distintas redes de la naturaleza recopiladas (*Figura 26A*). Esto me permitió realizar una comparación no sesgada de las distintas propiedades de interés, ya que éstas dependen enteramente de las características de la red. La construcción de redes aleatorias con las mismas características que las GRN originales la realicé de manera que se conservaran el número de nodos, las interacciones totales de la red, los grados de conectividad de entrada y salida para cada nodo, etc. (*Figura 26B*) Para esto hice uso de la función *sample()*, intrínseca del lenguaje R (R Core Team, 2024), utilizada sin reemplazo, la cual permite extraer aleatoriamente un número de elementos específico de un vector o conjunto de datos. Repetí este proceso hasta obtener 10^3 redes topológicamente aleatorias para cada GRN original, que posteriormente utilicé en la comparación de las propiedades estructurales con la intención de encontrar si existen diferencias entre ellas o no.

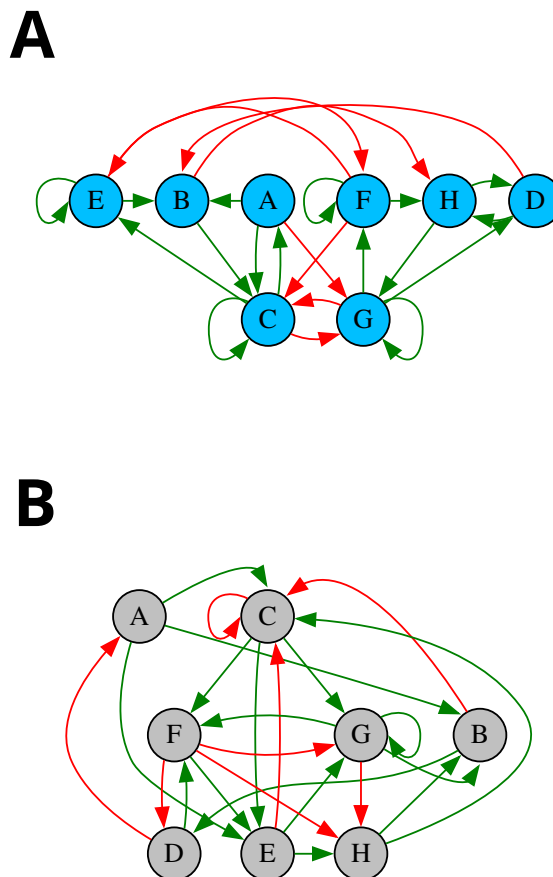


Figura 26: Muestreo de redes topológicamente aleatorias. (A) Red de regulación genética de origen. (B) Red aleatoria que comparte las características del modelo original.

3.4.3. Medición de patrones objetivo en las GRN del desarrollo que cuentan con topología definida

Dadas las características estructurales descritas anteriormente, las cuales determinan la *identidad jerárquica* que ya se explicó en la *sección 1*, desarrollé un algoritmo que me permitiera medir la presencia de estos patrones en las redes de regulación genética recopiladas. Aprovechando la información que contiene la *matriz genotípica* \mathcal{A} de las GRN, pude cuantificar los distintos patrones de interés mediante el producto de sus entradas, que contienen las regulaciones entre los genes, buscando circuitos que se abran y cierren en los mismos nodos (Aguirre López y Coolen, 2021).

Para obtener las matrices genotípicas de cada una de las redes del repertorio de modelos lógicos anterior, utilicé diversas herramientas de *Cytoscape* (Shannon *et al.*, 2003), así como de *BoolNet* y *GINsim*. Primero, obtuve el archivo .sbml que codifica las regulaciones de una red con BoolNet y GINsim. Este archivo puede ser importado para su análisis y visualización en Cytoscape con el plugin *CySBML*, elaborado para este fin particular. Posteriormente, pude exportar las activaciones e inhibiciones de la red utilizando la app *Adj Exporter*, la cual permite generar un archivo de texto conteniendo las regulaciones de la red línea por línea, expresadas con palabras simples. Finalmente, desarrollé código propio que me permitiera construir la matriz genotípica de una red a partir del archivo anterior. Para el resto de redes coleccionadas, las matrices genotípicas fueron creadas manualmente (salvo que excepcionalmente encontrara una manera de exportar de manera sencilla las regulaciones de un sistema en particular).

Ya que he generado las matrices genotípicas para cada una de las redes, ahora sí puedo buscar la presencia de los patrones objetivo. Para una red de regulación genética \mathcal{R} , donde \mathcal{A} es su matriz genotípica, el número de autorregulaciones positivas α_+ lo cuantifiqué de la siguiente manera:

$$\alpha_+(\mathcal{R}) = \sum_{i=0}^N a_{ii}(\mathcal{R}), \quad (13)$$

cuando $a_{ii} > 0$.

De la misma manera, el total de autorregulaciones negativas α_- en la red es:

$$\alpha_-(\mathcal{R}) = \sum_{i=0}^N a_{ii}(\mathcal{R}), \quad (14)$$

si $a_{ii} < 0$.

Siguiendo el mismo razonamiento que en el caso anterior, la cantidad de activaciones mutuas β_{++} lo puedo obtener como:

$$\beta_{++}(\mathcal{R}) = \frac{1}{2} \sum_{j=0}^N \sum_{i=0}^N a_{ij}(\mathcal{R})a_{ji}(\mathcal{R}), \quad (15)$$

cuando $a_{ij}, a_{ji} > 0$, para $i, j \neq 0$ e $i \neq j$.

En el mismo sentido, puedo conocer la cantidad de inhibiciones mutuas β_{+-} como sigue:

$$\beta_{--}(\mathcal{R}) = \frac{1}{2} \sum_{j=0}^N \sum_{i=0}^N a_{ij}(\mathcal{R})a_{ji}(\mathcal{R}), \quad (16)$$

si $a_{ij}, a_{ji} < 0$, para $i, j \neq 0$ e $i \neq j$. El número de *regulaciones mutuas negativas* β_{+-} fue calculado de una manera semejante.

Finalmente, el número γ_+ de C_3 positivos (el tamaño máximo de los circuitos que analicé) que se encuentran en una red, lo obtengo al calcular:

$$\gamma_+(\mathcal{R}) = \frac{1}{3} \sum_{k=0}^N \sum_{j=0}^N \sum_{i=0}^N a_{ij}(\mathcal{R}) a_{jk}(\mathcal{R}) a_{ki}(\mathcal{R}). \quad (17)$$

siempre y cuando el producto $a_{ij}a_{jk}a_{ki}$ sea positivo, $i, j, k \neq 0$ y además $i \neq j \neq k$. Un C_3 tipo I ocurre cuando $a_{ij}, a_{jk}, a_{ki} > 0$, un C_3 tipo II si $a_{ij}, a_{jk} < 0 \ \& \ a_{ki} > 0 \vee a_{ij}, a_{ki} < 0 \ \& \ a_{jk} > 0 \vee a_{jk}, a_{ki} < 0 \ \& \ a_{ij} > 0$. La cantidad de C_3 negativos (γ_-) se obtuvieron similarmente.

El muestreo de redes topológicamente aleatorias fue realizado en R con código propio.

El código que me permitió cuantificar las propiedades topológicas e identidad

jerárquica de las redes lo desarrollé en el lenguaje de programación C++.

4. Resultados

4.1. Las redes de diferenciación celular son jerárquicas

Después de tomar en cuenta todas las consideraciones que se mencionan en la *sección 3.1*, recopilé 22 modelos lógicos de redes de regulación genética. Estos son modelos discretos sincrónicos de redes involucradas en distintos procesos del desarrollo o diferenciación celular, y que cuentan (de alguna forma u otra) con acceso libre a las funciones lógicas para su simulación. Esto hizo posible su análisis dinámico y por lo tanto me fue posible obtener sus atractores, las transiciones entre atractores y construir sus redes de diferenciación celular.

Decidí definir las siguientes categorías para clasificar a los modelos, a las cuales fueron asignadas las distintas redes de diferenciación celular dependiendo de las características estructurales que presentaran:

1. La red de diferenciación se condensa en un solo componente fuertemente conexo

En este grupo consideré a los modelos que dieron lugar a una red de diferenciación celular que consta de un único *CFC*, lo que significa que la red de diferenciación celular se encuentra en $\mathbf{u} = (0, 0, 0)$ y es **nulamente jerárquica** (*Figura 27*).

Dentro de esta categoría se presentan 2 posibles escenarios:

- a) *La red de diferenciación consiste en varios atractores que se condensan en un único CFC.* Esto significa que existe una relación completamente cíclica entre los tipos celulares y entonces no son jerárquicas estas redes.
- b) *La red de diferenciación consiste en un único atractor y, por lo tanto, en un único CFC.* La red de regulación genética de origen está construida de manera que desemboca en un único atractor que representa que una célula ha alcanzado el estado de diferenciación. Pero como es un solo *CFC* entonces también representa una red no jerárquica.

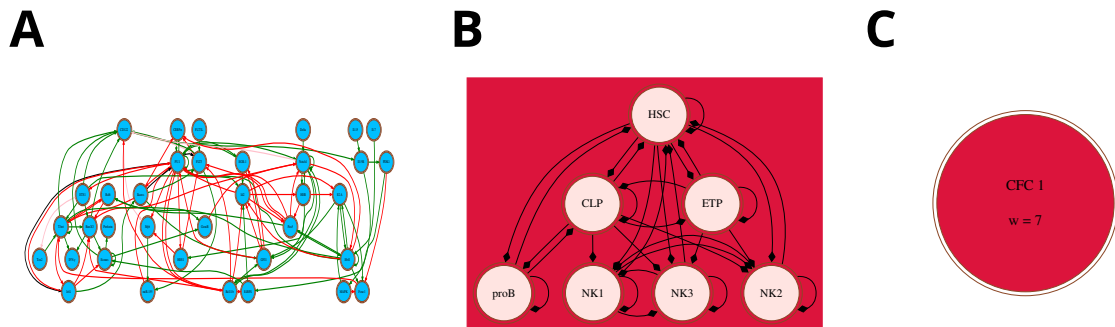


Figura 27: Red de diferenciación con 1 CFC. (A) Red de regulación genética de origen, proveniente de (Liquitaya-Montiel y Mendoza, 2018). Figura basada en el modelo reportado en la recién mencionada fuente. (B). Red de diferenciación de células asesinas naturales (NK). HSC: células madre hematopoyéticas; CMP: progenitores linfoides comunes; proB: progenitores de linfocitos B; ETP: progenitores tímicos tempranos; NK1: célula asesina natural 1; NK2: célula asesina natural 2; NK3: célula asesina natural 3. (C) Red de diferenciación celular condensada.

2. La red de diferenciación se condensa en dos componentes fuertemente conexos

En estos casos obtuve una red de diferenciación que tiene exactamente 2 *CFC*, los cuales pueden constar de un solo atractor o abarcar más (*Figura 28*). El hecho de que esta estructura únicamente contiene un arco uniendo a los dos *CFC* que la conforman, implica que la *piramidalidad* siempre sea $\mathcal{T} = 0$, la *ordenabilidad* $\mathcal{O} \geq 0$ y la *progresividad* $\mathcal{F} > 0$, lo que significa que al menos una de las tres coordenadas en el morfoespacio es positiva y por lo que considero que es la estructura jerárquica mínima. A este tipo de jerarquía la llamaré *jerarquía progresiva*. Nótese cómo estas estructuras se encuentran en algunos árboles de diferenciación donde una célula madre indiferenciada adquiere un solo fenotipo más especializado. El valor de \mathcal{O} y \mathcal{F} depende de la cantidad de atractores que pertenezcan a algún *CFC*.

Hay dos opciones:

- Pocos atractores dispuestos en 2 CFC*. Esto aumenta \mathcal{O} y \mathcal{F} . Si solo consta de 2 *CFC*, $\mathcal{O}, \mathcal{F} = 1$. Para fines de simplicidad, aquí consideré estrictamente aquellos modelos en que $\mathcal{O} \geq 0.5$.
- Muchos atractores dispuestos en 2 CFC*. Provoca que \mathcal{O} y \mathcal{F} tengan valores más bajos. Si todos los atractores forman parte de un *CFC* conteniendo a más atractores además de a sí mismos, entonces $\mathcal{O} = 0$. Por simplicidad, aquí incluyo aquellos modelos en que $\mathcal{O} < 0.5$.

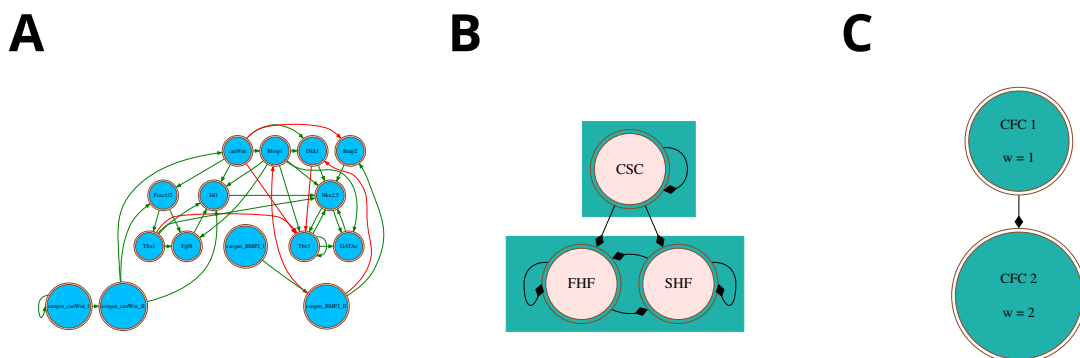


Figura 28: Red de diferenciación con 2 CFC. (A) Red de regulación genética de origen, proveniente de (Herrmann *et al.*, 2012). Figura basada en el modelo reportado en la recién mencionada fuente. (B). Red de diferenciación celular en la determinación del campo cardiogénico en ratón. CSC: células madre cardíacas; FHF: campo cardiogénico primario; SHF: campo cardiogénico secundario. (C) Red de diferenciación celular condensada.

3. La red de diferenciación se condensa en más de dos componentes fuertemente conexos.

Este es el caso más interesante, puesto que al contar con > 2 *CFC*, las tres coordenadas del morfoespacio jerárquico pueden variar (*Figura 29*).

Las redes que cumplen con estas características caen principalmente en una de cuatro posibilidades:

- a) *Perfectamente jerárquicos*. El caso menos común y el más interesante. Estos modelos se encuentran exactamente en el punto del morfoespacio $\mathbf{u}(G) \equiv (1, 1, 1)$. Se asemejan bastante a una pirámide y es esta topología la más similar a la mayoría de árboles de diferenciación reportados que fueron constituidos experimentalmente, ya que representa una bifurcación de tipos celulares a partir de una misma célula madre no diferenciada. Claramente las consideré como redes jerárquicas.
- b) *Jerarquía positiva*. No es perfectamente jerárquica, pero $\mathcal{T}, \mathcal{F} > 0$, así como \mathcal{O} , por lo que considero jerárquicas a estas redes. En el contexto de diferenciación, lo que simboliza esta estructura es que más tipos de células diferenciadas surgen a partir de una menos diferenciada en el contexto biológico o que se forma un camino lineal entre tres tipos celulares.
- c) *Jerarquía progresiva*. Similar a los casos de la categoría 2, aquí $\mathcal{T} = 0$, pero $\mathcal{O} \geq 0$ y $\mathcal{F} > 0$, por lo que esta estructura también cuenta con *jerarquía progresiva*.
- d) *Jerarquía negativa*. En este peculiar caso, \mathcal{T} se encuentra en $[-1, 0)$, por lo que estas redes son el único caso de antijerárquicas. Además, $\mathcal{O} \geq 0$ y $\mathcal{F} > 0$, lo que significa que más células diferenciadas surgen a partir de una menos diferenciada en el contexto biológico.

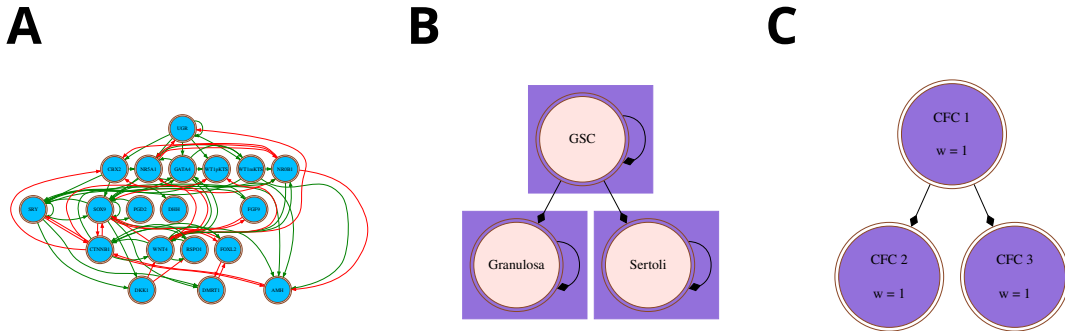


Figura 29: Red de diferenciación con > 2 CFC. (A) Red de regulación genética de origen, proveniente de (Ríos *et al.*, 2015). Figura basada en el modelo reportado en la recién mencionada fuente. (B). Red de diferenciación celular en la determinación del sexo en humano. GSC: células madre germinales. Granulosa y Sertoli son células somáticas de soporte en la determinación sexual. (C) Red de diferenciación celular condensada.

En el apéndice (sección 7.1), se pueden consultar los modelos específicos asignados a cada categoría en los cuadros 1 y 2, así como sus coordenadas y posición en el morfoespacio jerárquico en las figuras 41 y 42.

4.1.1. La proporción de redes de diferenciación estructuralmente jerárquicas supera a las no jerárquicas

Tras definir las categorías en las que clasiqué los modelos, el análisis reveló que la mayoría de las redes de diferenciación se encuentran en la categoría que almacena a las redes con el comportamiento más jerárquico, la categoría 3, representando un 50% del total (11 de 22). Le sigue la categoría 1 con un 31.82% (7 de 22), y finalmente la categoría 2 que abarcó un 18.18% (4 de 22). Más específicamente, la subcategoría con más redes es la 1a (6 de 22), que contiene a redes con 1 CFC y jerarquía nula. Las subcategorías con menos redes son la 1b y 2b (1 de 22 cada una) (Figura 30A).

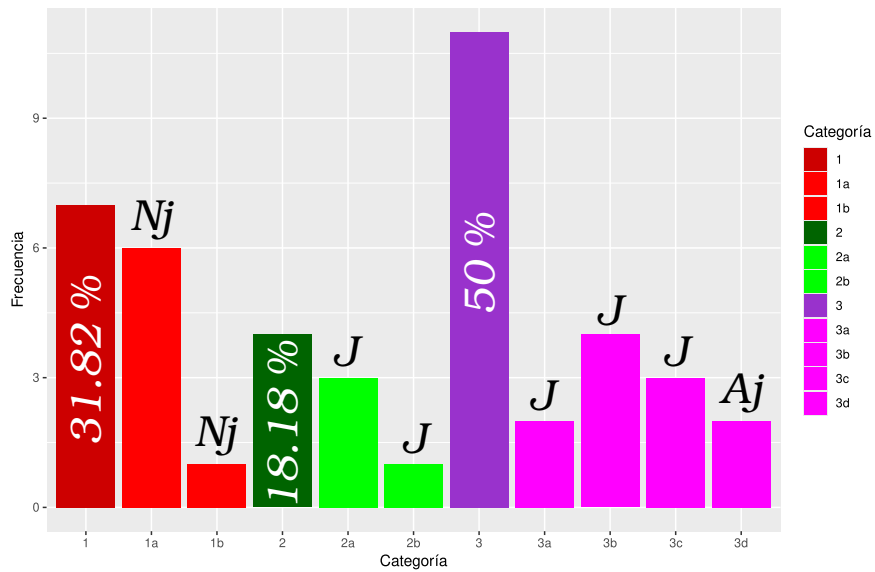
Como se detalló en la *sección 4.1*, las subcategorías *2a*, *2b*, *3a* *3b* y *3c* las consideré jerárquicas, a las dos subcategorías de la categoría 1 (*1a*, *1b*) las consideré nulamente jerárquicas y a la subcategoría *3d* antijerárquica. Por lo tanto, un 59.09% de los modelos es jerárquico, un 31.82% es nulamente jerárquico y el 9.09% es antijerárquico (*Figura 30B*). Esto quiere decir que al menos más de la mitad de los modelos tienen un comportamiento jerárquico, con algunos simplemente presentando el aspecto progresivo (los casos *2a*, *2b* y *3c*) y con otros presentando además el aspecto piramidal (*3a* y *3b*). Sin embargo, esta proporción de modelos es demasiado baja en comparación a las rutas de diferenciación y especialización reportadas en la naturaleza, donde los eventos de desdiferenciación y transdiferenciación son raros.

Estos resultados hacen pensar en alguna de las siguientes posibilidades:

- el comportamiento jerárquico no siempre es la regla en la naturaleza,
- los modelos recopilados cuentan con sesgo, por lo que la extendibilidad de los mismos resulta limitada. Por ejemplo, muchos de los modelos en la literatura existente son versiones diferentes del mismo proceso del desarrollo. Además, los modelos son construidos con un enfoque *ad hoc*, de manera que los autores solo están interesados en que funcionen para los fines del sistema específico que están estudiando.
- también es posible que mi propuesta cuente con suposiciones y sobresimplificaciones que ocasionan que no obtengamos los resultados que esperábamos. Entre las suposiciones y simplificaciones de mi modelo están asignar la misma probabilidad de perturbaciones a todos los genes, la actualización sincrónica que no toma en cuenta los ritmos biológicos, así como definir que la magnitud de las perturbaciones que trasladan al sistema de un atractor a otro es la misma para todos los genes.

Los muy escasos eventos de desdiferenciación y transdiferenciación descartan la posibilidad de que este sea el comportamiento que ocurre en la realidad dentro de los sistemas biológicos. Por otro lado, mi procedimiento para evaluar transiciones entre tipos celulares ya había sido propuesta en (Ribeiro y Kauffman, 2007; Serra *et al.*, 2010b), encontrando resultados similares al probarlo en redes aleatorias, puesto que ellos encontraron que es difícil formar más de un conjunto ergódico por red. Recordando que un conjunto ergódico corresponde a lo que aquí llamo *CFC*, i.e., grupos de atractores que pueden transicionar entre sí ante perturbaciones individuales de genes, esto implica que existe una tendencia a encontrar 1 *CFC* en mi modelo. Aunado a esto, mi estrategia de simular perturbaciones de genes individualmente también fue empleada anteriormente en (Martinez-Sanchez *et al.*, 2015; Licitaya-Montiel y Mendoza, 2018), logrando que ocurrieran las transiciones entre tipos celulares que ya han sido identificadas experimentalmente al inducir señales extracelulares específicas. No obstante, al probar perturbando cada uno de los genes que conforman la red, también encontraron otras transiciones que no coinciden con lo observado experimentalmente. Estas transiciones no fueron discutadas más a profundidad en el trabajo mencionado, y simplemente fueron justificadas proponiendo que podría tratarse de plasticidad fenotípica entre tipos celulares no reportada previamente. Estos resultados delatan una posible debilidad de estos sistemas, ya que al ser ensamblados para un propósito particular, inevitablemente se crea sesgo por parte de los investigadores que lo construyeron. Por lo anterior, considero que haber encontrado una proporción relativamente “baja” de redes jerárquicas es producto de las suposiciones de mi modelo y consecuencia de los problemas en los modelos booleanos en general, con esta última razón siendo la más factible. A pesar de todas estas limitaciones, estos resultados sugieren que los eventos de diferenciación celular efectivamente presentan un comportamiento jerárquico, aunque aún así es recomendable que sean tomados con precaución, dadas las restricciones que consideré.

A



B

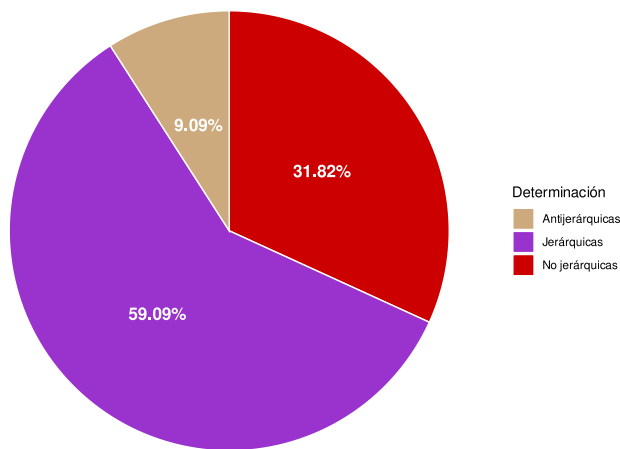


Figura 30: La proporción de redes de diferenciación estructuralmente jerárquicas supera a las no jerárquicas. (A) Histograma con todas las subcategorías. J: jerárquicos; NJ: nulamente jerárquicos; AJ: antijerárquicos. (B) Proporción de modelos jerárquicos, no jerárquicos y antijerárquicos.

Dado que los modelos perfectos son complicados de obtener, algunas de las redes que consideré jerárquicas (2a,2b, 3a,3b) no coinciden del todo con lo observado experimentalmente, pero tampoco lo contradicen completamente. Por ejemplo, algunas transiciones encontradas, de ser fidedignas, representarían saltos de una célula madre a un tipo celular diferenciado sin intermediarios o “trans-

diferenciación” entre células del mismo nivel de especificación que provienen de un mismo precursor celular. Pero también en esta categoría no aparecen caminos de regreso representando desdiferenciación, por lo que considero que es una buena aproximación de cómo son los procesos verdaderos.

4.1.2. Las redes de diferenciación efectivas son estructuralmente jerárquicas

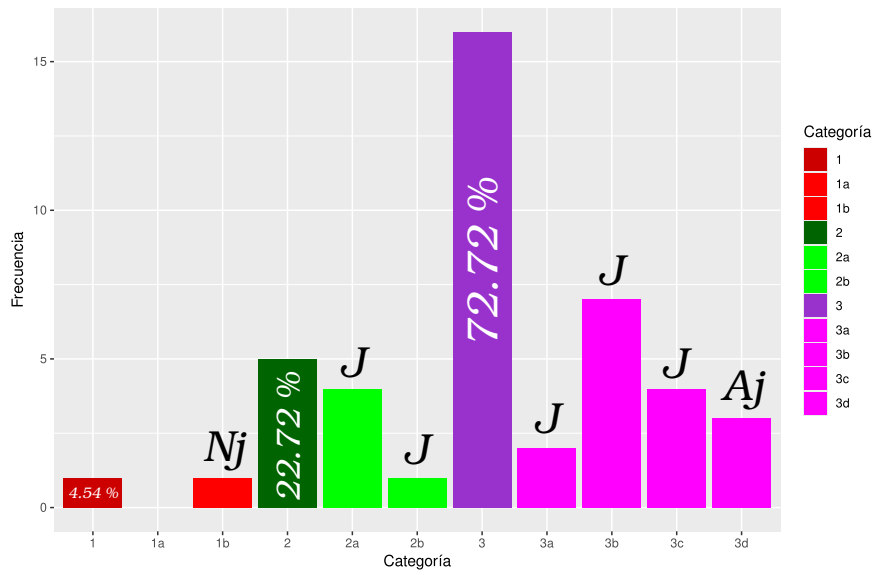
Ya que la proporción de redes de diferenciación jerárquicas fue más pequeña de lo que había previsto, decidí examinar más a fondo las relaciones cíclicas entre los atractores del sistema con la intención de esclarecer cuáles fueron las causas específicas que provocaron esta conducta y si podía obtener información adicional a la que brinda únicamente su estructura. Después de revisar meticulosamente qué perturbaciones específicas provocaban las transiciones entre pares de atractores, noté que muchas de las estructuras cíclicas ocurrían debido a un imbalance entre el número de perturbaciones.

Por lo anterior, decidí ponderar las transiciones entre atractores contabilizando el número de perturbaciones que provocan que el sistema cambie de un punto de equilibrio a otro específico. Para ello, como en análisis previos, utilicé como condiciones iniciales los estados perturbados de los distintos atractores. Posteriormente, si existe una relación cíclica entre genes, comparé los pesos en cada una de las direcciones en que ocurren las transiciones y determiné si existe una probabilidad mucho mayor (razón > 3) de que ocurra en una dirección que en otra, conservando la dirección dominante. Así, obtengo una *red de diferenciación efectiva* D_e para cada red (ver la *sección 3.2.3*). Es ahora con estas redes efectivas que evalué la jerarquía.

El análisis de la jerarquía de las redes efectivas desvela que nuevamente la categoría con mayor frecuencia es la 3, pero ahora con un 72.72% (16 de 22) del total. La categoría 2 ahora ocupa el segundo lugar, con un ligero aumento al 22.72% (5 de 22) del total. Finalmente, la categoría 1 cuenta con un 4.54%, (solo 1 de 22). Más específicamente, ahora la subcategoría con más redes es la *3b* (7 de 22), seguida de las subcategorías *2a* y *3c* (4 de 22). La subcategoría *1a*, en la que se encontraban las redes completamente cíclicas, desapareció por completo, lo cual indica que mi estrategia de estudiar la red efectiva funcionó. (*Figura 31A*).

Las subcategorías *2a*, *2b*, *3a*, *3b* y *3c* son jerárquicas. Al agruparlas, encuentro que ahora un 81.82% de los modelos tienen esta estructura. El porcentaje de redes nulamente jerárquicas es igual al porcentaje de la categoría 1, por lo que el 4.54% de las redes no tiene jerarquía. Finalmente, la subcategoría *3d*, que es la antijerárquica, cuenta con un 13.64% de las redes (*Figura 31B*). Un dato que vale la pena mencionar es que las redes que resultaron en un comportamiento antijerárquico contienen tipos celulares en estados indiferenciado e intermedio transicionando hacia un tipo celular maduro, lo cual indica que en estos casos muy posiblemente la incapacidad/imposibilidad de desarrollar modelos muy precisos provoca que no se encuentre una transición entre el estado indiferenciado y el estado intermedio. Una discusión que puede valer la pena tener es si los estados intermedios e indiferenciados deberían corresponder a estados estables de los sistemas dinámicos de redes de regulación genética, pero eso está fuera de los límites de mi investigación.

A



B

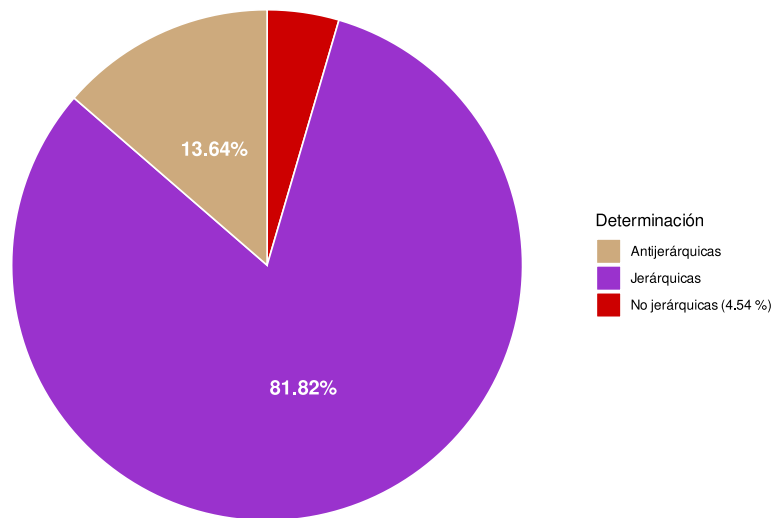


Figura 31: Las redes de diferenciación efectivas son estructuralmente jerárquicas. (A). Histograma de todas las subcategorías tras la ponderación de las redes. J: jerárquicos; NJ: nulamente jerárquicos; AJ: antijerárquicos. (B) Proporción de modelos jerárquicos, no jerárquicos y antijerárquicos tras la ponderación.

4.2. Los atributos topológicos que definen la *identidad jerárquica* están presentes en las redes de regulación genética del desarrollo

Estos resultados sugieren una pregunta obligada: ¿los procesos del desarrollo y diferenciación celular en la naturaleza no siempre obedecen un comportamiento jerárquico? ¿O acaso será que los modelos que he estudiado hasta ahora no resultan tan útiles para poner a prueba el modelo que propongo en este proyecto?

En realidad, aunque la mayoría de los modelos analizados presentaron un nivel de jerarquía positivo o con sentido biológico, una cantidad considerable de ellos se comportaron de una manera que no corresponde a lo observado en la naturaleza, como son el caso de las redes de diferenciación de la categoría 1, que constan de una relación cíclica total que significaría que ocurren procesos de desdiferenciación y transdiferenciación, o las redes antijerárquicas de la categoría 3c, que indicaría que múltiples tipos celulares convergen en otro único fenotipo especializado. Esto se debe a que, al momento de reconstruir y validar los modelos reportados, no se toman en cuenta todas las posibles perturbaciones que pueden ocurrir entre atractores, así como tampoco los posibles caminos accesibles sin sentido biológico ni evidencia experimental en algunos casos. En otros, simplemente es ignorado dado que representa salir de los alcances de la investigación en cuestión. A partir de lo anterior, se desvela el enfoque *ad hoc* que representan estos modelos. Esto quiere decir que no presentan la robustez representativa de este tipo de procesos. Además, la cantidad de redes booleanas que se pueden obtener con la misma topología y forzando la llegada de determinados atractores es bastante amplia (Subbaroyan *et al.*, 2023). Este argumento refuerza el hecho de que los modelos no me están ayudando a revelar las características estructurales de mi interés.

Por lo anterior, busqué y reuní más modelos de redes de regulación genética en los que, a diferencia de la recopilación anterior, únicamente está definida su topología. Como resultado, obtuve un compendio de 60 redes de regulación genética del desarrollo, forzando a que contuviera una sola estructura por proceso estudiado. De esta manera logré eliminar el sesgo provocado por estudiar variantes de la misma estructura central, lo que podría provocar subrepresentación o sobrerrepresentación de ciertos atributos topológicos. Este compendio lo utilicé para identificar y cuantificar los **patrones objetivo** relacionados con la jerarquía de una red de diferenciación celular, definidos en la *sección 3.4.3*, los cuales constan de distintos grados de complejidad de circuitos de retroalimentación positiva. Estos patrones objetivo son: *autoactivaciones*, *activaciones mutuas*, *inhibiciones mutuas* y *ciclos de retroalimentación positiva de 3 genes*, que son los que presentan un número par de regulaciones negativas. El objetivo es demostrar si tanto las redes de diferenciación jerárquicas anteriores como los modelos de redes de regulación genética del desarrollo en general contienen más estos patrones de lo esperado, lo que supondría evidencia más contundente de la importancia de estos circuitos de regulación genética.

4.2.1. Los circuitos de retroalimentación positiva abundan en las GRN naturales que controlan el desarrollo

Primero, para cada una de las redes de regulación genética de los sistemas biológicos, cuantifiqué en su topología la aparición de los patrones objetivo de manera individual, y las comparé con su contraparte aleatoria, compuesta de 10^3 redes con las mismas características topológicas que la red original, i.e., que conservaran el número total de conexiones, mismo número de activaciones y de inhibiciones, así como grados de conectividad de entrada y salida para cada gen (Ver *secciones 3.4.2* y *3.4.3* para más detalles de cómo se mide la presencia de estos patrones, así de como se obtiene el muestreo de redes topológicamente aleatorias). Al analizar cada uno de los patrones objetivos por separado, los cuales son distintos circuitos de retroalimentación positiva (CRP), observé que la presencia de cada uno de ellos es mucho mayor para el conjunto de casos representativos de los sistemas biológicos que para el aleatorio (con la extraordinaria excepción de los C_3 tipo I, donde no encontré una diferencia significativa (*Figura 46A*)). Es decir, al comparar la topología de los modelos de los sistemas biológicos con las topologías de los muestreos aleatorias, las autorregulaciones positivas (*Figura 32*), las activaciones mutuas (*Figura 33A*), las inhibiciones mutuas (*Figura 33B*), las regulaciones mutuas simétricas sumadas (*Figura 44A*), así como los C_3 positivos (tipo I y tipo II sumados) (*Figura 34*), cada una de ellas se encuentra en mucha mayor cantidad en el caso representativo del proceso biológico que en el aleatorio. Además, al

comparar con la versión negativa de cada uno de los patrones (CRN), i.e., autorregulaciones negativas, regulaciones mutuas negativas, C_3 negativos (tipo III y tipo IV), observé que no existe una diferencia significativa entre el caso representativo de los sistemas biológicos y el aleatorio (*Figura 43, Figura 44B, Figura 45 y Figura 46C,D*). Esto brinda mayor evidencia de que los patrones objetivo son específicos de los sistemas naturales.

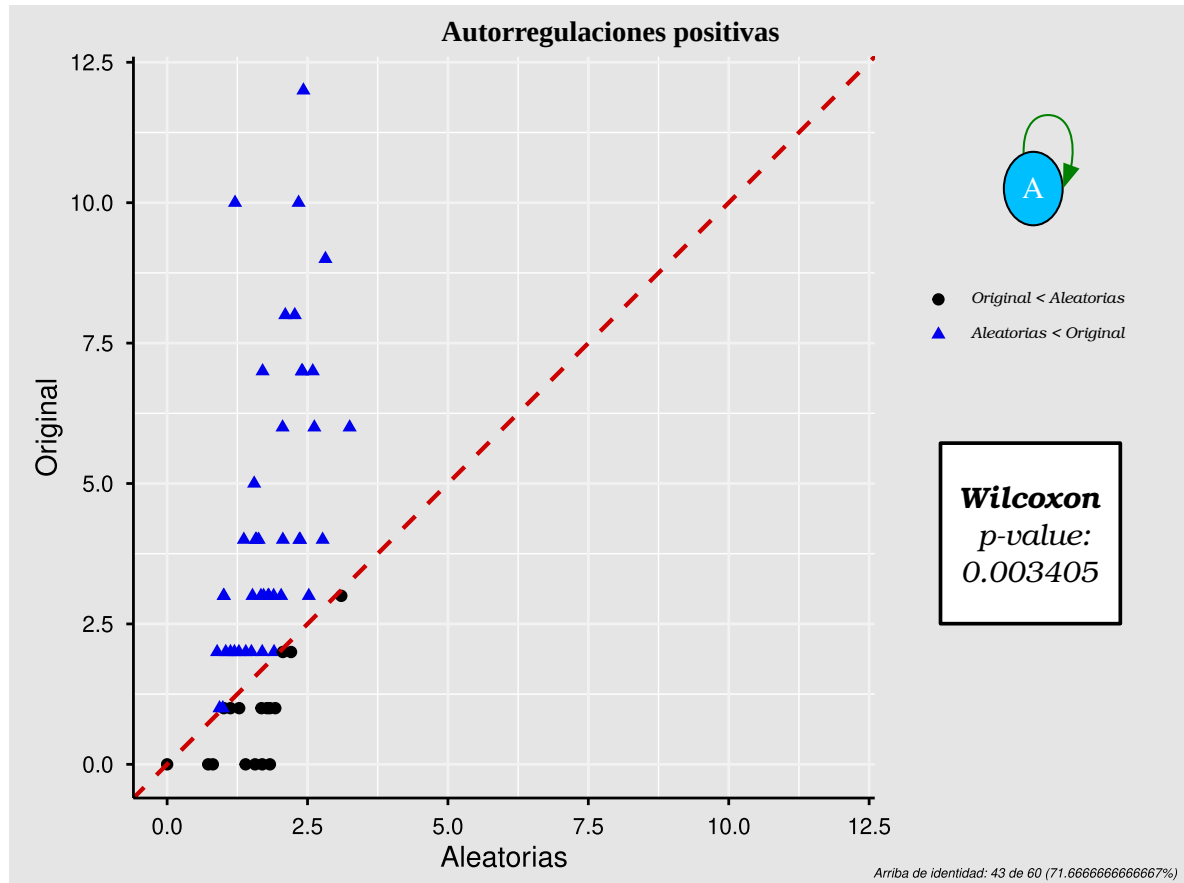


Figura 32: Cantidad de autorregulaciones positivas en las redes representativas de sistemas biológicos y en las redes aleatorias. Este circuito está más presente en las redes de los sistemas biológicos que en las redes aleatorias.

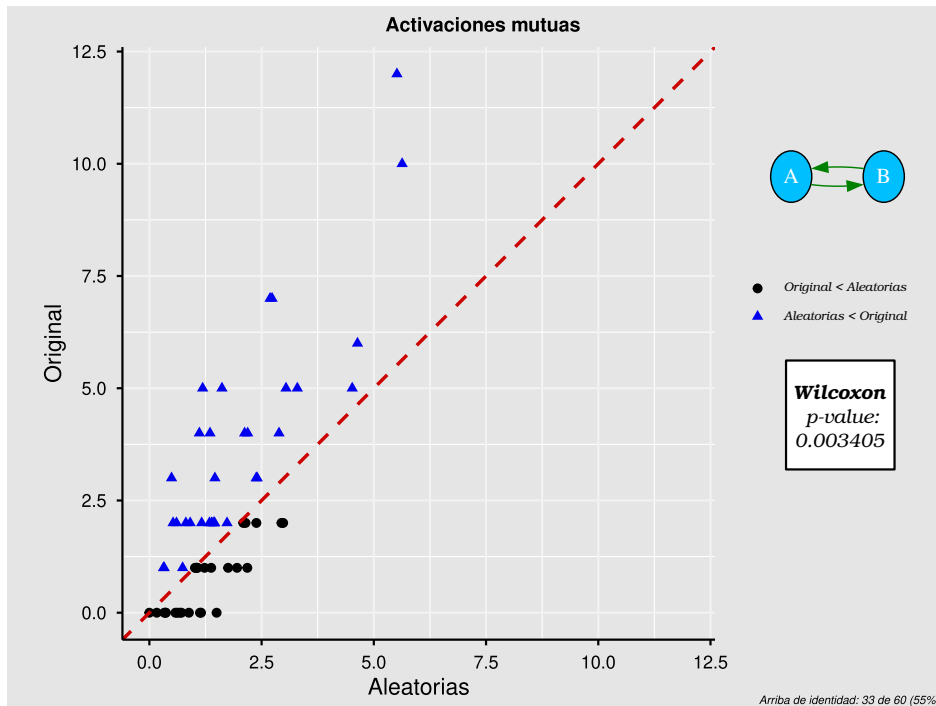
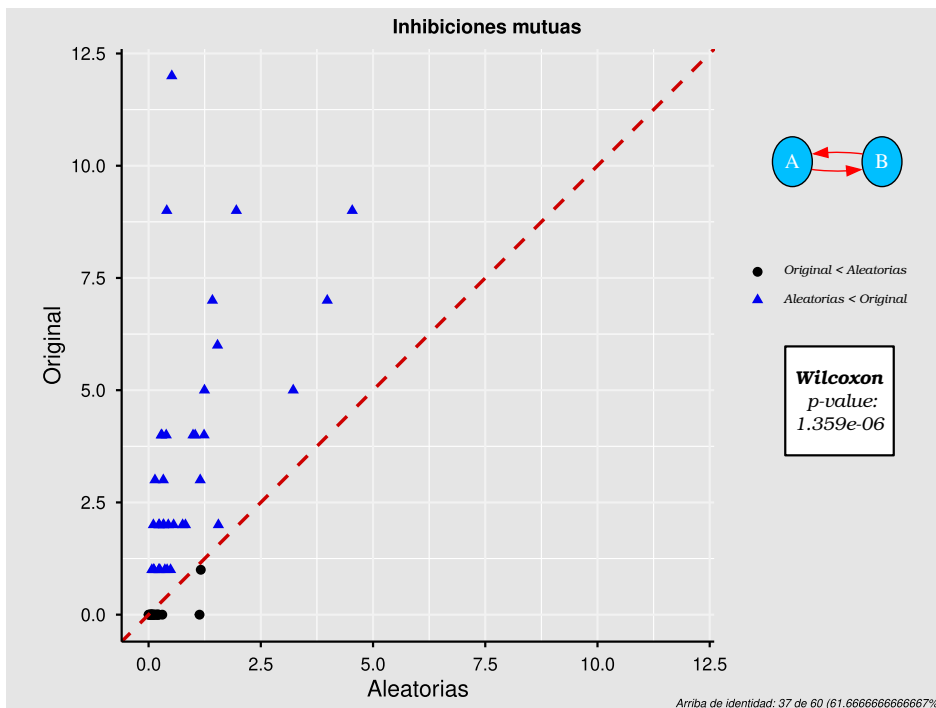
A**B**

Figura 33: Cantidad de cada tipo de regulaciones simétricas en las redes de los sistemas biológicos y en las redes aleatorias. (A). Activaciones mutuas. (B) Inhibiciones mutuas. En ambos casos se encuentran más los circuitos en las redes de los sistemas biológicos que en las aleatorias.

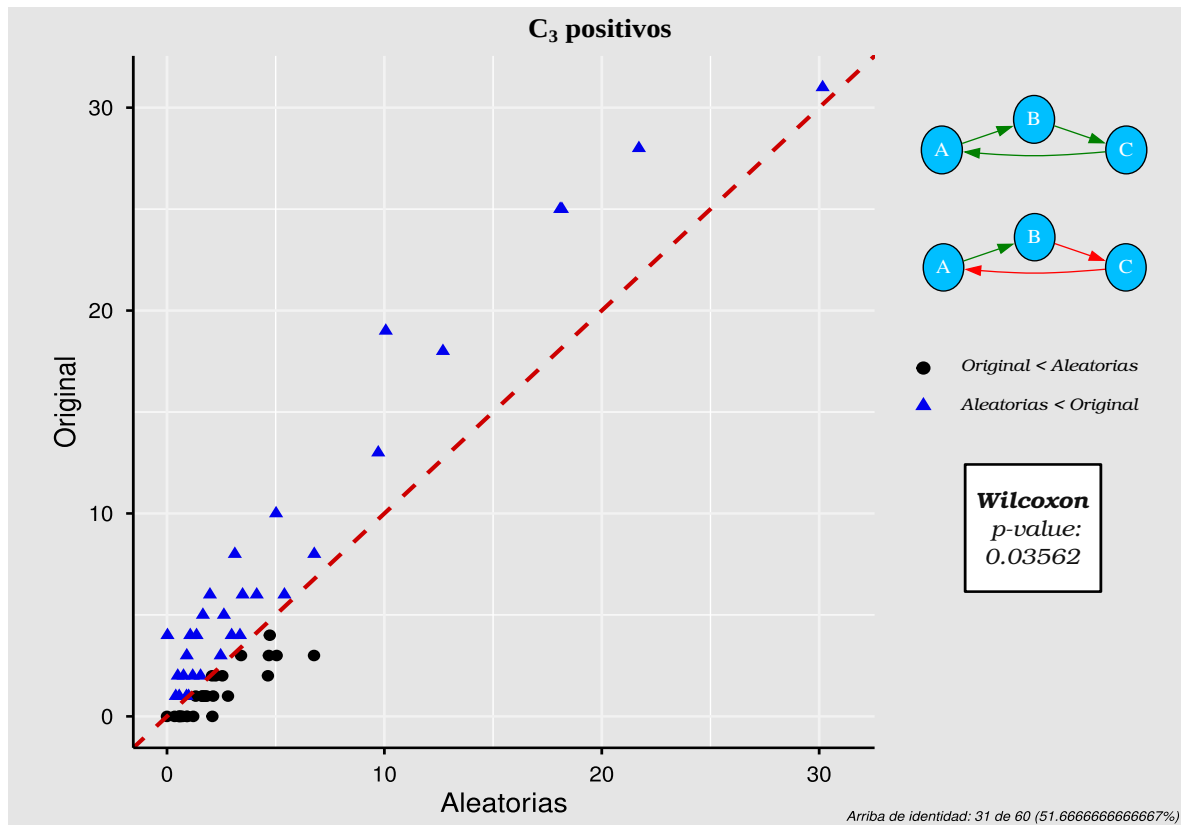


Figura 34: Cantidad de C_3 positivos (tipo I + tipo II) en las redes representativas de sistemas biológicos y en las redes aleatorias. Se encuentran en mayor abundancia en las redes de los sistemas biológicos en comparación del caso aleatorio.

4.2.2. Circuitos de retroalimentación positiva de la misma clase se acumulan en las GRN de manera independiente

Obtener modelos de regulación genética completos es difícil. Por esta razón, es posible que la ausencia de un patrón objetivo se complemente con la presencia de otro patrón objetivo del mismo tipo. Es decir, una red puede tener pocas C_3 positivos tipo I, pero múltiples activaciones mutuas, así como múltiples autorregulaciones positivas (que es justo lo que encontramos en la *sección 4.2.1*), y viceversa. Dado que los patrones objetivo por separado se encuentran en mayor abundancia en las redes de los procesos biológicos que en las aleatorias por separado, quise averiguar si al considerar en conjunto a los distintos patrones objetivo del mismo tipo también ocurre con mayor frecuencia en el caso representativo y si provoca algún cambio en el tamaño del efecto al hacer la comparación. Por lo tanto, cuantifiqué la presencia de todas los *circuitos de retroalimentación positiva* y comparé con las redes aleatorias. Observé que la cantidad de todos los CRP en las topologías representativas es mucho mayor a diferencia de los muestreos de redes aleatorias (*Figura 35*). De manera similar a lo que ocurrió con los patrones individuales, al analizar la alternativa negativa de estos escenarios noté que no existe una diferencia significativa entre las redes representativas de los sistemas biológicos y las aleatorias (*Figura 47, Figura 48*).

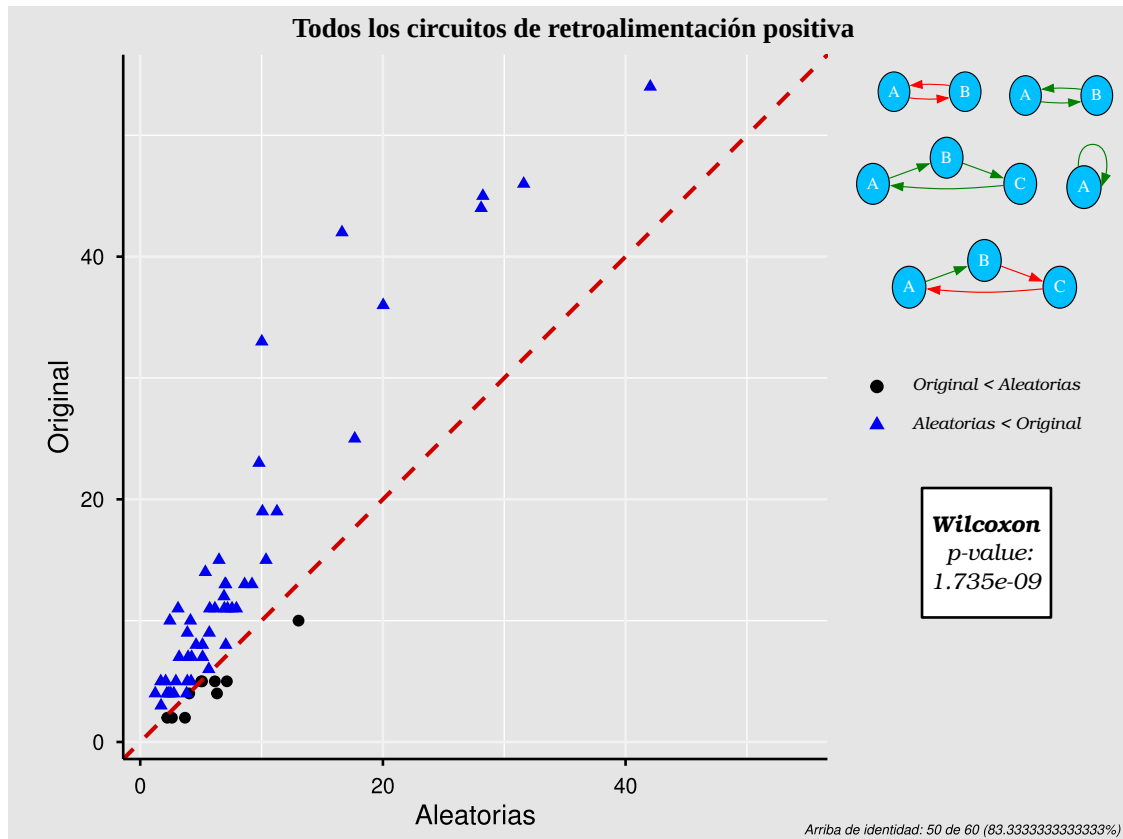


Figura 35: Todos los circuitos de retroalimentación positiva. Se encuentran en mucha mayor cantidad en las redes representativas de los sistemas biológicos en comparación a todos los circuitos de retroalimentación negativa.

Me pregunté si la abundancia de estos patrones es independiente de la condición de cada uno de ellos, i.e., si los patrones que constan de CRP que únicamente contienen regulaciones positivas, que llamo *Grupo P (grupo positivo de patrones)* (Figura 36A), se encuentran por sí mismos en mayor cantidad en las redes representativas de los sistemas biológicos que en las aleatorias. Observé que las topologías representativas de los sistemas biológicos contienen una presencia mucho mayor de el conjunto de patrones del *Grupo P* en comparación a las redes aleatorias (Figura 37A). En el mismo sentido, busqué si los CRP que contienen alguna regulación negativa (inhibiciones mutuas, circuitos de 3 genes tipo II), que denomino *Grupo N (grupo negativo de patrones)* (Figura 36B) también se encuentran mucho más en las representativas de los sistemas biológicos en comparación a los muestreos aleatorios. Otra vez, la cantidad del conjunto de patrones del *Grupo N* es mucho mayor en relación a la que presentan las redes aleatorias (Figura 37B).

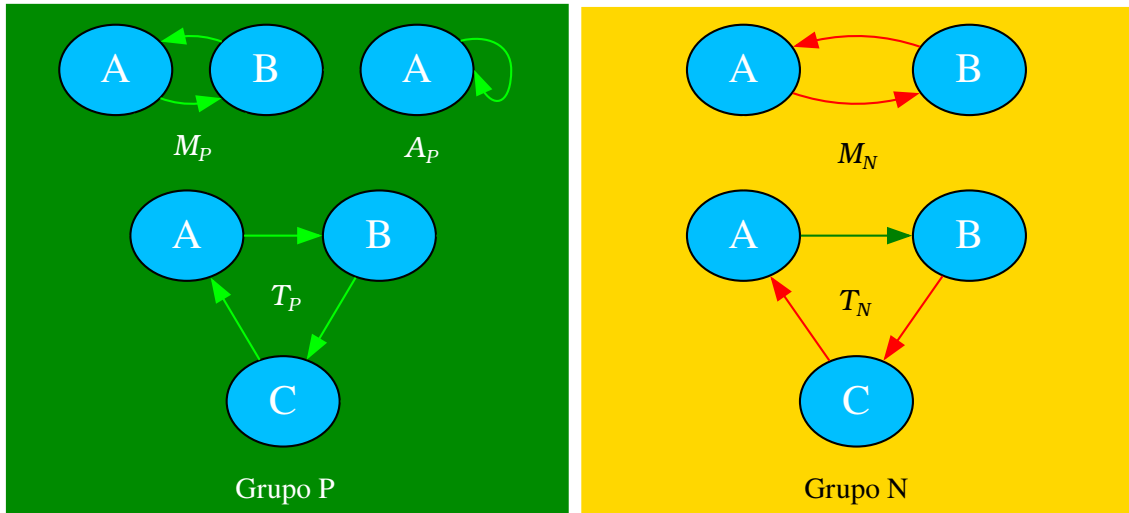
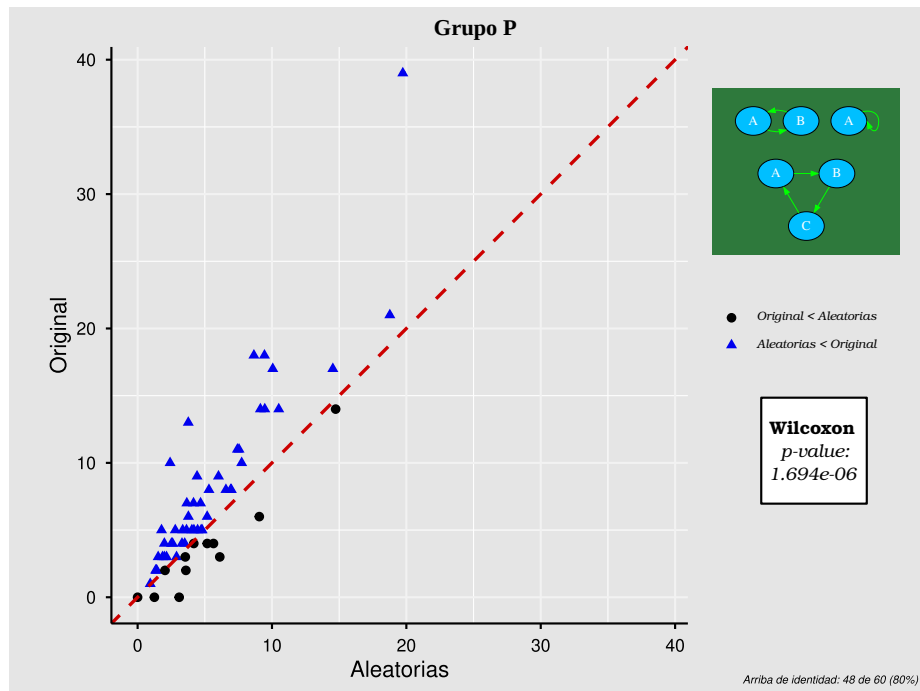


Figura 36: Grupos de patrones de retroalimentación positiva. (A) El grupo P consta de CRP que tienen puras activaciones. Aquí A_P : autorregulación positiva; M_P : activación mutua; T_P : C_3 tipo I. (B) El grupo N lo forman CRP que tienen al menos una inhibición. Aquí M_N : inhibición mutua; T_N : C_3 tipo II.

Además, me interesó saber si se encuentran en mayor cantidad necesariamente ambos grupos englobando patrones del mismo tipo de manera necesaria. Es decir, para cada red cuantifiqué la presencia del *Grupo P* y del *Grupo N*, esperando que de los grupos se encuentren mucho más que en el caso aleatorio, ya que en los análisis anteriores una red en específico puede tener mucha mayor presencia de un grupo particular, pero no del otro. Observé que, en general, la presencia de ambos grupos se encuentra en mayor cantidad en comparación a las aleatorias para cada una de las redes, puesto que esto ocurre en el 53.3% de los casos (*Figura 38A*). Además, también me percaté de que la presencia mayoritaria de alguno de los dos grupos en relación a las aleatorias ocurre en un 41.66%, por lo que ni sumadas las redes que contienen más cantidad de solo un grupo de patrones contra las aleatorias, alcanzan a las redes que sí contienen mayor presencia de ambos que las aleatorias. Encontré una sola red que no tiene mayor representación de ni uno de los dos grupos a diferencia de su muestreo aleatorio.

Para obtener una medida estadística de esto, decidí quedarme con el peor grupo para cada par de mediciones que hay por red. Al considerar el grupo con la presencia más baja para cada una de las redes, noté que aún así presenta una diferencia significativa respecto a las redes aleatorias (*Figura 38B*), por lo que puedo decir que, en general, cada red contiene más de cada patrón de manera independiente a los demás, puesto que los experimentos anteriores permitían enmascarar la falta de algún patrón con la presencia de otro.

A



B

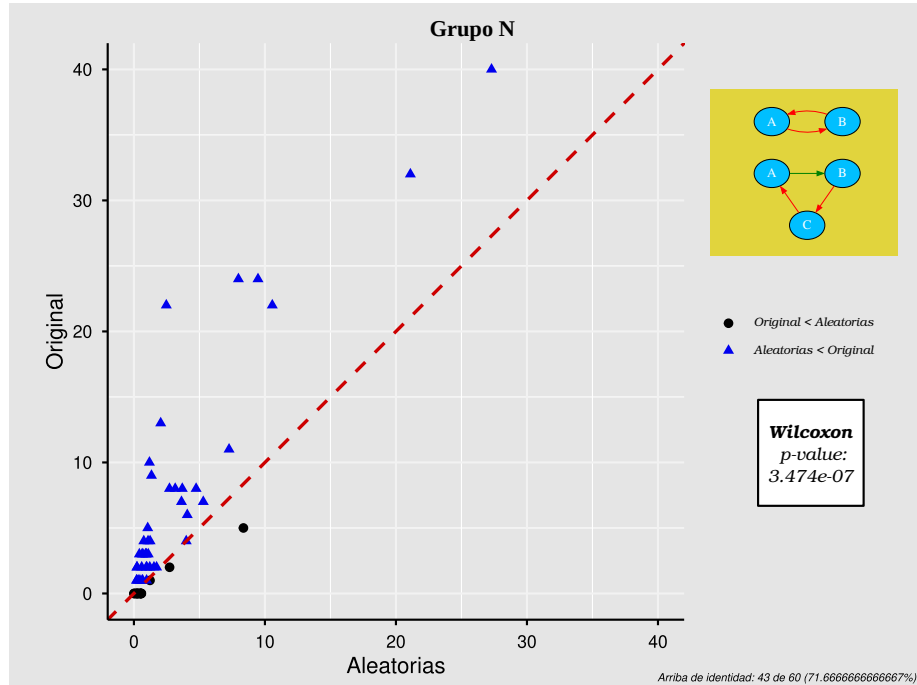


Figura 37: Los patrones del Grupo P y el grupo N son más numerosos en las redes representativas de los sistemas biológicos en comparación a las redes aleatorias (A) Cantidad de patrones del grupo P en las redes representativas de sistemas biológicos y en las aleatorias. (B). Cantidad del grupo N en las redes representativas de sistemas biológicos y en las aleatorias.

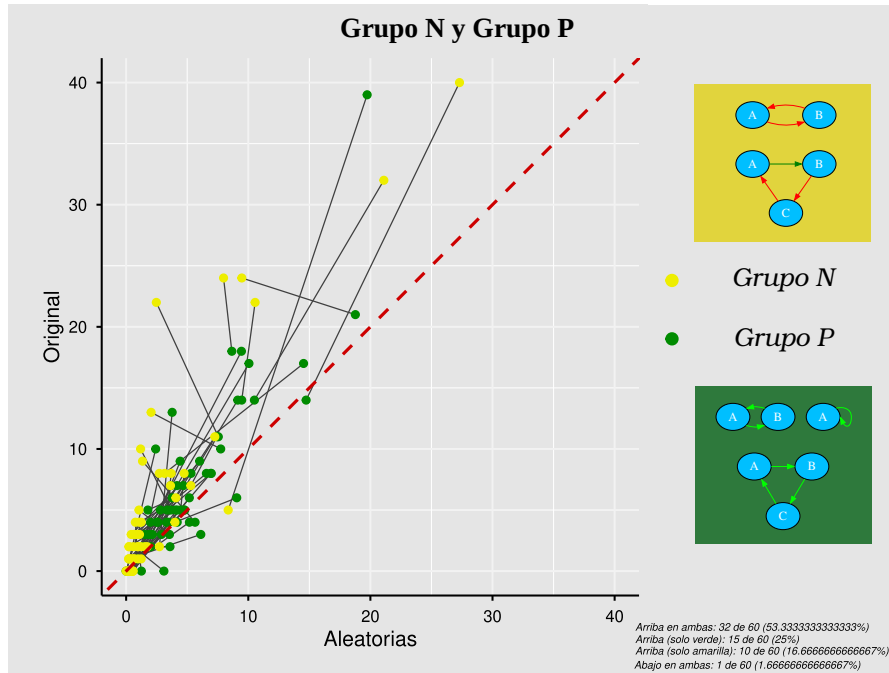
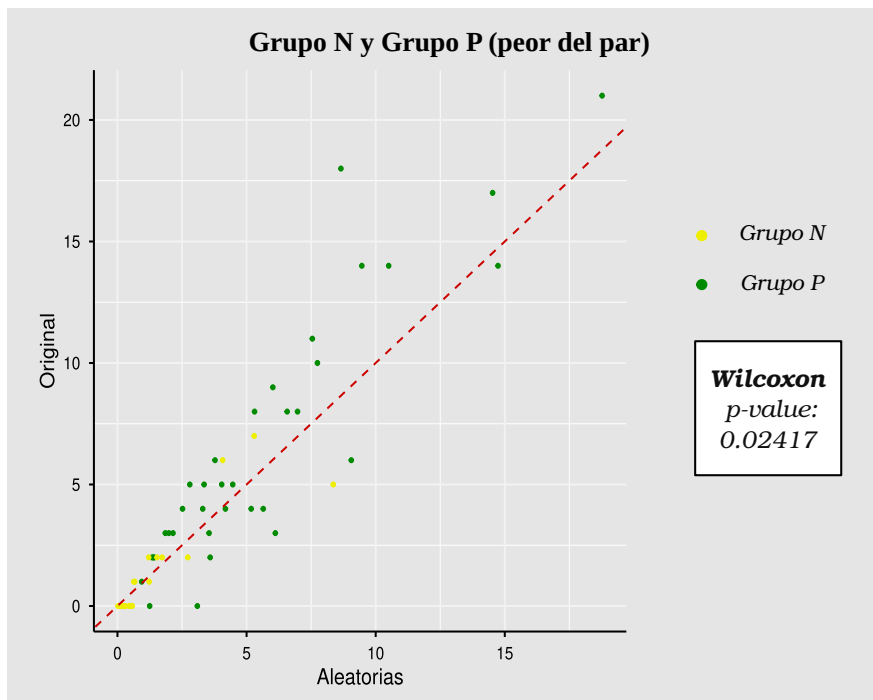
A**B**

Figura 38: Ambos grupos (P y N) están necesariamente presentes. (A) Cantidad de patrones del grupo P y el grupo N enlazadas formando un par para cada red representativa y cada red aleatoria. (B) Elegí el peor elemento del par en cada caso para poder medir estadísticamente si existe una diferencia entre los conjuntos. Encontré que sí, aunque es pequeña.

4.2.3. Las GRN presentan un perfil mucho más similar a la *identidad jerárquica ideal*

En virtud de que la *identidad jerárquica ideal* está determinada por la combinación de los patrones objetivo formando grupos simétricos de genes inhibiéndose mutuamente, decidí indagar si las redes de regulación genética naturales contienen mayor cantidad de estas uniones. Esto es fundamental puesto que representa la principal diferencia con muchos resultados previos, en los cuales únicamente se ha identificado a alguno/s de estos patrones por separado al estudiar un proceso en específico. Por lo tanto, cuantificar qué tantos CRP conectados entre sí presentan las redes de un compendio exhaustivo aporta mucha más información respecto a si la organización en grupos simétricos de las redes de regulación genética es intrínseca de estos procesos. Por consiguiente, definí a un grupo de *patrones conjugados A* (Figura 39), los cuales constan de un patrón del grupo N y un patrón del P acoplados. Es decir, estos patrones se forman con un CRP que contenga inhibiciones y que, además, uno de los genes involucrados en ese circuito (que debe estar realizando forzosamente una inhibición) sea parte de cualquier otro CRP sin inhibiciones. La “conjugación” de patrones del Grupo P y el grupo N es reminiscente de lo que ocurre en los grupos simétricos de genes inhibiéndose mutuamente que definen la *identidad jerárquica ideal*. Para cuantificar esto, contabilicé el número de genes en las redes que están involucrados en algún patrón conjugado y, de igual manera, lo comparé con sus muestreos aleatorio. Observé que, nuevamente, la cantidad de genes que se involucran en los *patrones conjugados A* es mucho mayor que para los casos aleatorios (Figura 40). En concordancia con todos los casos anteriores, noté que al analizar la contraparte negativa de los patrones conjugados, una vez más no existe una diferencia significativa entre las redes representativas de los sistemas biológicos y las aleatorias (Figura 49). Esto quiere decir que, en general, las redes de regulación genética de los sistemas biológicos presentan un perfil que se acerca mucho más al de la *identidad jerárquica ideal*.

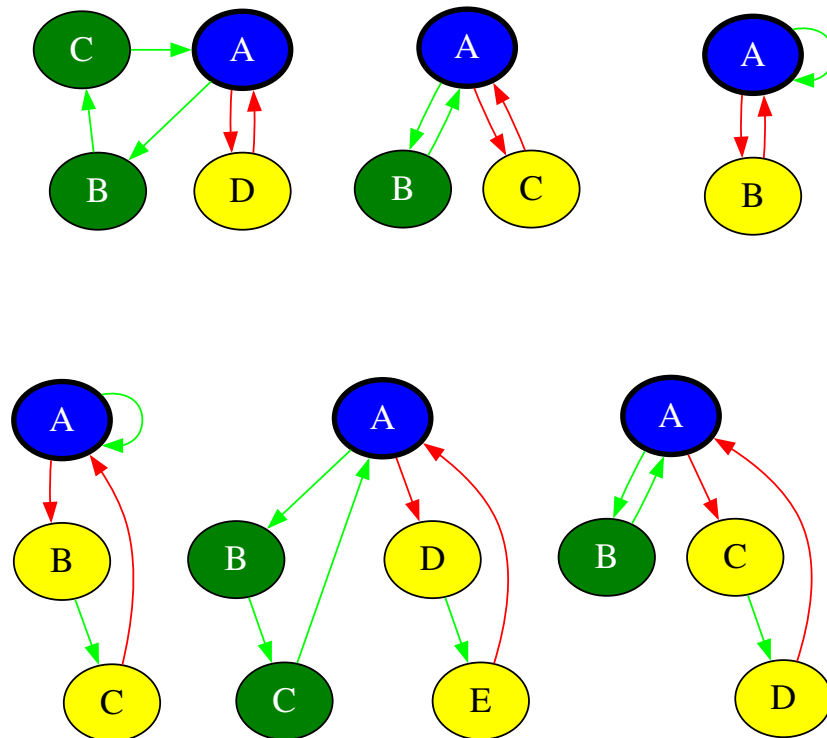


Figura 39: Patrones conjugados. Estos atributos topológicos constan de CRP combinados. Nótese cómo cada una de las topologías consta de un patrón del grupo P (genes verdes) y uno del grupo N (genes amarillos), con ambos patrones compartiendo un gen (genes azules destacados en su contorno).

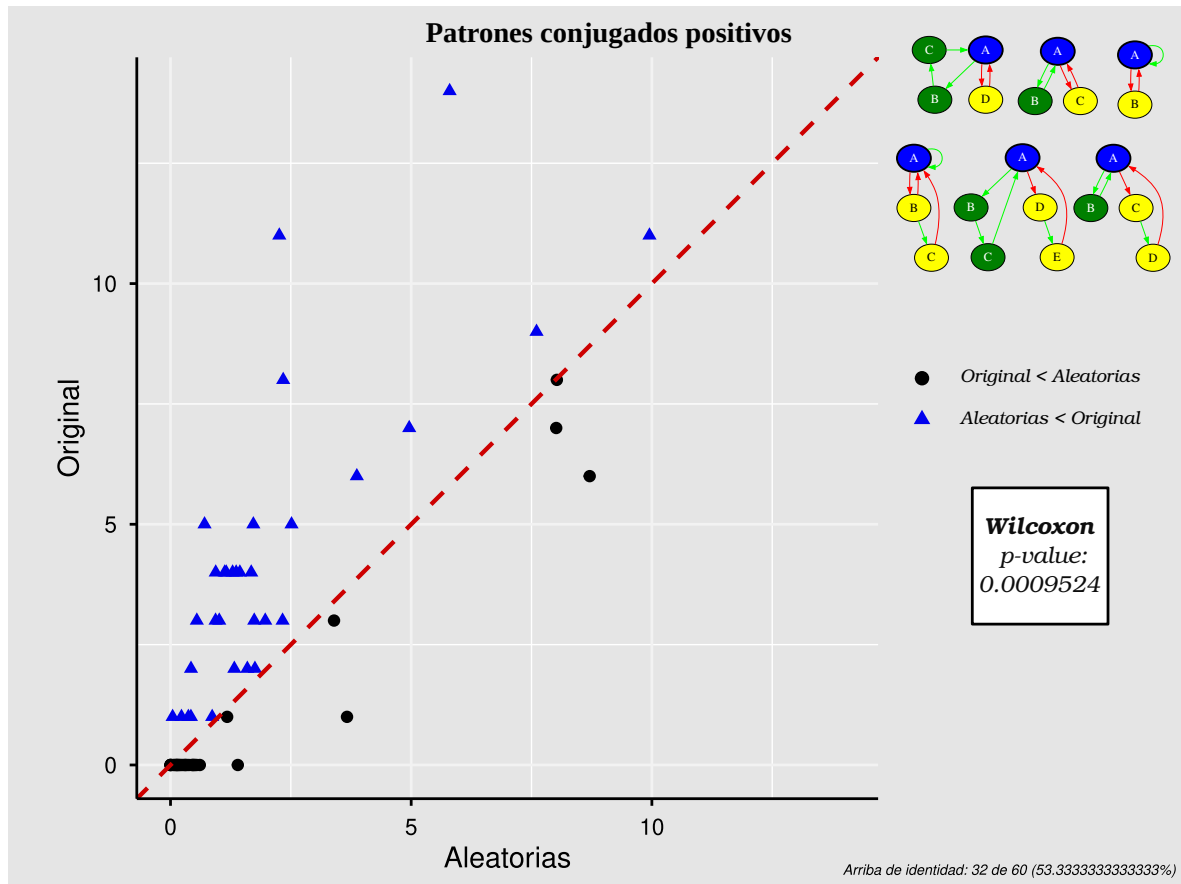


Figura 40: Los patrones conjugados aparecen en mayor abundancia en las redes representativas de sistemas biológicos que en las aleatorias. Los CRP combinados son más numerosos en los modelos biológicos que lo esperado en más de la mitad de las redes analizadas.

Para cada experimento de la sección 4.2, realicé una prueba de los rangos con signo de Wilcoxon a una cola, especificando la dirección en la que predécí que ocurre el efecto que provoca la diferencia.

El análisis estadístico y las gráficas generadas para facilitar la visualización de los resultados se elaboraron en R (R Core Team, 2024).

En el **Apéndice** (sección 7) pueden consultarse los modelos considerados para la obtención de todos los datos en este proyecto, desde la obtención de redes de diferenciación hasta el análisis de las propiedades topológicas de las GRN de origen.

La elaboración de figuras incluidas en este escrito fue hecha utilizando Graphviz (Ellson et al., 2004), la colección de paquetes para R tidyverse (Wickham et al., 2019) e Inkscape (The Inkscape Project, 2023).

5. Discusión

La diferenciación celular es un proceso intrínseco de todos los organismos eucariotas multicelulares, vital para el desarrollo de los mismos (Loomis, 2015). A pesar de los múltiples esfuerzos tanto experimentales como teóricos por esclarecer cómo funcionan los mecanismos que dirigen este proceso, dado que tendría muy atractivas aplicaciones (Paul *et al.*, 2022; Sepp *et al.*, 2024; Moy *et al.*, 2023; Kirkeby *et al.*, 2025), aún existen más dudas que respuestas. Uno de los conceptos que surge siempre que se habla de diferenciación celular y desarrollo es el de la diferenciación *irreversible* de tipos celulares, lo cual es evidente al observar los árboles de diferenciación (García-Bellido y Ripoll, 1978; Sulston *et al.*, 1983; Kondo *et al.*, 2003; Nishida y Stach, 2014; Guan *et al.*, 2025) que se construyen a partir de observaciones experimentales al rastrear el destino de los tipos celulares conforme avanza su especialización. Además, resulta llamativo cómo los planes corporales que dirigen la morfogénesis y organogénesis en los seres vivos parecen obedecer una estrategia *jerárquica* (McShea, 2001; Sandler y Stathopoulos, 2016), lo que permite la organización y formación de estructuras complejas y especializadas. Estas ideas se remontan a una metáfora visual creada por Conrad H. Waddington, quien sugirió por primera vez que las rutas del desarrollo están controladas principalmente por la influencia de genes unos sobre otros, representación que se conoce como *paisaje epigenético* (Waddington, 1957). Múltiples propuestas se han sugerido para describir teóricamente y cuantificar matemáticamente las nociones anteriores, con resultados variados ((Azevedo *et al.*, 2005; Lohaus *et al.*, 2007; Larsson *et al.*, 2011; Schiebinger *et al.*, 2019; Voulgarakis, 2024).

Corominas y compañía desarrollaron matemáticamente una definición de la jerarquía en grafos dirigidos a partir de sus propiedades estructurales (Corominas-Murtra *et al.*, 2013). Parte importante de su formalismo depende de obtener una red condensada a partir de la red original, lo cual permite eliminar relaciones cíclicas. Los nodos que forman parte de relaciones cíclicas se fusionan en objetos llamados *componentes fuertemente conexos*, los cuales tienen un peso asociado proporcional al número de nodos que contiene. En su trabajo, definieron tres características esenciales para determinar si una red es jerárquica o no: *piramidalidad*, *progresividad* y *ordenabilidad*. La piramidalidad indica qué tan divergente tiende a ser la estructura en una sola dirección, donde la idea recae en determinar si más nodos se originan a partir de menos nodos, y si esto se conserva al analizar la estructura de la red en fragmentos (capas). La ordenabilidad está relacionada con la proporción de nodos no involucrados en componentes fuertemente conexos y la progresividad con la posición de esos componentes fuertemente conexos. Cada una de estas características penaliza cualquier desviación de una estructura jerárquica ideal. En general, definieron que una red es *perfectamente jerárquica* si cuenta con una estructura totalmente piramidal y acíclica. Medir las tres características permite obtener una coordenada que especifica la posición de una red en un morfoespacio jerárquico a partir de su estructura.

En este trabajo me propuse encontrar qué razones hay detrás de la aparente jerarquía e irreversibilidad de los eventos de diferenciación celular y desarrollo, utilizando un modelo de redes de diferenciación celular y la definición de jerarquía de Corominas. En este modelo, las redes de diferenciación celular se construyen al encontrar las posibles transiciones que existen entre los atractores de modelos dinámicos de redes de regulación genética. Los atractores representan puntos estables en la dinámica de los sistemas que, en un contexto biológico, están asociados a tipos celulares y los patrones de actividad genética específicos que expresan. Para lograr esto, reuní modelos de redes de regulación genética que dictaminan procesos del desarrollo y destino de tipos celulares. Una limitación importante es que este modelo no es compatible con modelos que utilizan actualización asincrónica, así como la reducida cantidad de modelos que resultan de considerar eventos distintos del desarrollo, puesto que existen procesos predilectos que abarcan la mayor cantidad de modelos reportados hasta ahora.

Primeramente, logré reunir 22 modelos de redes de regulación genética controlando la diferenciación y el desarrollo a pesar de las consideraciones anteriores. Hasta ahora, esta es la colección más grande de modelos lógicos de redes de regulación genética involucradas meramente en el desarrollo o diferenciación celular de la que tengo conocimiento. A estos modelos los simulé dinámicamente y construí sus redes de diferenciación celular al buscar transiciones entre sus atractores. Posteriormente, evalué la jerarquía de estas redes de diferenciación siguiendo la definición de Corominas. Encontré que en más de la mitad la estructura de la red de diferenciación celular resultante es jerárquica, en muchos casos siendo apenas jerárquica. Sin embargo, esta observación ocurrió con menos fuerza que la que esperaba, dado

que muchas redes de diferenciación resultaron tener un solo componente fuertemente conexo. Esto en realidad coincide con estudios realizados previamente en (Ribeiro y Kauffman, 2007), donde, con un enfoque bastante similar, encontraron que las redes booleanas suelen formar un solo *conjunto ergódico*, el cual corresponde con los componentes fuertemente conexos que describí anteriormente en el escrito. En otras palabras, es difícil que los atractores de las redes no hagan relaciones totalmente cíclicas. A pesar de esto, que haya encontrado más redes que contienen más de un componente fuertemente conexo con ligera jerarquía no es un resultado que deba ser menospreciado.

Dado que la mayor parte de las redes de diferenciación presentaron una ligera tendencia a ser estructuralmente jerárquicas, me pregunté si las redes que resultan ser completamente cíclicas tienden a transicionar más en alguna de las dos direcciones opuestas que forman la relación cíclica. Por lo tanto, ponderé las transiciones que existían entre atractores contabilizando el número de perturbaciones que provan desembocar en cada atractor y construí una red de diferenciación efectiva conservando aquellas transiciones que resulten con una fuerza considerable en relación a la dirección opuesta. Al evaluar la jerarquía de estas redes, observo que el número de redes de diferenciación con una estructura completamente cíclica se elimina casi por completo. Más de un 80% del total resulta ser jerárquico, con el resto teniendo una estructura antijerárquica. Una observación que vale la pena mencionar es que, en las redes antijerárquicas, la dirección de las transiciones ocurre en el mismo sentido que lo que esperado en los sistemas biológicos, lo que implicaría que la aparición de reversibilidad celular es difícil. Estos resultados sugieren que, en general, las redes de diferenciación celular sí presentan una estructura jerárquica. Esto respalda trabajos previos en los que se cuestionó si, en modelos teóricos, los eventos de diferenciación celular ocurren predominantemente de manera reversible (Mani y Thlusty, 2021) o irreversible (Ye *et al.*, 2019; Nakamura *et al.*, 2024; Gao *et al.*, 2025). Sin embargo, dadas las limitaciones, suposiciones y simplificaciones tanto de mi modelo como de los modelos analizados, recomiendo que mis resultados sean tomados con cautela.

Debido a las dificultades con las que me encontré en la primera parte de este proyecto, decidí averiguar si las propiedades topológicas de las redes de regulación genética cuentan con características particulares que influyen en la estructura jerárquica de las redes de diferenciación que originan. Miembros del equipo de trabajo que formo parte recientemente ha encontrado patrones estructurales en las redes de regulación genética que parecen ser necesarios y suficientes para obtener redes de diferenciación celular jerárquicas (Meraz-Segura, 2026). Entre los resultados destacados se encuentran la más que recurrente presencia de *circuitos de retroalimentación positiva*, los cuales tienden a asociarse formando redes simétricas con grupos de genes inhibiéndose mutuamente. Además, los *circuitos de retroalimentación negativa* son escasos en estas redes. Que una red de regulación genética presente esta organización considero que tiene *identidad jerárquica*. Inspirado por lo anterior, me enfoqué en cuantificar estos *patrones objetivo* en las redes de regulación genética previamente analizadas, además de buscar en la literatura más modelos que contaran con topología definida, logrando juntar una colección de 60 redes de regulación genética involucradas en el desarrollo.

Al buscar los patrones objetivo que conforman la *identidad jerárquica* de manera individual, los cuales constan de distintos tipos de circuitos de retroalimentación positiva, encontré que en todos los casos las topologías representativas de los procesos biológicos contienen significativamente en mayor frecuencia estos patrones. Además, al separar a los circuitos de retroalimentación en dos clases distintas, los que contienen únicamente activaciones y los que pueden contener inhibiciones, detecté que, de manera independiente, los modelos representativos de la naturaleza contienen significativamente más de ambas clases de patrones. Este resultado no es de sorprenderse dado que muchos de estos circuitos de retroalimentación positiva de las redes de regulación genética ya han sido identificados previamente en redes de regulación genética del desarrollo, lo cual se piensa que determina las bifurcaciones que ocurren en los eventos de diferenciación que definen los tipos celulares (Huang *et al.*, 2007; Chickarmane y Peterson, 2008; Wang *et al.*, 2010; Bhattacharya *et al.*, 2011; Zhou y Huang, 2011; De Mot *et al.*, 2016). Por lo anterior, pensé que era necesario cuantificar de una mejor manera la organización simétrica en grupos de genes inhibiéndose mutuamente que implica la *identidad jerárquica* en la topología de las redes. Para lograr esto, decidí cuantificar la cantidad de genes que estuvieran involucrados en circuitos de retroalimentación positiva de clases distintas, i.e., genes que fueran parte de alguna inhibición mutua o C_3 tipo II (ciclo de retroalimentación positiva con dos inhibiciones), y que además tuvieran alguna autorregulación positiva o fueran parte de una activación mutua o C_3 tipo I (ciclo de retroalimentación

positiva con tres activaciones). A estos patrones topológicos los nombré *patrones conjugados A*. Noté que para este caso, nuevamente la presencia de patrones conjugados A es significativamente mayor en las topologías representativas de la naturaleza en comparación de los muestreos aleatorios.

A pesar de que en la segunda parte de esta investigación realicé un análisis topológico, sin tomar en cuenta la dinámica de las redes, se ha encontrado previamente es que la dinámica de una red puede estar determinada mayoritariamente por su estructura (Pomerance *et al.*, 2009; Ahnert y Fink, 2016; Kobayashi *et al.*, 2018; Mochizuki, 2023), especialmente si contiene los patrones que identifiqué (Payne y Wagner, 2015; Ahnert y Fink, 2016; Fink, 2022), lo cual respalda mi hipótesis de que las propiedades topológicas de las redes de regulación genética que definen la *identidad jerárquica* determinan la tendencia a formar rutas de diferenciación jerárquicas. Anteriormente, estos patrones topológicos de las redes de regulación genética ya han sido identificados individualmente al estudiar por separado procesos del desarrollo particulares (Snoussi, 1998; Cherry y Adler, 2000; Niwa *et al.*, 2005; Chickarmane *et al.*, 2009; Doncic *et al.*, 2015; Hoppe *et al.*, 2016; Strasser *et al.*, 2018; Biswas *et al.*, 2021; Sevlever *et al.*, 2025; Bv *et al.*, 2025), por lo que observar esta tendencia en un estudio exhaustivo, en un compendio más grande, considero que aporta información relevante acerca de la organización de las redes de regulación genética y los mecanismos que controlan el desarrollo y diferenciación celular. Además, mis resultados también coinciden con los obtenidos previamente por mi compañero Meraz-Segura (Meraz-Segura, 2026), lo que da mayores indicios de que los circuitos de retroalimentación positiva conjugados, que definen la *identidad jerárquica*, cumplen un papel clave al momento de dirigir la diferenciación celular y el desarrollo de los organismos. Los hallazgos del análisis de patrones topológicos, junto a los encontrados por Meraz-Segura en (Meraz-Segura, 2026), constituirán un artículo que está en preparación (Meraz-Segura *et al.*, 2026).

6. Perspectivas

Se piensa que los eventos de diferenciación celular y desarrollo son irreversibles y jerárquicos. En este trabajo, evalué la presencia de jerarquía en modelos de redes de regulación genética que controlan los procesos anteriores. El análisis lo realicé en dos etapas, una dinámica y otra estática.

En la etapa dinámica, encontré que las redes de diferenciación celular, que resultan de obtener las transiciones posibles entre atractores de la red de regulación genética de origen, tienden a presentar una estructura jerárquica. Sin embargo, en esta etapa tuve que lidiar con algunos obstáculos que hicieron su interpretación complicada. Un problema que detecté fue la fiabilidad no garantizada de los modelos recopilados, ya que cuentan con una cantidad considerable de sesgo y de distintos tipos, por lo que la extendibilidad de los mismos resulta limitada y sesgada. Entre ellos, muchos de los modelos que se encuentran en la literatura son distintas versiones del mismo proceso del desarrollo, también los modelos son construidos con un enfoque *ad hoc*, de manera que los autores solo están interesados en que funcionen para los fines del sistema que están estudiando en cuestión bajo sus términos, por lo que al implementar mi modelo provocan respuestas incluso no representativas de lo que ocurriría en realidad en esos sistemas.

Otro inconveniente es que los métodos para inferir funciones booleanas pueden provocar que se elijan preferentemente funciones lógicas de cierto tipo sobre otras para determinar la dinámica de la red, detalle importantísimo dado que se ha demostrado que redes con exactamente la misma topología pero que difieren en las reglas lógicas asignadas a los genes pueden conducir a los mismos atractores (Zhou *et al.*, 2016; Subbaroyan *et al.*, 2023), por lo que el sesgo que introducen las funciones booleanas implementadas en los modelos recolectados es vital para que mi modelo sea preciso y los modelos booleanos en general también. Aparte, la cantidad de grupos de investigación enfocados en resolver preguntas de esta área en específico es considerablemente pequeño, lo que puede añadir sesgo adicional ya que los modelos son construidos con metodologías no tan diversas implementadas por las mismas personas.

Otra suposición que realicé en este modelo es que todos los genes de las redes tienen la misma probabilidad a las *modificaciones de estado* de los genes, ya sea por modificaciones epigenéticas o cualquier fuerza externa/ambiental que cambie el estado de actividad de los genes. Esto es una sobresimplificación de lo que ocurre realmente en los sistemas biológicos, donde muchas veces el entorno lleva a cabo un papel importante en estos procesos. Es decir, los genes son vulnerables en distintos lugares (Skok *et al.*, 2001; Williams *et al.*, 2002), escalas de tiempo (Siebert y Bockmayr, 2008; Hu *et al.*, 2019; Elsaid *et al.*, 2019) y con diferente magnitud (Zhao *et al.*, 2023b) a las perturbaciones de actividad genética. Lo anterior representa aún más limitaciones de mi modelo y puede valer la pena intentarlo de otra forma, en donde podría considerar incluso perturbaciones estocásticas y modelos con actualización asincrónica de los genes. Por todo lo anterior, buscar maneras más eficientes de construir las redes de diferenciación celular reduciendo el sesgo y las suposiciones artificiales que definimos es algo que aún está pendiente de desarrollarse.

Los resultados obtenidos al realizar el análisis estático indican que la presencia significativa de circuitos de retroalimentación positiva es básicamente lo que distingue a las redes de regulación genética del desarrollo. Tomar en cuenta esto sugiere que podría ser útil someter a distintas mutaciones y distintos procesos de selección estos circuitos para observar la evolución de las redes y el comportamiento de estos mismos patrones bajo esas condiciones. De esta manera, podría conocerse la verdadera razón por la que la evolución condujo a que se 'fijaran' o establecieran estos atributos topológicos, así como observarse cómo evoluciona su capacidad de evolución, concepto que se conoce como *evolucionabilidad* de las redes.

La organización en grupos inhibiéndose mutuamente de las redes recuerda un poco a otras estrategias de regulación genética que ocurren en los organismos. Sería interesante observar si existe alguna relación entre esta organización y otras propiedades estructurales de las redes de regulación genética, como lo son la modularidad (Wagner, 1996; Clune *et al.*, 2013) y la asortatividad (Newman, 2002; Foster *et al.*, 2010) de las redes. Determinar si, por ejemplo, los módulos que se forman en la estructura regulatoria con mayor conectividad de la esperada entre ellos a diferencia del resto, y los grupos de genes que se inhiben mutuamente provocando los patrones de actividad mutuamente excluyentes, están

correlacionados o no. También sería interesante averiguar si la duplicación genética tiende a generar redes con esta topología.

Al tomar en cuenta nuevamente mi modelo de redes de diferenciación celular, se podría evaluar si la perturbación de estos patrones topológicos de las redes de regulación genética, que conduciría a cambios en la dinámica de las mismas, provoca efectos de distinta magnitud o no en la expresión fenotípica dependiendo del momento en que aparezcan en el desarrollo. La anterior es una observación que recuerda a las leyes de Karl Ernst von Baer (Gould, 1977; Barnes, 2014), donde alteraciones en etapas más tempranas en el desarrollo conducen a efectos más acentuados en el fenotipo maduro del mismo.

Referencias

- Abley, K., Locke, J. C. W., y Leyser, H. M. O. (2016). Developmental mechanisms underlying variable, invariant and plastic phenotypes. *Annals of Botany*, 117(5):733–748.
- Abou-Jaoudé, W., Traynard, P., Monteiro, P. T., Saez-Rodriguez, J., Helikar, T., Thieffry, D., y Chaouiya, C. (2016). Logical Modeling and Dynamical Analysis of Cellular Networks. *Frontiers in Genetics*, 7:94.
- Aguilar-Hidalgo, D., Domínguez-Cejudo, M. A., Amore, G., Brockmann, A., Lemos, M. C., Córdoba, A., y Casares, F. (2013). A Hh-driven gene network controls specification, pattern and size of the *Drosophila* simple eyes. *Development*, 140(1):82–92.
- Aguirre López, F. y Coolen, A. C. C. (2021). Transitions in random graphs of fixed degrees with many short cycles. *Journal of Physics: Complexity*, 2(3):035010.
- Ahnert, S. E. y Fink, T. M. A. (2016). Form and function in gene regulatory networks: The structure of network motifs determines fundamental properties of their dynamical state space. *Journal of the Royal Society, Interface*, 13(120):20160179.
- Albert, I., Thakar, J., Li, S., Zhang, R., y Albert, R. (2008). Boolean network simulations for life scientists. *Source Code for Biology and Medicine*, 3:16.
- Albert, R. (2005). Scale-free networks in cell biology. *Journal of Cell Science*, 118(Pt 21):4947–4957.
- Albert, R. y Barabási, A.-L. (2002). Statistical mechanics of complex networks. *Reviews of Modern Physics*, 74(1):47–97.
- Albert, R. y Othmer, H. G. (2003). The topology of the regulatory interactions predicts the expression pattern of the segment polarity genes in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Theoretical Biology*, 223(1):1–18.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., y Walter, P. (2002). *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science, 4ª edición.
- Aldana, M., Balleza, E., Kauffman, S., y Resendiz, O. (2007). Robustness and evolvability in genetic regulatory networks. *Journal of Theoretical Biology*, 245(3):433–448.
- Alicea, B., McGrew, S., Gordon, R., Larson, S., Warrington, T., y Watts, M. (2014). DevoWorm: Differentiation waves and computation in *C. Elegans* embryogenesis.
- Alon, U. (2007). Network motifs: Theory and experimental approaches. *Nature Reviews Genetics*, 8(6):450–461.
- Andrews, P. W. (2002). From teratocarcinomas to embryonic stem cells. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 357(1420):405–417.
- Arendt, D. (2005). Genes and homology in nervous system evolution: Comparing gene functions, expression patterns, and cell type molecular fingerprints. *Theory in Biosciences = Theorie in Den Biowissenschaften*, 124(2):185–197.
- Arendt, D., Musser, J. M., Baker, C. V. H., Bergman, A., Cepko, C., Erwin, D. H., Pavlicev, M., Schlosser, G., Widder, S., Laubichler, M. D., y Wagner, G. P. (2016). The origin and evolution of cell types. *Nature Reviews. Genetics*, 17(12):744–757.
- Argyris, G., Zeegelaar, R., y Post, J. N. (2024). Molecular mechanisms of heart field specific cardiomyocyte differentiation- a computational modeling approach.
- Arias Del Angel, J. A., Escalante, A. E., Martínez-Castilla, L. P., y Benítez, M. (2018). Cell-fate determination in *Myxococcus xanthus* development: Network dynamics and novel predictions. *Development, Growth & Differentiation*, 60(2):121–129.

- Arinobu, Y., Mizuno, S.-i., Chong, Y., Shigematsu, H., Iino, T., Iwasaki, H., Graf, T., Mayfield, R., Chan, S., Kastner, P., y Akashi, K. (2007). Reciprocal activation of GATA-1 and PU.1 marks initial specification of hematopoietic stem cells into myeloerythroid and myelolymphoid lineages. *Cell Stem Cell*, 1(4):416–427.
- Arlotta, P. y Hobert, O. (2015). Homeotic Transformations of Neuronal Cell Identities. *Trends in Neurosciences*, 38(12):751–762.
- Arnosti, D. N. y Ay, A. (2012). Boolean modeling of gene regulatory networks: Driesch redux. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(45):18239–18240.
- Azevedo, R. B. R., Lohaus, R., Braun, V., Gumbel, M., Umamaheshwar, M., Agapow, P.-M., Houthoofd, W., Platzer, U., Borgonie, G., Meinzer, H.-P., y Leroi, A. M. (2005). The simplicity of metazoan cell lineages. *Nature*, 433(7022):152–156.
- Azpeitia, E., Muñoz, S., González-Tokman, D., Martínez-Sánchez, M. E., Weinstein, N., Naldi, A., Álvarez-Buylla, E. R., Rosenblueth, D. A., y Mendoza, L. (2017). The combination of the functionalities of feedback circuits is determinant for the attractors’ number and size in pathway-like Boolean networks. *Scientific Reports*, 7:42023.
- Azpeitia, E., Weinstein, N., Benítez, M., Mendoza, L., y Álvarez-Buylla, E. R. (2013). Finding Missing Interactions of the Arabidopsis thaliana Root Stem Cell Niche Gene Regulatory Network. *Frontiers in Plant Science*, 4.
- Bao, Z., Murray, J. I., Boyle, T., Ooi, S. L., Sandel, M. J., y Waterston, R. H. (2006). Automated cell lineage tracing in *Caenorhabditis elegans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(8):2707–2712.
- Barabási, A.-L. y Albert, R. (1999). Emergence of Scaling in Random Networks. *Science*, 286(5439):509–512.
- Barabási, A.-L. y Oltvai, Z. N. (2004). Network biology: Understanding the cell’s functional organization. *Nature Reviews Genetics*, 5(2):101–113.
- Barbuti, R., Gori, R., Milazzo, P., y Nasti, L. (2020). A survey of gene regulatory networks modelling methods: From differential equations, to Boolean and qualitative bioinspired models. *Journal of Membrane Computing*, 2(3):207–226.
- Barnes, M. E. (2014). Karl Ernst von Baer’s Laws of Embryology. *Embryo Project Encyclopedia*, página 1.
- Bateson, P. (2002). William Bateson: A biologist ahead of his time. *Journal of Genetics*, 81(2):49–58.
- Becker, J. S., Nicetto, D., y Zaret, K. S. (2016). H3K9me3-Dependent Heterochromatin: Barrier to Cell Fate Changes. *Trends in genetics: TIG*, 32(1):29–41.
- Bell, C. C., Faulkner, G. J., y Gilan, O. (2024). Chromatin-based memory as a self-stabilizing influence on cell identity. *Genome Biology*, 25(1):320.
- Benítez, M. y Hejácıko, J. (2013). Dynamics of Cell-Fate Determination and Patterning in the Vascular Bundles of Arabidopsis thaliana. *PLoS ONE*, 8(5):e63108.
- Bessonnard, S., De Mot, L., Gonze, D., Barriol, M., Dennis, C., Goldbeter, A., Dupont, G., y Chazaud, C. (2014). Gata6, Nanog and Erk signaling control cell fate in the inner cell mass through a tristable regulatory network. *Development (Cambridge, England)*, 141(19):3637–3648.
- Bhattacharya, S., Zhang, Q., y Andersen, M. (2011). Double-negative feedback loops as a common design motif in the transcriptional networks regulating cell fate. *Int. J. of Design Engineering*, 4:41–57.

- Biswas, S., Manicka, S., Hoel, E., y Levin, M. (2021). Gene regulatory networks exhibit several kinds of memory: Quantification of memory in biological and random transcriptional networks. *iScience*, 24(3):102131.
- Bollobás, B. (1980). A Probabilistic Proof of an Asymptotic Formula for the Number of Labelled Regular Graphs. *European Journal of Combinatorics*, 1(4):311–316.
- Bonzanni, N., Garg, A., Feenstra, K. A., Schütte, J., Kinston, S., Miranda-Saavedra, D., Heringa, J., Xenarios, I., y Göttgens, B. (2013). Hard-wired heterogeneity in blood stem cells revealed using a dynamic regulatory network model. *Bioinformatics*, 29(13):i80–i88.
- Bornholdt, S. (2008). Boolean network models of cellular regulation: Prospects and limitations. *Journal of the Royal Society, Interface*, 5 Suppl 1(Suppl 1):S85–94.
- Bornholdt, S. y Kauffman, S. (2019). Ensembles, dynamics, and cell types: Revisiting the statistical mechanics perspective on cellular regulation. *Journal of Theoretical Biology*, 467:15–22.
- Borriello, E. y Daniels, B. C. (2021). The basis of easy controllability in Boolean networks. *Nature Communications*, 12(1):5227.
- Brandman, O., Ferrell, J. E., Li, R., y Meyer, T. (2005). Interlinked Fast and Slow Positive Feedback Loops Drive Reliable Cell Decisions. *Science*, 310(5747):496–498.
- Britten, R. J. y Davidson, E. H. (1969a). Gene Regulation for Higher Cells: A Theory. *Science*, 165(3891):349–357.
- Britten, R. J. y Davidson, E. H. (1969b). Gene Regulation for Higher Cells: A Theory. *Science*, 165(3891):349–357.
- Broido, A. D. y Clauset, A. (2019). Scale-free networks are rare. *Nature Communications*, 10(1):1017.
- Brown, L., King, J., y Loose, M. (2014). Two different network topologies yield bistability in models of mesoderm and anterior mesendoderm specification in amphibians. *Journal of Theoretical Biology*, 353:67–77.
- Burda, Z., Krzywicki, A., Martin, O. C., y Zagorski, M. (2011). Motifs emerge from function in model gene regulatory networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(42):17263–17268.
- Bv, H., Billakurthi, H. S., Adigwe, S., Hari, K., Levine, H., Gedeon, T., y Jolly, M. K. (2025). Emergent dynamics of cellular decision making in multi-node mutually repressive regulatory networks. *Journal of the Royal Society, Interface*, 22(229):20250190.
- Caiazzo, M., Dell’Anno, M. T., Dvoretzkova, E., Lazarevic, D., Taverna, S., Leo, D., Sotnikova, T. D., Menegon, A., Roncaglia, P., Colciago, G., Russo, G., Carninci, P., Pezzoli, G., Gainetdinov, R. R., Gustinich, S., Dityatev, A., y Broccoli, V. (2011). Direct generation of functional dopaminergic neurons from mouse and human fibroblasts. *Nature*, 476(7359):224–227.
- Carthew, R. W. (2021). Gene Regulation and Cellular Metabolism: An Essential Partnership. *Trends in genetics: TIG*, 37(4):389–400.
- Chaouiya, C., Naldi, A., y Thieffry, D. (2012). Logical modelling of gene regulatory networks with GINsim. *Methods in Molecular Biology*, 804:463–479.
- Chen, H., Guo, J., Mishra, S. K., Robson, P., Niranjana, M., y Zheng, J. (2015). Single-cell transcriptional analysis to uncover regulatory circuits driving cell fate decisions in early mouse development. *Bioinformatics*, 31(7):1060–1066.
- Cheng, C., Andrews, E., Yan, K.-K., Ung, M., Wang, D., y Gerstein, M. (2015). An approach for determining and measuring network hierarchy applied to comparing the phosphorylome and the regulome. *Genome Biology*, 16(1):63.

- Cherry, J. L. y Adler, F. R. (2000). How to make a biological switch. *Journal of Theoretical Biology*, 203(2):117–133.
- Chickarmane, V., Enver, T., y Peterson, C. (2009). Computational modeling of the hematopoietic erythroid-myeloid switch reveals insights into cooperativity, priming, and irreversibility. *PLoS computational biology*, 5(1):e1000268.
- Chickarmane, V. y Peterson, C. (2008). A computational model for understanding stem cell, trophoblast and endoderm lineage determination. *PloS One*, 3(10):e3478.
- Chulián, S., Rubio, -M., Rosa, M., y Pérez-García, V. M. (2022). Mathematical models of Leukaemia and its treatment: A review. *SeMA Journal*, 79(3):441–486. arXiv:2011.05881 [q-bio.TO].
- Ciliberti, S., Martin, O. C., y Wagner, A. (2007). Innovation and robustness in complex regulatory gene networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(34):13591–13596.
- Cislo, D. J., Delás, M. J., Briscoe, J., y Siggia, E. D. (2025). Reconstructing Waddington’s landscape from data. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 122(49):e2521762122.
- Clune, J., Mouret, J.-B., y Lipson, H. (2013). The evolutionary origins of modularity. *Proceedings. Biological Sciences*, 280(1755):20122863.
- Collinet, C. y Lecuit, T. (2021). Programmed and self-organized flow of information during morphogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 22(4):245–265.
- Collombet, S., Van Oevelen, C., Sardina Ortega, J. L., Abou-Jaoudé, W., Di Stefano, B., Thomas-Chollier, M., Graf, T., y Thieffry, D. (2017). Logical modeling of lymphoid and myeloid cell specification and transdifferentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(23):5792–5799.
- Comte, A., Roux, J., y Robinson-Rechavi, M. (2010). Molecular signaling in zebrafish development and the vertebrate phylotypic period. *Evolution & Development*, 12(2):144–156.
- Corominas-Murtra, B., Goñi, J., Solé, R. V., y Rodríguez-Caso, C. (2013). On the origins of hierarchy in complex networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(33):13316–13321.
- Cosentino Lagomarsino, M., Jona, P., Bassetti, B., y Isambert, H. (2007). Hierarchy and feedback in the evolution of the Escherichia coli transcription network. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(13):5516–5520.
- Daniels, B. C., Kim, H., Moore, D., Zhou, S., Smith, H. B., Karas, B., Kauffman, S. A., y Walker, S. I. (2018). Criticality Distinguishes the Ensemble of Biological Regulatory Networks. *Physical Review Letters*, 121(13):138102.
- Davidson, E. H. (2010). Emerging properties of animal gene regulatory networks. *Nature*, 468(7326):911–920.
- Davidson, E. H. y Erwin, D. H. (2006). Gene regulatory networks and the evolution of animal body plans. *Science*, 311(5762):796–800.
- Davidson, E. H. y Levine, M. S. (2008). Properties of developmental gene regulatory networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(51):20063–20066.
- Davidson, E. H., McClay, D. R., y Hood, L. (2003). Regulatory gene networks and the properties of the developmental process. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(4):1475–1480.
- Davidson, E. H. y Peter, I. S. (2015). *Genomic Control Process: Development and Evolution*. Academic Press.

- Davidson, E. H., Rast, J. P., Oliveri, P., Ransick, A., Calestani, C., Yuh, C.-H., Minokawa, T., Amore, G., Hinman, V., Arenas-Mena, C., Otim, O., Brown, C. T., Livi, C. B., Lee, P. Y., Revilla, R., Rust, A. G., Jun Pan, Z., Schilstra, M. J., Clarke, P. J. C., Arnone, M. I., Rowen, L., Cameron, R. A., McClay, D. R., Hood, L., y Bolouri, H. (2002). A genomic regulatory network for development. *Science*, 295(5560):1669–1678.
- Davis, T. L. y Rebay, I. (2017). Master regulators in development: Views from the *Drosophila* retinal determination and mammalian pluripotency gene networks. *Developmental Biology*, 421(2):93–107.
- De Caluwé, J., Tosenberger, A., Gonze, D., y Dupont, G. (2019). Signalling-modulated gene regulatory networks in early mammalian development. *Journal of Theoretical Biology*, 463:56–66.
- de Mendoza, A., Sebé-Pedrós, A., y Ruiz-Trillo, I. (2014). The Evolution of the GPCR Signaling System in Eukaryotes: Modularity, Conservation, and the Transition to Metazoan Multicellularity. *Genome Biology and Evolution*, 6(3):606–619.
- De Mot, L., Gonze, D., Bessonnard, S., Chazaud, C., Goldbeter, A., y Dupont, G. (2016). Cell Fate Specification Based on Tristability in the Inner Cell Mass of Mouse Blastocysts. *Biophysical Journal*, 110(3):710–722.
- Demongeot, J., Kaufman, M., y Thomas, R. (2000). Positive feedback circuits and memory. *Comptes rendus de l'Académie des sciences. Serie III, Sciences de la vie*, 323(1):69–79.
- DiFrisco, J. y Jaeger, J. (2021). Homology of process: Developmental dynamics in comparative biology. *Interface Focus*, 11(3):20210007.
- DiFrisco, J. y Priya, R. (2025). The interplay of tissue mechanics and gene regulatory networks in the evolution of morphogenesis. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 175:103654.
- Dixon, J. R., Jung, I., Selvaraj, S., Shen, Y., Antosiewicz-Bourget, J. E., Lee, A. Y., Ye, Z., Kim, A., Rajagopal, N., Xie, W., Diao, Y., Liang, J., Zhao, H., Lobanenko, V. V., Ecker, J. R., Thomson, J. A., y Ren, B. (2015). Chromatin architecture reorganization during stem cell differentiation. *Nature*, 518(7539):331–336.
- Domínguez-Hüttinger, E., Flores-Garza, E., Caldú-Primo, J. L., Day, H., Roque Ramírez, A., y Tanaka, R. J. (2025). History-dependent switch-like differentiation of keratinocytes in response to skin barrier damage. *PLOS Computational Biology*, 21(6):e1013162.
- Doncic, A., Atay, O., Valk, E., Grande, A., Bush, A., Vasen, G., Colman-Lerner, A., Loog, M., y Skotheim, J. M. (2015). Compartmentalization of a bistable switch enables memory to cross a feedback-driven transition. *Cell*, 160(6):1182–1195.
- Du, P. y Wu, J. (2024). Hallmarks of totipotent and pluripotent stem cell states. *Cell Stem Cell*, 31(3):312–333.
- Dubrova, E. y Teslenko, M. (2011). A SAT-based algorithm for finding attractors in synchronous Boolean networks. *IEEE/ACM transactions on computational biology and bioinformatics*, 8(5):1393–1399.
- Ellson, J., Gansner, E. R., Koutsofios, E., North, S. C., y Woodhull, G. (2004). Graphviz and Dynagraph — Static and Dynamic Graph Drawing Tools. En Jünger, M. y Mutzel, P., editores, *Graph Drawing Software*, páginas 127–148. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Elsaid, R., Yang, J., y Cumano, A. (2019). The influence of space and time on the establishment of B cell identity. *Biomedical Journal*, 42(4):209–217.
- Enver, T., Pera, M., Peterson, C., y Andrews, P. W. (2009). Stem Cell States, Fates, and the Rules of Attraction. *Cell Stem Cell*, 4(5):387–397.
- Erdős, P. y Rényi, A. (1959). On random graphs. *Publicationes Mathematicae Debrecen*.

- Erkenbrack, E. M. y Thompson, J. R. (2019). Cell type phylogenetics informs the evolutionary origin of echinoderm larval skeletogenic cell identity. *Communications Biology*, 2(1):160.
- Erwin, D. H. (2015). Eric Davidson (1937–2015). *Current Biology*, 25(20):R968–R969.
- Erwin, D. H. y Davidson, E. H. (2009). The evolution of hierarchical gene regulatory networks. *Nature Reviews. Genetics*, 10(2):141–148.
- Espinosa-Soto, C. (2018). On the role of sparseness in the evolution of modularity in gene regulatory networks. *PLOS Computational Biology*, 14(5):e1006172.
- Espinosa-Soto, C. (2025). Plasticity as a Sign of Developmental Bias in the Evolution of Gene Regulatory Networks. *Evolution & Development*, 27(2):e70007.
- Espinosa-Soto, C., Hernández, U., y Posadas-García, Y. S. (2021). Recombination facilitates genetic assimilation of new traits in gene regulatory networks. *Evolution & Development*, 23(5):459–473.
- Espinosa-Soto, C., Padilla-Longoria, P., y Alvarez-Buylla, E. R. (2004). A gene regulatory network model for cell-fate determination during *Arabidopsis thaliana* flower development that is robust and recovers experimental gene expression profiles. *The Plant Cell*, 16(11):2923–2939.
- Espinosa-Soto, C. y Wagner, A. (2010). Specialization can drive the evolution of modularity. *PLoS computational biology*, 6(3):e1000719.
- Fauré, A., Vreede, B. M. I., Sucena, , y Chaouiya, C. (2014). A Discrete Model of *Drosophila* Eggshell Patterning Reveals Cell-Autonomous and Juxtacrine Effects. *PLoS Computational Biology*, 10(3):e1003527.
- Fei, L., Chen, H., Ma, L., E, W., Wang, R., Fang, X., Zhou, Z., Sun, H., Wang, J., Jiang, M., Wang, X., Yu, C., Mei, Y., Jia, D., Zhang, T., Han, X., y Guo, G. (2022). Systematic identification of cell-fate regulatory programs using a single-cell atlas of mouse development. *Nature Genetics*, 54(7):1051–1061.
- Ferretti, E. y Hadjantonakis, A.-K. (2019). Mesoderm specification and diversification: From single cells to emergent tissues. *Current Opinion in Cell Biology*, 61:110–116.
- Feuda, R. y Peter, I. S. (2022). Homologous gene regulatory networks control development of apical organs and brains in Bilateria. *Science Advances*, 8(44):eabo2416.
- Fierst, J. L. (2011). A history of phenotypic plasticity accelerates adaptation to a new environment. *Journal of Evolutionary Biology*, 24(9):1992–2001.
- Fink, T. M. A. (2022). Regulatory motifs: structural and functional building blocks of genetic computation. arXiv:2208.14996 [q-bio.MN].
- Fisher, A. G. (2002). Cellular identity and lineage choice. *Nature Reviews Immunology*, 2(12):977–982.
- Floc'hlay, S., Molina, M. D., Hernandez, C., Hailot, E., Thomas-Chollier, M., Lepage, T., y Thieffry, D. (2020). Deciphering and modelling the TGF- signalling interplays specifying the dorsal-ventral axis of the sea urchin embryo. *Development*, página dev.189944.
- Fogelman-Soulie, F., Goles-Chacc, E., y Weisbuch, G. (1982). Specific roles of the different Boolean mappings in random networks. *Bulletin of Mathematical Biology*, 44(5):715–730.
- Foster, J. G., Foster, D. V., Grassberger, P., y Paczuski, M. (2010). Edge direction and the structure of networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(24):10815–10820.
- Fuller, M. T. (2016). Differentiation in Stem Cell Lineages and in Life: Explorations in the Male Germ Line Stem Cell Lineage. *Current Topics in Developmental Biology*, 116:375–390.
- Furlong, E. E. (2010). The importance of being specified: Cell fate decisions and their role in cell biology. *Molecular Biology of the Cell*, 21(22):3797–3798.

- Galis, F. y Metz, J. A. (2001). Testing the vulnerability of the phylotypic stage: On modularity and evolutionary conservation. *The Journal of Experimental Zoology*, 291(2):195–204.
- Gao, Y., Pichugin, Y., Traulsen, A., y Zapién-Campos, R. (2025). Evolution of irreversible differentiation under stage-dependent cell differentiation. *Scientific Reports*, 15(1):7786.
- García-Bellido, A. y Ripoll, P. (1978). Cell lineage and differentiation in *Drosophila*. *Results and Problems in Cell Differentiation*, 9:119–156.
- García-Gómez, M. L., Ornelas-Ayala, D., Garay-Arroyo, A., García-Ponce, B., Sánchez, M. D. L. P., y Álvarez Buylla, E. R. (2020). A system-level mechanistic explanation for asymmetric stem cell fates: *Arabidopsis thaliana* root niche as a study system. *Scientific Reports*, 10(1):3525.
- Garg, A., Di Cara, A., Xenarios, I., Mendoza, L., y De Micheli, G. (2008). Synchronous versus asynchronous modeling of gene regulatory networks. *Bioinformatics*, 24(17):1917–1925.
- Gates, A. J., Brattig Correia, R., Wang, X., y Rocha, L. M. (2021). The effective graph reveals redundancy, canalization, and control pathways in biochemical regulation and signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(12):e2022598118.
- Gergen, J. P. (1987). *Drosophila* segmentation genes and blastoderm cell identities. *BioEssays*, 6(2):61–66.
- Gershenson, C. (2011). Complexity at large. *Complexity*, 17(1):1–4.
- Gershenson, C., Kauffman, S. A., y Shmulevich, I. (2006). The Role of Redundancy in the Robustness of Random Boolean Networks.
- Giacomantonio, C. E. y Goodhill, G. J. (2010). A Boolean model of the gene regulatory network underlying Mammalian cortical area development. *PLoS computational biology*, 6(9):e1000936.
- González, A., Chaouiya, C., y Thieffry, D. (2006). Dynamical Analysis of the Regulatory Network Defining the Dorsal–Ventral Boundary of the *Drosophila* Wing Imaginal Disc. *Genetics*, 174(3):1625–1634.
- Gordon, R. y Gordon, N. K. (2019). The differentiation code. *Biosystems*, 184:104013.
- Gould, S. J. (1977). *Ontogeny and Phylogeny*. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Mass.
- Gould, S. J. y Lloyd, E. A. (1999). Individuality and adaptation across levels of selection: How shall we name and generalize the unit of Darwinism? *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(21):11904–11909.
- Graf, T. y Enver, T. (2009). Forcing cells to change lineages. *Nature*, 462(7273):587–594.
- Grieb, M., Burkovski, A., Sträng, J. E., Kraus, J. M., Groß, A., Palm, G., Kühn, M., y Kestler, H. A. (2015). Predicting Variabilities in Cardiac Gene Expression with a Boolean Network Incorporating Uncertainty. *PLOS ONE*, 10(7):e0131832.
- Grocott, T., Tambalo, M., y Streit, A. (2012). The peripheral sensory nervous system in the vertebrate head: a gene regulatory perspective. *Developmental Biology*, 370(1):3–23.
- Gross, J. L., Yellen, J., y Anderson, M. (2018). *Graph Theory and Its Applications*. CRC Press.
- Guan, G., Li, Z., Ma, Y., Ye, P., Cao, J., Wong, M.-K., Ho, V. W. S., Chan, L.-Y., Yan, H., Tang, C., y Zhao, Z. (2025). Cell lineage-resolved embryonic morphological map reveals signaling associated with cell fate and size asymmetry. *Nature Communications*, 16(1):3700.
- Guantes, R. y Poyatos, J. F. (2008). Multistable decision switches for flexible control of epigenetic differentiation. *PLoS computational biology*, 4(11):e1000235.

- Guillot, P. V., Cui, W., Fisk, N. M., y Polak, D. J. (2007). Stem cell differentiation and expansion for clinical applications of tissue engineering. *Journal of cellular and molecular medicine*, 11(5):935–944.
- Guilmeau, T., Chouzenoux, E., y Elvira, V. (2021). Simulated Annealing: A Review and a New Scheme. En *2021 IEEE Statistical Signal Processing Workshop (SSP)*, páginas 101–105.
- Gupta, P. B., Fillmore, C. M., Jiang, G., Shapira, S. D., Tao, K., Kuperwasser, C., y Lander, E. S. (2011). Stochastic state transitions give rise to phenotypic equilibrium in populations of cancer cells. *Cell*, 146(4):633–644.
- Gurdon, J. B. (1988). A community effect in animal development. *Nature*, 336(6201):772–774.
- Hammarlund, E. U., Flashman, E., Mohlin, S., y Licausi, F. (2020). Oxygen-sensing mechanisms across eukaryotic kingdoms and their roles in complex multicellularity. *Science*, 370(6515):eaba3512.
- Han, Z., Vondriska, T. M., Yang, L., Robb MacLellan, W., Weiss, J. N., y Qu, Z. (2007). Signal transduction network motifs and biological memory. *Journal of Theoretical Biology*, 246(4):755–761.
- Harding, K., Rushlow, C., Doyle, H. J., Hoey, T., y Levine, M. (1986). Cross-regulatory interactions among pair-rule genes in *Drosophila*. *Science*, 233(4767):953–959.
- Harold, F. M. (2005). Molecules into cells: Specifying spatial architecture. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*, 69(4):544–564.
- Harris, S. L. y Levine, A. J. (2005). The p53 pathway: Positive and negative feedback loops. *Oncogene*, 24(17):2899–2908.
- Hartmann, A., Ravichandran, S., y Del Sol, A. (2019). Modeling Cellular Differentiation and Reprogramming with Gene Regulatory Networks. *Methods in Molecular Biology*, 1975:37–51.
- Helikar, T., Kowal, B., McClenathan, S., Bruckner, M., Rowley, T., Madrahimov, A., Wicks, B., Shrestha, M., Limbu, K., y Rogers, J. A. (2012). The Cell Collective: Toward an open and collaborative approach to systems biology. *BMC Systems Biology*, 6:96.
- Hemberger, M., Dean, W., y Reik, W. (2009). Epigenetic dynamics of stem cells and cell lineage commitment: Digging Waddington’s canal. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 10(8):526–537.
- Herberg, M. y Roeder, I. (2015). Computational modelling of embryonic stem-cell fate control. *Development*, 142(13):2250–2260.
- Hernández, U., Posadas-Vidales, L., y Espinosa-Soto, C. (2022). On the effects of the modularity of gene regulatory networks on phenotypic variability and its association with robustness. *Bio Systems*, 212:104586.
- Hernández-Magaña, A., Bensussen, A., Martínez-García, J. C., y Álvarez Buylla, E. R. (2024). A Boolean model explains phenotypic plasticity changes underlying hepatic cancer stem cells emergence. *npj Systems Biology and Applications*, 10(1):99.
- Herrera, J., Bensussen, A., García-Gómez, M. L., Garay-Arroyo, A., y Álvarez Buylla, E. R. (2024). A system-level model reveals that transcriptional stochasticity is required for hematopoietic stem cell differentiation. *npj Systems Biology and Applications*, 10(1):145.
- Herrmann, F., Groß, A., Zhou, D., Kestler, H. A., y Kühl, M. (2012). A boolean model of the cardiac gene regulatory network determining first and second heart field identity. *PloS One*, 7(10):e46798.
- Herskowitz, I. (1989). A regulatory hierarchy for cell specialization in yeast. *Nature*, 342(6251):749–757.
- Hood, L. y Rothenberg, E. V. (2015). Developmental biologist Eric H. Davidson, 1937–2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(44):13423–13425.

- Hoppe, P. S., Schwarzfischer, M., Loeffler, D., Kokkaliaris, K. D., Hilsenbeck, O., Moritz, N., Endeke, M., Filipczyk, A., Gambardella, A., Ahmed, N., Etzrodt, M., Coutu, D. L., Rieger, M. A., Marr, C., Strasser, M. K., Schauburger, B., Burtscher, I., Ermakova, O., Bürger, A., Lickert, H., Nerlov, C., Theis, F. J., y Schroeder, T. (2016). Early myeloid lineage choice is not initiated by random PU.1 to GATA1 protein ratios. *Nature*, 535(7611):299–302.
- Horvitz, H. R. y Sulston, J. E. (1980). Isolation and Genetic Characterization of Cell-Lineage Mutants of the Nematode CAENORHABDITIS ELEGANS. *Genetics*, 96(2):435–454.
- Howard-Ashby, M., Materna, S. C., Brown, C. T., Tu, Q., Oliveri, P., Cameron, R. A., y Davidson, E. H. (2006). High regulatory gene use in sea urchin embryogenesis: Implications for bilaterian development and evolution. *Developmental Biology*, 300(1):27–34.
- Hu, X., Eastman, A. E., y Guo, S. (2019). Cell cycle dynamics in the reprogramming of cellular identity. *FEBS letters*, 593(20):2840–2852.
- Huang, S. (2012). The molecular and mathematical basis of Waddington’s epigenetic landscape: A framework for post-Darwinian biology? *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, 34(2):149–157.
- Huang, S. (2022). Towards a unification of the 2 meanings of “epigenetics”. *PLOS Biology*, 20(12):e3001944.
- Huang, S., Eichler, G., Bar-Yam, Y., y Ingber, D. E. (2005). Cell fates as high-dimensional attractor states of a complex gene regulatory network. *Physical Review Letters*, 94(12):128701.
- Huang, S., Guo, Y.-P., May, G., y Enver, T. (2007). Bifurcation dynamics in lineage-commitment in bipotent progenitor cells. *Developmental Biology*, 305(2):695–713.
- Huang, S. y Ingber, D. E. (2000). Shape-dependent control of cell growth, differentiation, and apoptosis: Switching between attractors in cell regulatory networks. *Experimental Cell Research*, 261(1):91–103.
- Hérault, L., Poplineau, M., Duprez, E., y Remy, (2023). A novel Boolean network inference strategy to model early hematopoiesis aging. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 21:21–33.
- Imai, K. S., Stolfi, A., Levine, M., y Satou, Y. (2009). Gene regulatory networks underlying the compartmentalization of the Ciona central nervous system. *Development*, 136(2):285–293.
- Irie, N. y Kuratani, S. (2011). Comparative transcriptome analysis reveals vertebrate phylotypic period during organogenesis. *Nature Communications*, 2(1):248.
- Isaacs, F. J., Hastly, J., Cantor, C. R., y Collins, J. J. (2003). Prediction and measurement of an autoregulatory genetic module. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(13):7714–7719.
- Iwasaki, H. y Akashi, K. (2007). Myeloid lineage commitment from the hematopoietic stem cell. *Immunity*, 26(6):726–740.
- Jacob, F. y Monod, J. (1961). Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *Journal of Molecular Biology*, 3:318–356.
- Jaeger, J. (2011). The gap gene network. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 68(2):243–274.
- Jarrah, A. S., Raposa, B., y Laubenbacher, R. (2007). Nested Canalizing, Unate Cascade, and Polynomial Functions. *Physica D. Nonlinear Phenomena*, 233(2):167–174.
- Jeong, H., Tombor, B., Albert, R., Oltvai, Z. N., y Barabási, A.-L. (2000). The large-scale organization of metabolic networks. *Nature*, 407(6804):651–654.

- Jia, D., Jolly, M. K., Harrison, W., Boareto, M., Ben-Jacob, E., y Levine, H. (2017). Operating principles of tristable circuits regulating cellular differentiation. *Physical Biology*, 14(3):035007.
- Jiang, Y. y Hao, N. (2021). Memorizing environmental signals through feedback and feedforward loops. *Current Opinion in Cell Biology*, 69:96–102.
- Joung, J., Ma, S., Tay, T., Geiger-Schuller, K. R., Kirchgatterer, P. C., Verdine, V. K., Guo, B., Arias-Garcia, M. A., Allen, W. E., Singh, A., Kuksenko, O., Abudayyeh, O. O., Gootenberg, J. S., Fu, Z., Macrae, R. K., Buenrostro, J. D., Regev, A., y Zhang, F. (2023). A Transcription Factor Atlas of Directed Differentiation. *Cell*, 186(1):209–229.e26.
- Jukam, D., Xie, B., Rister, J., Terrell, D., Charlton-Perkins, M., Pistillo, D., Gebelein, B., Desplan, C., y Cook, T. (2013). Opposite feedbacks in the Hippo pathway for growth control and neural fate. *Science*, 342(6155):1238016.
- Kadelka, C. (2026). Canalization as a stabilizing principle of gene regulatory networks: A discrete dynamical systems perspective. *npj Systems Biology and Applications*, 12(1):30.
- Kadiyala, U., Sprinzak, D., Monk, N. A. M., Taylor, S. E., Verd, B., Sonnen, K. F., Moon, L., Roeder, A. H. K., Perez-Carrasco, R., y Formosa-Jordan, P. (2025). From genes to patterns: Five key dynamical systems concepts to decode developmental regulatory mechanisms. *Development*, 152(14):dev204617.
- Kalkan, T., Olova, N., Roode, M., Mulas, C., Lee, H. J., Nett, I., Marks, H., Walker, R., Stunnenberg, H. G., Lilley, K. S., Nichols, J., Reik, W., Bertone, P., y Smith, A. (2017). Tracking the embryonic stem cell transition from ground state pluripotency. *Development*, 144(7):1221–1234.
- Kaltdorf, M., Breitenbach, T., Karl, S., Fuchs, M., Kessie, D. K., Psota, E., Prelog, M., Sarukhanyan, E., Ebert, R., Jakob, F., Dandekar, G., Naseem, M., Liang, C., y Dandekar, T. (2023). Software JimenaE allows efficient dynamic simulations of Boolean networks, centrality and system state analysis. *Scientific Reports*, 13(1):1855.
- Karlebach, G. y Shamir, R. (2008). Modelling and analysis of gene regulatory networks. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 9(10):770–780.
- Kashtan, N. y Alon, U. (2005). Spontaneous evolution of modularity and network motifs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(39):13773–13778.
- Kauffman, S. (1969). Homeostasis and differentiation in random genetic control networks. *Nature*, 224(5215):177–178.
- Kauffman, S., Peterson, C., Samuelsson, B., y Troein, C. (2003). Random Boolean network models and the yeast transcriptional network. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(25):14796–14799.
- Kauffman, S. A. (1982). Filling Some Epistemological Gaps: New Patterns of Inference in Evolutionary Theory. *PSA: Proceedings of the Biennial Meeting of the Philosophy of Science Association*, 1982(2):292–313.
- Kauffman, S. A. (1991). Antichaos and Adaptation. *Scientific American*, 265(2):78–85.
- Kauffman, S. A. (1993). *The Origins of Order: Self-Organization and Selection in Evolution*. Oxford University Press, Oxford, New York.
- Kerkhofs, J., Roberts, S. J., Luyten, F. P., Van Oosterwyck, H., y Geris, L. (2012). Relating the Chondrocyte Gene Network to Growth Plate Morphology: From Genes to Phenotype. *PLoS ONE*, 7(4):e34729.
- Khanin, R. y Wit, E. (2006). How scale-free are biological networks. *Journal of Computational Biology: A Journal of Computational Molecular Cell Biology*, 13(3):810–818.

- Kim, J., Chu, J., Shen, X., Wang, J., y Orkin, S. H. (2008). An extended transcriptional network for pluripotency of embryonic stem cells. *Cell*, 132(6):1049–1061.
- Kirkeby, A., Main, H., y Carpenter, M. (2025). Pluripotent stem-cell-derived therapies in clinical trial: A 2025 update. *Cell Stem Cell*, 32(1):10–37.
- Kishi, Y. y Parker, J. (2021). Cell type innovation at the tips of the animal tree. *Current Opinion in Genetics & Development*, 69:112–121.
- Kitano, H. (2004). Biological robustness. *Nature Reviews Genetics*, 5(11):826–837.
- Klemm, K. y Bornholdt, S. (2005). Stable and unstable attractors in Boolean networks. *Physical Review E*, 72(5):055101.
- Kobayashi, K., Maeda, K., Tokuoka, M., Mochizuki, A., y Satou, Y. (2018). Controlling Cell Fate Specification System by Key Genes Determined from Network Structure. *iScience*, 4:281–293.
- Kondo, M., Wagers, A. J., Manz, M. G., Prohaska, S. S., Scherer, D. C., Beilhack, G. F., Shizuru, J. A., y Weissman, I. L. (2003). Biology of hematopoietic stem cells and progenitors: Implications for clinical application. *Annual Review of Immunology*, 21:759–806.
- Krumsiek, J., Marr, C., Schroeder, T., y Theis, F. J. (2011). Hierarchical Differentiation of Myeloid Progenitors Is Encoded in the Transcription Factor Network. *PLoS ONE*, 6(8):e22649.
- Kumar, A. y Verfaillie, C. (2012). Basic principles of multipotent stem cells. En *Progenitor and Stem Cell Technologies and Therapies*, páginas 100–117. Woodhead Publishing.
- La Rota, C., Chopard, J., Das, P., Paindavoine, S., Rozier, F., Farcot, E., Godin, C., Traas, J., y Monéger, F. (2011). A Data-Driven Integrative Model of Sepal Primordium Polarity in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 23(12):4318–4333.
- Lander, A. D. (2010). The edges of understanding. *BMC Biology*, 8(1):40.
- Larsson, J.-K., Wadströmer, N., Hermanson, O., Lendahl, U., y Forchheimer, R. (2011). Modelling cell lineage using a meta-Boolean tree model with a relation to gene regulatory networks. *Journal of Theoretical Biology*, 268(1):62–76.
- Laurenti, E. y Göttgens, B. (2018). From haematopoietic stem cells to complex differentiation landscapes. *Nature*, 553(7689):418–426.
- Lee, D.-H., Lee, E. C., Lee, J. Y., Lee, M. R., Shim, J.-w., y Oh, J. S. (2024). Neuronal Cell Differentiation of iPSCs for the Clinical Treatment of Neurological Diseases. *Biomedicines*, 12(6):1350.
- Lee, D.-S. y Rieger, H. (2008). Broad edge of chaos in strongly heterogeneous Boolean networks. *Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical*, 41(41):415001.
- Levine, M. y Davidson, E. H. (2005). Gene regulatory networks for development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(14):4936–4942.
- Li, C.-J., Liau, E. S., Lee, Y.-H., Huang, Y.-Z., Liu, Z., Willems, A., Garside, V., McGlinn, E., Chen, J.-A., y Hong, T. (2021). MicroRNA governs bistable cell differentiation and lineage segregation via a noncanonical feedback. *Molecular Systems Biology*, 17(4):e9945.
- Li, E. y Davidson, E. H. (2009). Building Developmental Gene Regulatory Networks. *Birth defects research. Part C, Embryo today : reviews*, 87(2):123–130.
- Liquitaya-Montiel, A. J. y Mendoza, L. (2018). Dynamical Analysis of the Regulatory Network Controlling Natural Killer Cells Differentiation. *Frontiers in Physiology*, 9:1029.
- Lohaus, R., Geard, N. L., Wiles, J., y Azevedo, R. B. R. (2007). A generative bias towards average complexity in artificial cell lineages. *Proceedings. Biological Sciences*, 274(1619):1741–1750.

- Longabaugh, W. J. R. (2012). BioTapestry: A tool to visualize the dynamic properties of gene regulatory networks. *Methods in Molecular Biology*, 786:359–394.
- Loomis, W. F. (2015). Genetic control of morphogenesis in Dictyostelium. *Developmental Biology*, 402(2):146–161.
- López-Díaz, A. J., Sánchez-Puig, F., y Gershenson, C. (2023). Temporal, Structural, and Functional Heterogeneities Extend Criticality and Antifragility in Random Boolean Networks. *Entropy*, 25(2):254.
- Lovrics, A., Gao, Y., Juhász, B., Bock, I., Byrne, H. M., Dinnyés, A., y Kovács, K. A. (2014). Boolean Modelling Reveals New Regulatory Connections between Transcription Factors Orchestrating the Development of the Ventral Spinal Cord. *PLoS ONE*, 9(11):e111430.
- Lynch, J. F. (2002). Critical points for random Boolean networks. *Physica D: Nonlinear Phenomena*, 172(1):49–64.
- MacArthur, B. D., Sánchez-García, R. J., y Anderson, J. W. (2008). Symmetry in complex networks. *Discrete Applied Mathematics*, 156(18):3525–3531.
- Mahla, R. S. (2016). Stem Cells Applications in Regenerative Medicine and Disease Therapeutics. *International Journal of Cell Biology*, 2016:6940283.
- Malik, V. y Wang, J. (2022). Pursuing totipotency: Authentic totipotent stem cells in culture. *Trends in Genetics*, 38(7):632–636.
- Mani, S. y Tlustý, T. (2021). A comprehensive survey of developmental programs reveals a dearth of tree-like lineage graphs and ubiquitous regeneration. *BMC Biology*, 19(1):111.
- Mani, S. A., Guo, W., Liao, M.-J., Eaton, E. N., Ayyanan, A., Zhou, A. Y., Brooks, M., Reinhard, F., Zhang, C. C., Shipitsin, M., Campbell, L. L., Polyak, K., Brisken, C., Yang, J., y Weinberg, R. A. (2008). The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell*, 133(4):704–715.
- Mao, S., Zhang, C., Chen, R., Tang, S., Fan, X., y Hu, J. (2025). Cell lineage tracing: Methods, applications, and challenges. *Quantitative Biology*, 13(4):e70006.
- Mar, J. C. y Quackenbush, J. (2009). Decomposition of Gene Expression State Space Trajectories. *PLOS Computational Biology*, 5(12):e1000626.
- Marques-Pita, M. y Rocha, L. M. (2013). Canalization and control in automata networks: Body segmentation in *Drosophila melanogaster*. *PLoS One*, 8(3):e55946.
- Márquez-Zacarías, P., Pineau, R. M., Gomez, M., Veliz-Cuba, A., Murrugarra, D., Ratcliff, W. C., y Niklas, K. J. (2021). Evolution of Cellular Differentiation: From Hypotheses to Models. *Trends in Ecology & Evolution*, 36(1):49–60.
- Marrone, J. I., Sepulchre, J.-A., y Ventura, A. C. (2023). A nested bistable module within a negative feedback loop ensures different types of oscillations in signaling systems. *Scientific Reports*, 13(1):529.
- Martin, O. C. y Wagner, A. (2009). Effects of Recombination on Complex Regulatory Circuits. *Genetics*, 183(2):673–684.
- Martinez Arias, A., Baker, N. E., y Ingham, P. W. (1988). Role of segment polarity genes in the definition and maintenance of cell states in the *Drosophila* embryo. *Development (Cambridge, England)*, 103(1):157–170.
- Martinez-Sanchez, M. E., Mendoza, L., Villarreal, C., y Alvarez-Buylla, E. R. (2015). A Minimal Regulatory Network of Extrinsic and Intrinsic Factors Recovers Observed Patterns of CD4+ T Cell Differentiation and Plasticity. *PLoS computational biology*, 11(6):e1004324.

- Martínez-Sosa, P. y Mendoza, L. (2013). The regulatory network that controls the differentiation of T lymphocytes. *Bio Systems*, 113(2):96–103.
- Masel, J. (2004). Genetic assimilation can occur in the absence of selection for the assimilating phenotype, suggesting a role for the canalization heuristic. *Journal of Evolutionary Biology*, 17(5):1106–1110.
- Massri, A. J., McDonald, B., Wray, G. A., y McClay, D. R. (2023). Feedback circuits are numerous in embryonic gene regulatory networks and offer a stabilizing influence on evolution of those networks. *EvoDevo*, 14(1):10.
- Materna, S. C. y Davidson, E. H. (2007). Logic of gene regulatory networks. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(4):351–354.
- Mbodj, A., Gustafson, E. H., Ciglar, L., Junion, G., Gonzalez, A., Girardot, C., Perrin, L., Furlong, E. E. M., y Thieffry, D. (2016). Qualitative Dynamical Modelling Can Formally Explain Mesoderm Specification and Predict Novel Developmental Phenotypes. *PLOS Computational Biology*, 12(9):e1005073.
- McShea, Daniel. W. (2001). The hierarchical structure of organisms: A scale and documentation of a trend in the maximum. *Paleobiology*, 27(2):405–423.
- Mendoza, L. y Méndez, A. (2015). A dynamical model of the regulatory network controlling lymphopoiesis. *Biosystems*, 137:26–33.
- Mendoza, L. y Xenarios, I. (2006). A method for the generation of standardized qualitative dynamical systems of regulatory networks. *Theoretical Biology & Medical Modelling*, 3:13.
- Mengistu, H., Huizinga, J., Mouret, J.-B., y Clune, J. (2016). The Evolutionary Origins of Hierarchy. *PLoS computational biology*, 12(6):e1004829.
- Meraz-Segura, F. (2026). *¿Cómo afectan las propiedades de las redes de regulación genética a las propiedades de las redes de diferenciación?* Tesis en proceso, Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Meraz-Segura, F., Guerrero-Vaca, C., Alcaraz-Barrera, R., y Espinosa-Soto, C. (2026). Regulatory connection patterns define progression and diversification in cell differentiation.
- Michod, R. E. (2007). Evolution of individuality during the transition from unicellular to multicellular life. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(suppl_1):8613–8618.
- Milo, R., Shen-Orr, S., Itzkovitz, S., Kashtan, N., Chklovskii, D., y Alon, U. (2002). Network motifs: Simple building blocks of complex networks. *Science*, 298(5594):824–827.
- Mochizuki, A. (2023). Controlling complex dynamical systems based on the structure of the networks. *Biophysics and Physicobiology*, 20(2):e200019.
- Moignard, V., Woodhouse, S., Haghverdi, L., Lilly, A. J., Tanaka, Y., Wilkinson, A. C., Buettner, F., Macaulay, I. C., Jawaid, W., Diamanti, E., Nishikawa, S.-I., Piterman, N., Kouskoff, V., Theis, F. J., Fisher, J., y Göttgens, B. (2015). Decoding the regulatory network of early blood development from single-cell gene expression measurements. *Nature Biotechnology*, 33(3):269–276.
- Mones, E., Vicsek, L., y Vicsek, T. (2012). Hierarchy measure for complex networks. *PloS One*, 7(3):e33799.
- Montagna, S., Braccini, M., y Roli, A. (2021). The Impact of Self-Loops on Boolean Networks Attractor Landscape and Implications for Cell Differentiation Modelling. *IEEE/ACM transactions on computational biology and bioinformatics*, 18(6):2702–2713.
- Morris, S. A. (2019). Cell identity reprogrammed. *Nature*, 575(7781):44–45.

- Moy, A. B., Kamath, A., Ternes, S., y Kamath, J. (2023). The Challenges to Advancing Induced Pluripotent Stem Cell-Dependent Cell Replacement Therapy. *Medical research archives*, 11(11):4784.
- Moya-Cuevas, J., Ortiz-Gutiérrez, E., López-Sánchez, P., Simón-Moya, M., Ballester, P., Álvarez Buylla, E. R., y Ferrándiz, C. (2024). A Model for the Gene Regulatory Network Along the Arabidopsis Fruit Medio-Lateral Axis: Rewiring the Pod Shatter Process. *Plants*, 13(20):2927.
- Müssel, C., Hopfensitz, M., y Kestler, H. A. (2010). BoolNet—an R package for generation, reconstruction and analysis of Boolean networks. *Bioinformatics*, 26(10):1378–1380.
- Méndez, A. y Mendoza, L. (2016). A Network Model to Describe the Terminal Differentiation of B Cells. *PLoS Computational Biology*, 12(1):e1004696.
- Nagata, S. y Kikuchi, M. (2020). Emergence of cooperative bistability and robustness of gene regulatory networks. *PLoS Computational Biology*, 16(6):e1007969.
- Nakamura, Y. T., Himeoka, Y., Saito, N., y Furusawa, C. (2024). Evolution of hierarchy and irreversibility in theoretical cell differentiation model.
- Naldi, A. (2018). BioLQM: A Java Toolkit for the Manipulation and Conversion of Logical Qualitative Models of Biological Networks. *Frontiers in Physiology*, 9:1605.
- Naldi, A., Carneiro, J., Chaouiya, C., y Thieffry, D. (2010). Diversity and Plasticity of Th Cell Types Predicted from Regulatory Network Modelling. *PLoS Computational Biology*, 6(9):e1000912.
- Naldi, A., Monteiro, P. T., Müssel, C., the Consortium for Logical Models and Tools, Kestler, H. A., Thieffry, D., Xenarios, I., Saez-Rodriguez, J., Helikar, T., y Chaouiya, C. (2015). Cooperative development of logical modelling standards and tools with CoLoMoTo. *Bioinformatics*, 31(7):1154–1159.
- Narad, P., Anand, L., Gupta, R., y Sengupta, A. (2018). Construction of Discrete Model of Human Pluripotency in Predicting Lineage-Specific Outcomes and Targeted Knockdowns of Essential Genes. *Scientific Reports*, 8(1):11031.
- Nerlov, C. y Graf, T. (1998). PU.1 induces myeloid lineage commitment in multipotent hematopoietic progenitors. *Genes & Development*, 12(15):2403–2412.
- Newman, M. (2018). *Networks*. Oxford University Press, Oxford, New York, second edition, new to this edition.:, second edition, new to this edition:^a edición.
- Newman, M. E. J. (2002). Assortative Mixing in Networks. *Physical Review Letters*, 89(20):208701.
- Newman, S. A. (2020). Cell differentiation: What have we learned in 50 years? *Journal of Theoretical Biology*, 485:110031.
- Nguyen, L. K. (2012). Regulation of oscillation dynamics in biochemical systems with dual negative feedback loops. *Journal of The Royal Society Interface*, 9(73):1998–2010.
- Nijhout, H. F. (2025). Genetic assimilation, robustness and plasticity are key processes in the development and evolution of novel traits. *Developmental Biology*, 523:132–138.
- Nijhout, H. F., Best, J. A., y Reed, M. C. (2015). Using mathematical models to understand metabolism, genes, and disease. *BMC biology*, 13:79.
- Nishida, H. y Stach, T. (2014). Cell lineages and fate maps in tunicates: Conservation and modification. *Zoological Science*, 31(10):645–652.
- Niwa, H., Toyooka, Y., Shimosato, D., Strumpf, D., Takahashi, K., Yagi, R., y Rossant, J. (2005). Interaction between Oct3/4 and Cdx2 determines trophoblast differentiation. *Cell*, 123(5):917–929.

- Noble, D. (2015). Conrad Waddington and the origin of epigenetics. *Journal of Experimental Biology*, 218(6):816–818.
- Norrell, J., Samuelsson, B., y Socolar, J. E. S. (2007). Attractors in continuous and Boolean networks. *Physical Review. E, Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, 76(4 Pt 2):046122.
- Notta, F., Zandi, S., Takayama, N., Dobson, S., Gan, O. I., Wilson, G., Kaufmann, K. B., McLeod, J., Laurenti, E., Dunant, C. F., McPherson, J. D., Stein, L. D., Dror, Y., y Dick, J. E. (2016). Distinct routes of lineage development reshape the human blood hierarchy across ontogeny. *Science*, 351(6269):aab2116.
- Nuñez-Reza, K. J., Naldi, A., Sánchez-Jiménez, A., Leon-Apodaca, A. V., Santana, M. A., Thomas-Chollier, M., Thieffry, D., y Medina-Rivera, A. (2021). Logical modelling of in vitro differentiation of human monocytes into dendritic cells unravels novel transcriptional regulatory interactions.
- Nykter, M., Price, N. D., Aldana, M., Ramsey, S. A., Kauffman, S. A., Hood, L. E., Yli-Harja, O., y Shmulevich, I. (2008). Gene expression dynamics in the macrophage exhibit criticality. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(6):1897–1900.
- Offermann, B., Knauer, S., Singh, A., Fernández-Cachón, M. L., Klose, M., Kowar, S., Busch, H., y Boerries, M. (2016). Boolean Modeling Reveals the Necessity of Transcriptional Regulation for Bistability in PC12 Cell Differentiation. *Frontiers in Genetics*, 7.
- Ogino, H., Ochi, H., Reza, H. M., y Yasuda, K. (2012). Transcription factors involved in lens development from the preplacodal ectoderm. *Developmental Biology*, 363(2):333–347.
- Orkin, S. H. y Zon, L. I. (2008). Hematopoiesis: An evolving paradigm for stem cell biology. *Cell*, 132(4):631–644.
- Ortiz-Gutiérrez, E., García-Cruz, K., Azpeitia, E., Castillo, A., Sánchez, M. d. l. P., y Álvarez-Buylla, E. R. (2015). A Dynamic Gene Regulatory Network Model That Recovers the Cyclic Behavior of Arabidopsis thaliana Cell Cycle. *PLoS computational biology*, 11(9):e1004486.
- Ostuni, R. y Natoli, G. (2013a). Lineages, cell types and functional states: A genomic view. *Current Opinion in Cell Biology*, 25(6):759–764.
- Ostuni, R. y Natoli, G. (2013b). Lineages, cell types and functional states: A genomic view. *Current Opinion in Cell Biology*, 25(6):759–764.
- Pal, R., Datta, A., Bittner, M. L., y Dougherty, E. R. (2005). Intervention in context-sensitive probabilistic Boolean networks. *Bioinformatics*, 21(7):1211–1218.
- Palii, C. G., Cheng, Q., Gillespie, M. A., Shannon, P., Mazurczyk, M., Napolitani, G., Price, N. D., Ranish, J. A., Morrissey, E., Higgs, D. R., y Brand, M. (2019). Single-Cell Proteomics Reveal that Quantitative Changes in Co-expressed Lineage-Specific Transcription Factors Determine Cell Fate. *Cell Stem Cell*, 24(5):812–820.e5.
- Palma, A., Jarrah, A. S., Tieri, P., Cesareni, G., y Castiglione, F. (2018). Gene Regulatory Network Modeling of Macrophage Differentiation Corroborates the Continuum Hypothesis of Polarization States. *Frontiers in Physiology*, 9:1659.
- Pancier, T., Azzolin, L., Fujimura, A., Di Biagio, D., Frasson, C., Bresolin, S., Soligo, S., Basso, G., Bicciato, S., Rosato, A., Cordenonsi, M., y Piccolo, S. (2016). Induction of Expandable Tissue-Specific Stem/Progenitor Cells through Transient Expression of YAP/TAZ. *Cell Stem Cell*, 19(6):725–737.
- Papadodonakis, S., Kioukis, A., Karageorgiou, C., y Pavlidis, P. (2024). Evolution of gene regulatory networks by means of selection and random genetic drift. *PeerJ*, 12:e17918.
- Park, K. H., Costa, F. X., Rocha, L. M., Albert, R., y Rozum, J. C. (2023). Models of Cell Processes are Far from the Edge of Chaos. *PRX Life*, 1(2):023009.

- Park, S.-M., Shin, S.-Y., y Cho, K.-H. (2016). A Regulated Double-Negative Feedback Decodes the Temporal Gradient of Input Stimulation in a Cell Signaling Network. *PLoS ONE*, 11(9):e0162153.
- Parker, J. (2024). Organ Evolution: Emergence of Multicellular Function. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 40(1):51–74.
- Parmer, T., Rocha, L. M., y Radicchi, F. (2022). Influence maximization in Boolean networks. *Nature Communications*, 13(1):3457.
- Pastva, S., Šafránek, D., Beneš, N., Brim, L., y Henzinger, T. (2023). Repository of logically consistent real-world Boolean network models.
- Paul, R., Dorsey, J. F., y Fan, Y. (2022). Cell plasticity, senescence, and quiescence in cancer stem cells: Biological and therapeutic implications. *Pharmacology & Therapeutics*, 231:107985.
- Payne, J. L. y Wagner, A. (2015). Function does not follow form in gene regulatory circuits. *Scientific Reports*, 5(1):13015.
- Pechenick, D. A., Moore, J. H., y Payne, J. L. (2013). The influence of assortativity on the robustness and evolvability of gene regulatory networks upon gene birth. *Journal of Theoretical Biology*, 330:26–36.
- Peter, I. S. y Davidson, E. H. (2011). Evolution of gene regulatory networks controlling body plan development. *Cell*, 144(6):970–985.
- Peter, I. S. y Davidson, E. H. (2017). Assessing regulatory information in developmental gene regulatory networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(23):5862–5869.
- Peter, I. S., Faure, E., y Davidson, E. H. (2012). Predictive computation of genomic logic processing functions in embryonic development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(41):16434–16442.
- Pezzotta, A. y Briscoe, J. (2023). Optimal control of gene regulatory networks for morphogen-driven tissue patterning. *Cell Systems*, 14(11):940–952.e11.
- Piasecka, B., Lichoeki, P., Moretti, S., Bergmann, S., y Robinson-Rechavi, M. (2013). The Hour-glass and the Early Conservation Models—Co-Existing Patterns of Developmental Constraints in Vertebrates. *PLOS Genetics*, 9(4):e1003476.
- Pina, C., Fugazza, C., Tipping, A. J., Brown, J., Soneji, S., Teles, J., Peterson, C., y Enver, T. (2012). Inferring rules of lineage commitment in haematopoiesis. *Nature Cell Biology*, 14(3):287–294.
- Piraveenan, M., Prokopenko, M., y Zomaya, A. (2012). Assortative mixing in directed biological networks. *IEEE/ACM transactions on computational biology and bioinformatics*, 9(1):66–78.
- Piscaglia, A.-C. (2008). Stem cells, a two-edged sword: Risks and potentials of regenerative medicine. *World Journal of Gastroenterology*, 14(27):4273–4279.
- Pisco, A. O., d’Hérouël, A. F., y Huang, S. (2016). Conceptual Confusion: The case of Epigenetics.
- Pomerance, A., Ott, E., Girvan, M., y Losert, W. (2009). The effect of network topology on the stability of discrete state models of genetic control. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(20):8209–8214.
- Pomerening, J. R., Kim, S. Y., y Ferrell, J. E. (2005). Systems-level dissection of the cell-cycle oscillator: Bypassing positive feedback produces damped oscillations. *Cell*, 122(4):565–578.
- Posadas-García, Y. S. y Espinosa-Soto, C. (2022). Early effects of gene duplication on the robustness and phenotypic variability of gene regulatory networks. *BMC bioinformatics*, 23(1):509.
- Ptashne, M. (2013). Epigenetics: Core misconception. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(18):7101–7103.

- R Core Team (2024). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rabinowitz, A. H. y Vokes, S. A. (2012). Integration of the transcriptional networks regulating limb morphogenesis. *Developmental Biology*, 368(2):165–180.
- Ramírez, C. y Mendoza, L. (2018). Phenotypic stability and plasticity in GMP-derived cells as determined by their underlying regulatory network. *Bioinformatics*, 34(7):1174–1182.
- Raser, J. M. y O’Shea, E. K. (2005). Noise in gene expression: Origins, consequences, and control. *Science*, 309(5743):2010–2013.
- Rashid, M. y Hegade, A. (2025). Operating principles of interconnected feedback loops driving cell fate transitions. *npj Systems Biology and Applications*, 11(1):2.
- Rasmussen, N. (1987). A new model of developmental constraints as applied to the Drosophila system. *Journal of Theoretical Biology*, 127(3):271–299.
- Rhodes, J., Hagen, A., Hsu, K., Deng, M., Liu, T. X., Look, A. T., y Kanki, J. P. (2005). Interplay of pu.1 and gata1 determines myelo-erythroid progenitor cell fate in zebrafish. *Developmental Cell*, 8(1):97–108.
- Riba, A., Oravec, A., Durik, M., Jiménez, S., Alunni, V., Cerciat, M., Jung, M., Keime, C., Keyes, W. M., y Molina, N. (2022). Cell cycle gene regulation dynamics revealed by RNA velocity and deep-learning. *Nature Communications*, 13:2865.
- Ribeiro, A. S. y Kauffman, S. A. (2007). Noisy attractors and ergodic sets in models of gene regulatory networks. *Journal of Theoretical Biology*, 247(4):743–755.
- Richtsmeier, J. T. (2018). A century of development. *American Journal of Physical Anthropology*, 165(4):726–740.
- Ristevski, B. (2012). Inference of Gene Regulatory Networks by Integrating Prior Knowledge. En Hofestädt, R. y Kolchanov, N., editores, *Medizinischen Informatik Und Bioinformatik*, páginas 36–39. Shaker Verlag GmbH, Germany.
- Riveiro, A. R. y Brickman, J. M. (2020). From pluripotency to totipotency: An experimentalist’s guide to cellular potency. *Development*, 147(16):dev189845.
- Roli, A., Braccini, M., y Alma Mater Studiorum Università di Bologna (2018). Attractor Landscape: A Bridge between Robotics and Synthetic Biology. *Complex Systems*, 27(3):229–248.
- Romito, A. y Cobellis, G. (2016). Pluripotent Stem Cells: Current Understanding and Future Directions. *Stem Cells International*, 2016(1):9451492.
- Ros-Rocher, N., Pérez-Posada, A., Leger, M. M., y Ruiz-Trillo, I. (2021). The origin of animals: An ancestral reconstruction of the unicellular-to-multicellular transition. *Open Biology*, 11(2):200359.
- Rothenberg, E. V. (2016). Eric Davidson: Steps to a gene regulatory network for development. *Developmental Biology*, 412(2 Suppl):S7–19.
- Roy, S. y Kundu, T. K. (2014). Gene regulatory networks and epigenetic modifications in cell differentiation. *IUBMB life*, 66(2):100–109.
- Rutenbar, R. A. (1989). Simulated annealing algorithms: An overview. *IEEE Circuits and Devices Magazine*, 5(1):19–26.
- Ríos, O., Frias, S., Rodríguez, A., Kofman, S., Merchant, H., Torres, L., y Mendoza, L. (2015). A Boolean network model of human gonadal sex determination. *Theoretical Biology and Medical Modelling*, 12(1):26.

- Saadatpour, A., Albert, I., y Albert, R. (2010). Attractor analysis of asynchronous Boolean models of signal transduction networks. *Journal of Theoretical Biology*, 266(4):641–656.
- Saadatpour, A. y Albert, R. (2013). Boolean modeling of biological regulatory networks: A methodology tutorial. *Methods*, 62(1):3–12.
- Sabrin, K. M. y Dovrolis, C. (2018). The Hourglass Effect in Hierarchical Dependency Networks.
- Salazar-Ciudad, I. (2007). On the origins of morphological variation, canalization, robustness, and evolvability. *Integrative and Comparative Biology*, 47(3):390–400.
- Salazar-Ciudad, I. y Cano-Fernández, H. (2023). Evo-devo beyond development: Generalizing evo-devo to all levels of the phenotypic evolution. *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, 45(3):e2200205.
- Sanchez, L., Chaouiya, C., y Thieffry, D. (2008). Segmenting the fly embryo: logical analysis of the role of the Segment Polarity cross-regulatory module. *The International Journal of Developmental Biology*, 52(8):1059–1075.
- Sánchez, L. y Thieffry, D. (2001). A logical analysis of the Drosophila gap-gene system. *Journal of Theoretical Biology*, 211(2):115–141.
- Sánchez, L. y Thieffry, D. (2003). Segmenting the fly embryo: A logical analysis of the pair-rule cross-regulatory module. *Journal of Theoretical Biology*, 224(4):517–537.
- Sánchez-Puig, F., Zapata, O., Pineda, O. K., Iñiguez, G., y Gershenson, C. (2023). Heterogeneity extends criticality. *Frontiers in Complex Systems*, 1:1111486.
- Sandler, J. E. y Stathopoulos, A. (2016). Stepwise Progression of Embryonic Patterning. *Trends in genetics: TIG*, 32(7):432–443.
- Schiebinger, G., Shu, J., Tabaka, M., Cleary, B., Subramanian, V., Solomon, A., Gould, J., Liu, S., Lin, S., Berube, P., Lee, L., Chen, J., Brumbaugh, J., Rigollet, P., Hochedlinger, K., Jaenisch, R., Regev, A., y Lander, E. S. (2019). Optimal-Transport Analysis of Single-Cell Gene Expression Identifies Developmental Trajectories in Reprogramming. *Cell*, 176(4):928–943.e22.
- Schöler, H. R. (2007). The Potential of Stem Cells: An Inventory. En *Humanbiotechnology as Social Challenge*. Routledge.
- Schroeder, M. D., Pearce, M., Fak, J., Fan, H., Unnerstall, U., Emberly, E., Rajewsky, N., Siggia, E. D., y Gaul, U. (2004). Transcriptional Control in the Segmentation Gene Network of Drosophila. *PLOS Biology*, 2(9):e271.
- Schröter, C., Rué, P., Mackenzie, J. P., y Martinez Arias, A. (2015). FGF/MAPK signaling sets the switching threshold of a bistable circuit controlling cell fate decisions in embryonic stem cells. *Development*, 142(24):4205–4216.
- Schwab, J. D., Kühlwein, S. D., Ikonomi, N., Köhl, M., y Kestler, H. A. (2020). Concepts in Boolean network modeling: What do they all mean? *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18:571–582.
- Scott, RE., Ghule, PN., Stein, JL., y Stein, GS. (2015). Cell cycle gene expression networks discovered using systems biology: Significance in carcinogenesis. *Journal of cellular physiology*, 230(10):2533–2542.
- Seo, C. H., Kim, J.-R., Kim, M.-S., y Cho, K.-H. (2009). Hub genes with positive feedbacks function as master switches in developmental gene regulatory networks. *Bioinformatics*, 25(15):1898–1904.

- Sepp, M., Leiss, K., Murat, F., Okonechnikov, K., Joshi, P., Leushkin, E., Spänig, L., Mbengue, N., Schneider, C., Schmidt, J., Trost, N., Schauer, M., Khaitovich, P., Lisgo, S., Palkovits, M., Giere, P., Kutscher, L. M., Anders, S., Cardoso-Moreira, M., Sarropoulos, I., Pfister, S. M., y Kaessmann, H. (2024). Cellular development and evolution of the mammalian cerebellum. *Nature*, 625(7996):788–796.
- Serra, R., Villani, M., Barbieri, A., Kauffman, S. A., y Colacci, A. (2010a). On the dynamics of random Boolean networks subject to noise: Attractors, ergodic sets and cell types. *Journal of Theoretical Biology*, 265(2):185–193.
- Serra, R., Villani, M., Barbieri, A., Kauffman, S. A., y Colacci, A. (2010b). On the dynamics of random Boolean networks subject to noise: Attractors, ergodic sets and cell types. *Journal of Theoretical Biology*, 265(2):185–193.
- Servedio, M. R., Brandvain, Y., Dhole, S., Fitzpatrick, C. L., Goldberg, E. E., Stern, C. A., Van Cleve, J., y Yeh, D. J. (2014). Not Just a Theory—The Utility of Mathematical Models in Evolutionary Biology. *PLoS Biology*, 12(12):e1002017.
- Sevlever, F., Waisman, A., Miriuka, S., y Ventura, A. C. (2025). Persistent memory in network topologies following temporary stimuli. *iScience*, 28(11):113765.
- Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B., y Ideker, T. (2003). Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks. *Genome Research*, 13(11):2498–2504.
- Shapiro, E. (2018). On the journey from nematode to human, scientists dive by the zebrafish cell lineage tree. *Genome Biology*, 19(1):63.
- Shellard, A. y Mayor, R. (2019). Integrating chemical and mechanical signals in neural crest cell migration. *Current Opinion in Genetics & Development*, 57:16–24.
- Shmulevich, I., Dougherty, E. R., Kim, S., y Zhang, W. (2002). Probabilistic Boolean networks: A rule-based uncertainty model for gene regulatory networks. *Bioinformatics*, 18(2):261–274.
- Shmulevich, I., Kauffman, S. A., y Aldana, M. (2005). Eukaryotic cells are dynamically ordered or critical but not chaotic. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(38):13439–13444.
- Shu, J., Wu, C., Wu, Y., Li, Z., Shao, S., Zhao, W., Tang, X., Yang, H., Shen, L., Zuo, X., Yang, W., Shi, Y., Chi, X., Zhang, H., Gao, G., Shu, Y., Yuan, K., He, W., Tang, C., Zhao, Y., y Deng, H. (2013). Induction of pluripotency in mouse somatic cells with lineage specifiers. *Cell*, 153(5):963–975.
- Siebert, H. y Bockmayr, A. (2008). Temporal constraints in the logical analysis of regulatory networks. *Theoretical Computer Science*, 391(3):258–275.
- Siersbæk, R., Nielsen, R., y Mandrup, S. (2012). Transcriptional networks and chromatin remodeling controlling adipogenesis. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 23(2):56–64.
- Singh, V. K., Saini, A., Kalsan, M., Kumar, N., y Chandra, R. (2016). Describing the Stem Cell Potency: The Various Methods of Functional Assessment and In silico Diagnostics. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 4:134.
- Sinha, S., Jones, B. M., Traniello, I. M., Bukhari, S. A., Halfon, M. S., Hofmann, H. A., Huang, S., Katz, P. S., Keagy, J., Lynch, V. J., Sokolowski, M. B., Stubbs, L. J., Tabe-Bordbar, S., Wolfner, M. F., y Robinson, G. E. (2020). Behavior-related gene regulatory networks: A new level of organization in the brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(38):23270–23279.
- Skok, J. A., Brown, K. E., Azuara, V., Caparros, M. L., Baxter, J., Takacs, K., Dillon, N., Gray, D., Perry, R. P., Merckenschlager, M., y Fisher, A. G. (2001). Nonequivalent nuclear location of immunoglobulin alleles in B lymphocytes. *Nature Immunology*, 2(9):848–854.

- Slack, J. M. W. (2013). *Essential Developmental Biology*. Wiley-Blackwell, 3rd^a edición.
- Smith, A. (2006). A glossary for stem-cell biology. *Nature*, 441(7097):1060–1060.
- Smith, Z. D., Nachman, I., Regev, A., y Meissner, A. (2010). Dynamic single-cell imaging of direct reprogramming reveals an early specifying event. *Nature Biotechnology*, 28(5):521–526.
- Snoussi, E. H. (1998). Necessary Conditions for Multistationarity and Stable Periodicity. *Journal of Biological Systems*, 06(01):3–9.
- Sobhani, A., Khanlarkhani, N., Baazm, M., Mohammadzadeh, F., Najafi, A., Mehdinejadi, S., y Sargolzaei Aval, F. (2017). Multipotent Stem Cell and Current Application. *Acta Medica Iranica*, 55(1):6–23.
- Socolar, J. E. S. y Kauffman, S. A. (2003). Scaling in ordered and critical random boolean networks. *Physical Review Letters*, 90(6):068702.
- Solé, R. V. y Valverde, S. (2004). Information Theory of Complex Networks: On Evolution and Architectural Constraints. En Ben-Naim, E., Frauenfelder, H., y Toroczkai, Z., editores, *Complex Networks*, páginas 189–207. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Sorrells, T. R. y Johnson, A. D. (2015). Making sense of transcription networks. *Cell*, 161(4):714–723.
- Soulé, C. (2006). Mathematical approaches to differentiation and gene regulation. *Comptes Rendus Biologies*, 329(1):13–20.
- Soyer, O. S. y Creevey, C. J. (2010). Duplicate retention in signalling proteins and constraints from network dynamics. *Journal of Evolutionary Biology*, 23(11):2410–2421.
- Spanjaard, B., Hu, B., Mitic, N., Olivares-Chauvet, P., Janjuha, S., Ninov, N., y Junker, J. P. (2018). Simultaneous lineage tracing and cell-type identification using CRISPR–Cas9-induced genetic scars. *Nature Biotechnology*, 36(5):469–473.
- Spirov, A. V., Sabirov, M. A., y Holloway, D. M. (2018). Systems Evolutionary Biology of Waddington’s Canalization and Genetic Assimilation. En *Evolutionary Physiology and Biochemistry - Advances and Perspectives*. IntechOpen.
- Stone, L., Simberloff, D., y Artzy-Randrup, Y. (2019). Network motifs and their origins. *PLoS computational biology*, 15(4):e1006749.
- Strasser, M. K., Hoppe, P. S., Loeffler, D., Kokkaliaris, K. D., Schroeder, T., Theis, F. J., y Marr, C. (2018). Lineage marker synchrony in hematopoietic genealogies refutes the PU.1/GATA1 toggle switch paradigm. *Nature Communications*, 9(1):2697.
- Subbaroyan, A., Martin, O. C., y Samal, A. (2022). Minimum complexity drives regulatory logic in Boolean models of living systems. *PNAS Nexus*, 1(1):pgac017.
- Subbaroyan, A., Sil, P., Martin, O. C., y Samal, A. (2023). Leveraging developmental landscapes for model selection in Boolean gene regulatory networks. *Briefings in Bioinformatics*, 24(3):bbad160.
- Sulston, J. E., Schierenberg, E., White, J. G., y Thomson, J. N. (1983). The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Developmental Biology*, 100(1):64–119.
- Suzuki, S. y Kimura, H. (2011). Oscillatory dynamics in the coevolution of cooperation and mobility. *Journal of Theoretical Biology*, 287:42–47.
- Swalla, B. J. (2006). Building divergent body plans with similar genetic pathways. *Heredity*, 97(3):235–243.
- Sánchez, L. y Chaouiya, C. (2016). Primary sex determination of placental mammals: a modelling study uncovers dynamical developmental constraints in the formation of Sertoli and granulosa cells. *BMC Systems Biology*, 10(1):37.

- Sánchez, L. y Chaouiya, C. (2018). Logical modelling uncovers developmental constraints for primary sex determination of chicken gonads. *Journal of The Royal Society Interface*, 15(142):20180165.
- Takahashi, K. y Yamanaka, S. (2006). Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*, 126(4):663–676.
- Tan, M., Alhajj, R., y Polat, F. (2010). Scalable approach for effective control of gene regulatory networks. *Artificial Intelligence in Medicine*, 48(1):51–59.
- Tang, J., Yang, X., Ma, J., y Jia, Y. (2009). Noise effect on persistence of memory in a positive-feedback gene regulatory circuit. *Physical Review. E, Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, 80(1 Pt 1):011907.
- Teleman, A. A., Strigini, M., y Cohen, S. M. (2001). Shaping morphogen gradients. *Cell*, 105(5):559–562.
- Teschendorff, A. E. y Enver, T. (2017). Single-cell entropy for accurate estimation of differentiation potency from a cell’s transcriptome. *Nature Communications*, 8:15599.
- The Inkscape Project (2023). Inkscape. Computer Software.
- Thomas, R. (1981). On the Relation Between the Logical Structure of Systems and Their Ability to Generate Multiple Steady States or Sustained Oscillations. En Della Dora, J., Demongeot, J., y Lacolle, B., editores, *Numerical Methods in the Study of Critical Phenomena*, páginas 180–193, Berlin, Heidelberg. Springer.
- Thomas, R. y Kaufman, M. (2001). Multistationarity, the basis of cell differentiation and memory. I. Structural conditions of multistationarity and other nontrivial behavior. *Chaos*, 11(1):170–179.
- Torres-Sosa, C., Huang, S., y Aldana, M. (2012). Criticality is an emergent property of genetic networks that exhibit evolvability. *PLoS computational biology*, 8(9):e1002669.
- Tripathi, S., Kessler, D. A., y Levine, H. (2023). Minimal frustration underlies the usefulness of incomplete regulatory network models in biology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 120(1):e2216109120.
- Trott, J., Hayashi, K., Surani, A., Babu, M. M., y Martinez-Arias, A. (2012). Dissecting ensemble networks in ES cell populations reveals micro-heterogeneity underlying pluripotency. *Molecular bioSystems*, 8(3):744–752.
- Truskowski, K., Amend, S. R., y Pienta, K. J. (2023). Dormant cancer cells: Programmed quiescence, senescence, or both? *Cancer Metastasis Reviews*, 42(1):37–47.
- Tsuda, M. E. y Kawata, M. (2010). Evolution of Gene Regulatory Networks by Fluctuating Selection and Intrinsic Constraints. *PLoS Computational Biology*, 6(8):e1000873.
- Tyler, A. L., Asselbergs, F. W., Williams, S. M., y Moore, J. H. (2009). Shadows of complexity: What biological networks reveal about epistasis and pleiotropy. *BioEssays*, 31(2):220–227.
- Tyson, J. J., Chen, K. C., y Novak, B. (2003). Sniffers, buzzers, toggles and blinkers: Dynamics of regulatory and signaling pathways in the cell. *Current Opinion in Cell Biology*, 15(2):221–231.
- Tümpel, S., Wiedemann, L. M., y Krumlauf, R. (2009). Hox genes and segmentation of the vertebrate hindbrain. *Current Topics in Developmental Biology*, 88:103–137.
- Uller, T., Moczek, A. P., Watson, R. A., Brakefield, P. M., y Laland, K. N. (2018). Developmental Bias and Evolution: A Regulatory Network Perspective. *Genetics*, 209(4):949–966.
- Valverde, S., Ohse, S., Turalska, M., West, B. J., y Garcia-Ojalvo, J. (2015). Structural determinants of criticality in biological networks. *Frontiers in Physiology*, 6.

- Vierbuchen, T. y Wernig, M. (2011). Direct lineage conversions: Unnatural but useful? *Nature Biotechnology*, 29(10):892–907.
- Visvader, J. E., Elefanty, A. G., Strasser, A., y Adams, J. M. (1992). GATA-1 but not SCL induces megakaryocytic differentiation in an early myeloid line. *The EMBO Journal*, 11(12):4557–4564.
- Vokes, S. A., Ji, H., McCuine, S., Tenzen, T., Giles, S., Zhong, S., Longabaugh, W. J. R., Davidson, E. H., Wong, W. H., y McMahon, A. P. (2007). Genomic characterization of Gli-activator targets in sonic hedgehog-mediated neural patterning. *Development*, 134(10):1977–1989.
- Voulgarakis, N. K. (2024). Hierarchical Symmetry-Breaking Model for Stem Cell Differentiation. *Mathematics*, 12(9):1380.
- Waddington, C. H. (1942). Canalization of Development and the Inheritance of Acquired Characters. *Nature*, 150(3811):563–565.
- Waddington, C. H. (1953). Genetic assimilation of an acquired character. *Evolution*, 7(2):118–126.
- Waddington, C. H. (1957). *The Strategy Of The Genes*. George Allen Unwin.
- Wagner, A. (1994). Evolution of gene networks by gene duplications: A mathematical model and its implications on genome organization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(10):4387–4391.
- Wagner, D. E. y Klein, A. M. (2020). Lineage tracing meets single-cell omics: Opportunities and challenges. *Nature Reviews Genetics*, 21(7):410–427.
- Wagner, G. P. (1996). Homologues, Natural Kinds and the Evolution of Modularity. *American Zoologist*, 36(1):36–43.
- Wagner, G. P. (2014). *Homology, Genes, and Evolutionary Innovation*. Princeton ; Oxford : Princeton University Press.
- Wang, J., Xu, L., Wang, E., y Huang, S. (2010). The Potential Landscape of Genetic Circuits Imposes the Arrow of Time in Stem Cell Differentiation. *Biophysical Journal*, 99(1):29–39.
- Wang, M., Wang, J., Zhang, X., y Yuan, R. (2021). The complex landscape of haematopoietic lineage commitments is encoded in the coarse-grained endogenous network. *Royal Society Open Science*, 8(11):211289.
- Wang, Y. (2019). Review of Wagner’s Artificial Gene Regulatory Networks Model and its Applications for Understanding Complex Biological Systems. *COJ Robotics & Artificial Intelligence*, 1(1).
- Watson, E., MacNeil, L. T., Arda, H. E., Zhu, L. J., y Walhout, A. J. M. (2013). Integration of metabolic and gene regulatory networks modulates the *C. elegans* dietary response. *Cell*, 153(1):253–266.
- Weinreb, C., Rodriguez-Fraticelli, A., Camargo, F. D., y Klein, A. M. (2020). Lineage tracing on transcriptional landscapes links state to fate during differentiation. *Science*, 367(6479):eaaw3381.
- Weinstein, N., Mendoza, L., Gitler, I., y Klapp, J. (2017). A Network Model to Explore the Effect of the Micro-environment on Endothelial Cell Behavior during Angiogenesis. *Frontiers in Physiology*, 8:960.
- Weinstein, N., Mendoza, L., y Álvarez Buylla, E. R. (2020). A Computational Model of the Endothelial to Mesenchymal Transition. *Frontiers in Genetics*, 11:40.
- Weinstein, N., Ortiz-Gutiérrez, E., Muñoz, S., Rosenblueth, D. A., Álvarez Buylla, E. R., y Mendoza, L. (2015). A model of the regulatory network involved in the control of the cell cycle and cell differentiation in the *Caenorhabditis elegans* vulva. *BMC Bioinformatics*, 16(1):81.

- Wickham, H., Averick, M., Bryan, J., Chang, W., McGowan, L. D., François, R., Golemund, G., Hayes, A., Henry, L., Hester, J., Kuhn, M., Pedersen, T. L., Miller, E., Bache, S. M., Müller, K., Ooms, J., Robinson, D., Seidel, D. P., Spinu, V., Takahashi, K., Vaughan, D., Wilke, C., Woo, K., y Yutani, H. (2019). Welcome to the tidyverse. *Journal of Open Source Software*, 4(43):1686.
- Williams, R. R. E., Broad, S., Sheer, D., y Ragoussis, J. (2002). Subchromosomal positioning of the epidermal differentiation complex (EDC) in keratinocyte and lymphoblast interphase nuclei. *Experimental Cell Research*, 272(2):163–175.
- Wooten, D. J., Zañudo, J. G. T., Murrugarra, D., Perry, A. M., Dongari-Bagtzoglou, A., Laubenbacher, R., Nobile, C. J., y Albert, R. (2021). Mathematical modeling of the *Candida albicans* yeast to hyphal transition reveals novel control strategies. *PLoS Computational Biology*, 17(3):e1008690.
- Wu, F., Yin, G., y Tian, T. (2014). Gene regulatory networks driven by intrinsic noise with two-time scales: A stochastic averaging approach. *Frontiers of Mathematics in China*, 9(4):947–963.
- Wu, J. (2011). Regulating cell differentiation at different layers. *Journal of Molecular Cell Biology*, 3(6):319.
- Wu, M., Su, R.-Q., Li, X., Ellis, T., Lai, Y.-C., y Wang, X. (2013). Engineering of regulated stochastic cell fate determination. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(26):10610–10615.
- Wuensche, A. (1998). Genomic regulation modeled as a network with basins of attraction. *Pacific Symposium on Biocomputing. Pacific Symposium on Biocomputing*, páginas 89–102.
- Wuensche, A. (2002). Basins of attraction in network dynamics: A conceptual framework for biomolecular networks. *Santa Fe Institute Working Paper*.
- Xiong, W. y Ferrell, J. E. (2003). A positive-feedback-based bistable ‘memory module’ that governs a cell fate decision. *Nature*, 426(6965):460–465.
- Yachie-Kinoshita, A., Onishi, K., Ostblom, J., Langley, M. A., Posfai, E., Rossant, J., y Zandstra, P. W. (2018). Modeling signaling-dependent pluripotency with Boolean logic to predict cell fate transitions. *Molecular Systems Biology*, 14(1):MSB177952.
- Yamanaka, S. (2008). Induction of pluripotent stem cells from mouse fibroblasts by four transcription factors. *Cell Proliferation*, 41 Suppl 1(Suppl 1):51–56.
- Yang, J., Antin, P., Berx, G., Blanpain, C., Brabletz, T., Bronner, M., Campbell, K., Cano, A., Casanova, J., Christofori, G., Dedhar, S., Derynck, R., Ford, H. L., Fuxe, J., García de Herreros, A., Goodall, G. J., Hadjantonakis, A.-K., Huang, R. Y. J., Kalcheim, C., Kalluri, R., Kang, Y., Khew-Goodall, Y., Levine, H., Liu, J., Longmore, G. D., Mani, S. A., Massagué, J., Mayor, R., McClay, D., Mostov, K. E., Newgreen, D. F., Nieto, M. A., Puisieux, A., Runyan, R., Savagner, P., Stanger, B., Stemmler, M. P., Takahashi, Y., Takeichi, M., Theveneau, E., Thiery, J. P., Thompson, E. W., Weinberg, R. A., Williams, E. D., Xing, J., Zhou, B. P., Sheng, G., y EMT International Association (TEMTIA) (2020). Guidelines and definitions for research on epithelial-mesenchymal transition. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 21(6):341–352.
- Yang, X., Lin, X., Zhong, X., Kaur, S., Li, N., Liang, S., Lassus, H., Wang, L., Katsaros, D., Montone, K., Zhao, X., Zhang, Y., Bützow, R., Coukos, G., y Zhang, L. (2010). Double-Negative Feedback Loop between Reprogramming Factor LIN28 and microRNA let-7 Regulates Aldehyde Dehydrogenase 1–Positive Cancer Stem Cells. *Tumor and Stem Cell Biology*.
- Yao, Y., Ma, C., Deng, H., Liu, Q., Cao, W., Gui, R., Feng, T., y Yi, M. (2017). Dynamics and robustness of the cardiac progenitor cell induced pluripotent stem cell network during cell phenotypes transition. *IET Systems Biology*, 11(1):1–7.
- Yates, A., Callard, R., y Stark, J. (2004). Combining cytokine signalling with T-bet and GATA-3 regulation in Th1 and Th2 differentiation: A model for cellular decision-making. *Journal of Theoretical Biology*, 231(2):181–196.

- Ye, Y., Kang, X., Bailey, J., Li, C., y Hong, T. (2019). An enriched network motif family regulates multistep cell fate transitions with restricted reversibility. *PLoS Computational Biology*, 15(3):e1006855.
- Yi, S. V. (2024). Epigenetics Research in Evolutionary Biology: Perspectives on Timescales and Mechanisms. *Molecular Biology and Evolution*, 41(9):msae170.
- Young, M. W. y Kay, S. A. (2001). Time zones: A comparative genetics of circadian clocks. *Nature Reviews. Genetics*, 2(9):702–715.
- Yuste, M., Piñeyro-Nelson, A., y Azpeitia, E. (2024). A gene regulatory network model that recovers the abaxial-adaxial polarity in *Arabidopsis thaliana* leaf primordium. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 12:1330827.
- Zeng, H. (2022). What is a cell type and how to define it? *Cell*, 185(15):2739–2755.
- Zhang, S., Zhao, J., Lv, X., Fan, J., Lu, Y., Zeng, T., Wu, H., Chen, L., y Zhao, Y. (2020). Analysis on gene modular network reveals morphogen-directed development robustness in *Drosophila*. *Cell Discovery*, 6(1):43.
- Zhao, J., Perkins, M. L., Norstad, M., y Garcia, H. G. (2023a). A bistable autoregulatory module in the developing embryo commits cells to binary expression fates. *Current Biology*, 33(14):2851–2864.e11.
- Zhao, T., Zhu, G., Dubey, H. V., y Flaherty, P. (2023b). Identification of significant gene expression changes in multiple perturbation experiments using knockoffs. *Briefings in Bioinformatics*, 24(2):bbad084.
- Zhou, J. X., Bruschi, L., y Huang, S. (2011). Predicting pancreas cell fate decisions and reprogramming with a hierarchical multi-attractor model. *PLoS One*, 6(3):e14752.
- Zhou, J. X. y Huang, S. (2011). Understanding gene circuits at cell-fate branch points for rational cell reprogramming. *Trends in genetics: TIG*, 27(2):55–62.
- Zhou, J. X., Samal, A., d’Hérouël, A. F., Price, N. D., y Huang, S. (2016). Relative stability of network states in Boolean network models of gene regulation in development. *Biosystems*, 142-143:15–24.
- Zunder, E. R., Lujan, E., Goltsev, Y., Wernig, M., y Nolan, G. P. (2015). A continuous molecular roadmap to iPSC reprogramming through progression analysis of single-cell mass cytometry. *Cell Stem Cell*, 16(3):323–337.
- Álvarez Buylla, E. R., Castillo-Jiménez, A., Arroyo, A. G., Sánchez, M. D. L. P., García-Ponce, B., y Martínez-García, J. C. (2024). Gene Regulatory Network topology mediates the role of diffusible components in cellular patterns: the root epidermis of *Arabidopsis thaliana* as a study system.

7. Apéndice

7.1. Las redes de diferenciación celular exhiben una estructura jerárquica

Modelo dinámico	G	A	CFC(\mathcal{D})	$\mathbf{u}(\mathcal{D}) = (T, F, O)$	Categoría (\mathcal{D})
Células Th (Mendoza y Xenarios, 2006)	23	3	3	(1, 1, 1)	3a
Células B (Méndez y Mendoza, 2016)	22	4	1	(0, 0, 0)	1a
Células CD4 (Martínez-Sánchez <i>et al.</i> , 2015)	18	13	1	(0, 0, 0)	1a
Células GMP (Ramírez y Mendoza, 2018)	29	21	5	(0.05, 0.29, 0.05)	3b
Células asesinas naturales (Liquitaya-Montiel y Mendoza, 2018)	38	7	1	(0, 0, 0)	1a
Linfocitos T (Martínez-Sosa y Mendoza, 2013)	50	9	7	(0.2, 0.93, 0.666)	3b
Linfopoyesis (Mendoza y Méndez, 2015)	81	12	8	(0.16, 0.65, 0.5)	3b
Decisión mieloide/linfoide (Collombet <i>et al.</i> , 2017)	23	4	1	(0, 0, 0)	1a
Macrófagos (Palma <i>et al.</i> , 2018)	30	5	5	(0.35, 1, 1)	3b
Determinación floral (Espinosa-Soto <i>et al.</i> , 2004)	15	10	2	(0, 0.2, 0)	2b
Células meristemáticas (Azpeitia <i>et al.</i> , 2013)	11	9	4	(0, 0.45, 0.22)	3c
Determinación cardiogénica (Herrmann <i>et al.</i> , 2012)	15	3	2	(0, 0.666, 0.333)	2b
Desarrollo de vulva (Weinstein <i>et al.</i> , 2015)	14	8	1	(0, 0, 0)	1a
Determinación sexual (Ríos <i>et al.</i> , 2015)	19	3	3	(1, 1, 1)	3a
Segmentación corporal (Marques-Pita y Rocha, 2013)	18	4	2	(0, 0.5, 0.25)	2a
Hematopoyesis (Herrera <i>et al.</i> , 2024)	21	13	4	(-0.33, 1, 1)	3d
Células PC12 (Offermann <i>et al.</i> , 2016)	30	1	1	(0, 0, 0)	1b
Células pancreáticas (Zhou <i>et al.</i> , 2016)	5	3	3	(-1, 1, 1)	3d
Queratinocitos (Domínguez-Hüttinger <i>et al.</i> , 2025)	11	10	2	(0, 0.666, 0.333)	2a
Hepatocitos (Hernández-Magaña <i>et al.</i> , 2024)	23	4	4	(0, 1, 1)	3c
Polaridad disco imaginal (Zhang <i>et al.</i> , 2020)	12	3	3	(0, 1, 1)	3c
Condrocitos (Kerkhofs <i>et al.</i> , 2012)	35	3	1	(0, 0, 0)	1a

Cuadro 1: Datos del análisis estructural de las redes de diferenciación celular. G: genes; A: atractores; $CFC(\mathcal{D})$: componentes fuertemente conexos; $\mathbf{u}(\mathcal{D}) = (T, F, O)$: coordenada en el morfoespacio jerárquico; Categoría (\mathcal{D}): categoría a la que fue asignada el modelo.

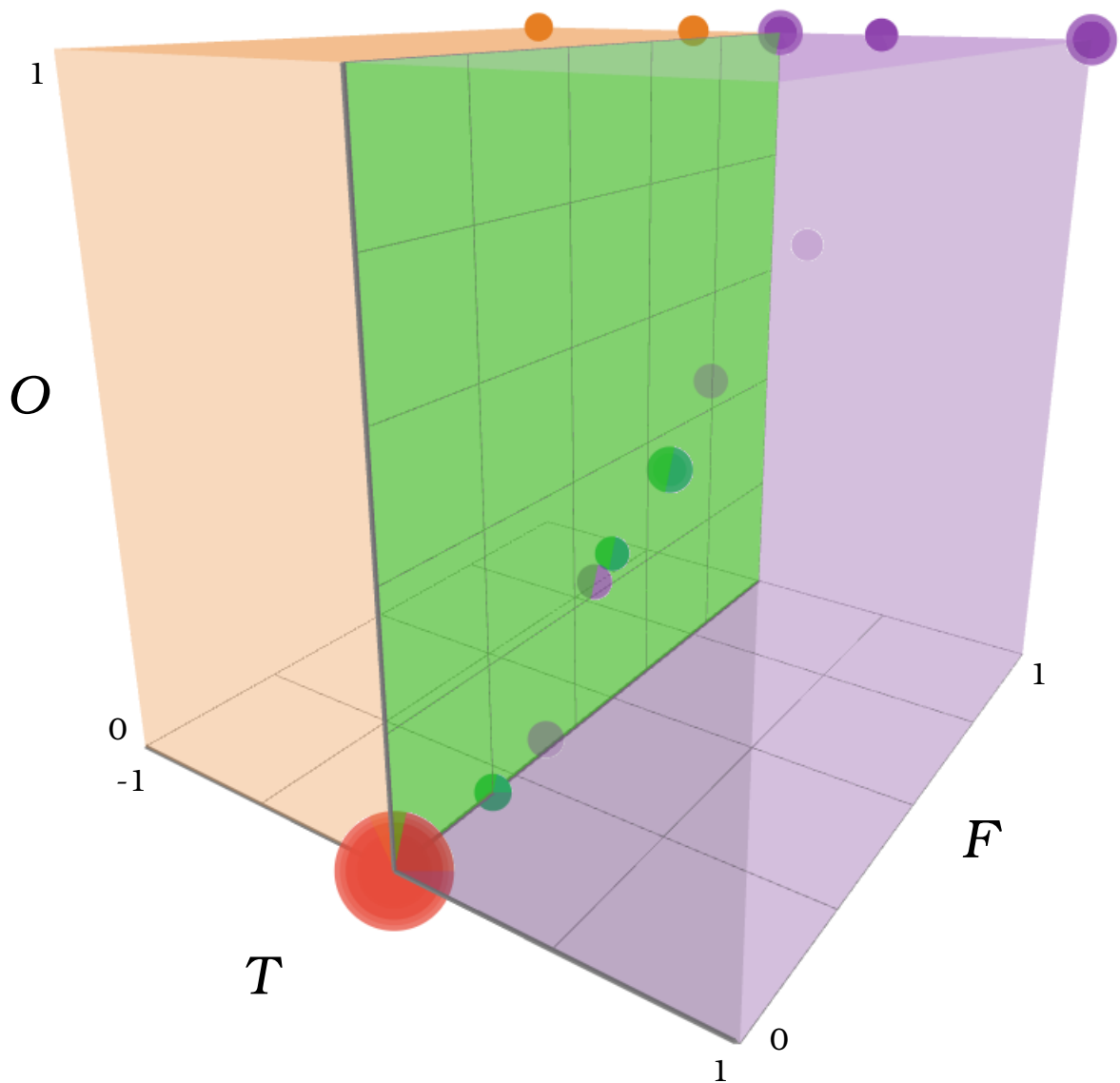


Figura 41: Morfoespacio jerárquico con las redes de diferenciación celular tras realizar su análisis estructural. El punto rojo $\mathbf{u} = (0, 0, 0)$ representa las redes no jerárquicas de la categoría 1. La región naranja corresponde al espacio antijerárquico (categoría $3d$), el plano verde $T = 0$ contiene a las redes de diferenciación de la categoría 2 y 3 que tienen el componente progresivo de la jerarquía. Finalmente, la región violeta corresponde al espacio jerárquico, donde se encuentran las redes de diferenciación de la categoría 3 que tienen el componente piramidal de la jerarquía.

Modelo dinámico	G	A	CFC(\mathcal{D}_e)	$\mathbf{u}(\mathcal{D}_e)$	Categoría (\mathcal{D}_e)
Células Th (Mendoza y Xenarios, 2006)	23	3	3	(1, 1, 1)	3a
Células B (Méndez y Mendoza, 2016)	22	4	2	(0, 0.8, 0.5)	2a
Células CD4 (Martínez-Sánchez <i>et al.</i> , 2015)	18	13	8	(0.25, 0.44, 0.64)	3b
Células GMP (Ramírez y Mendoza, 2018)	29	21	5	(0.05, 0.29, 0.05)	3b
Células asesinas naturales (Liquitaya-Montiel y Mendoza, 2018)	38	7	6	(1, 0.666, 0.71)	3b
Linfocitos T (Martínez-Sosa y Mendoza, 2013)	50	9	7	(0.2, 0.93, 0.666)	3b
Linfopoyesis (Mendoza y Méndez, 2015)	81	12	8	(0.16, 0.65, 0.5)	3b
Decisión mieloide/linfoide (Collombet <i>et al.</i> , 2017)	23	4	4	(-0.49, 1, 1)	3d
Macrófagos (Palma <i>et al.</i> , 2018)	30	5	5	(0.35, 1, 1)	3b
Determinación floral (Espinosa-Soto <i>et al.</i> , 2004)	15	10	2	(0, 0.2, 0)	2b
Células meristemáticas (Azpeitia <i>et al.</i> , 2013)	11	9	4	(0, 0.45, 0.22)	3c
Determinación cardiogénica (Herrmann <i>et al.</i> , 2012)	15	3	2	(0, 0.666, 0.333)	2a
Desarrollo de vulva (Weinstein <i>et al.</i> , 2015)	14	8	7	(0.33, 0.89, 0.75)	3b
Determinación sexual (Ríos <i>et al.</i> , 2015)	19	3	3	(1,1,1)	3a
Segmentación corporal (Marques-Pita y Rocha, 2013)	18	4	3	(0, 0.875, 0.5)	3c
Hematopoyesis (Herrera <i>et al.</i> , 2024)	21	13	4	(-0.33, 1, 1)	3d
Células PC12 (Offermann <i>et al.</i> , 2016)	30	1	1	(0, 0, 0)	1b
Células pancreáticas (Zhou <i>et al.</i> , 2016)	5	3	3	(-1, 1, 1)	3d
Queratinocitos (Domínguez-Hüttinger <i>et al.</i> , 2025)	11	10	2	(0, 0.666, 0.333)	2a
Hepatocitos (Hernández-Magaña <i>et al.</i> , 2024)	23	4	4	(0, 1, 1)	3c
Polaridad disco imaginal (Zhang <i>et al.</i> , 2020)	12	3	3	(0, 1, 1)	3c
Condrocitos (Kerkhofs <i>et al.</i> , 2012)	35	3	2	(0, 0.666, 0.333)	2a

Cuadro 2: Datos del análisis estructural de las redes de diferenciación celular efectivas. G: genes; A: atractores; $CFC(\mathcal{D}_e)$: componentes fuertemente conexos; $\mathbf{u}(\mathcal{D}_e) = (T, F, O)$: coordenada en el morfoespacio jerárquico; Categoría (\mathcal{D}_e): categoría a la que fue asignada el modelo tras la ponderación.

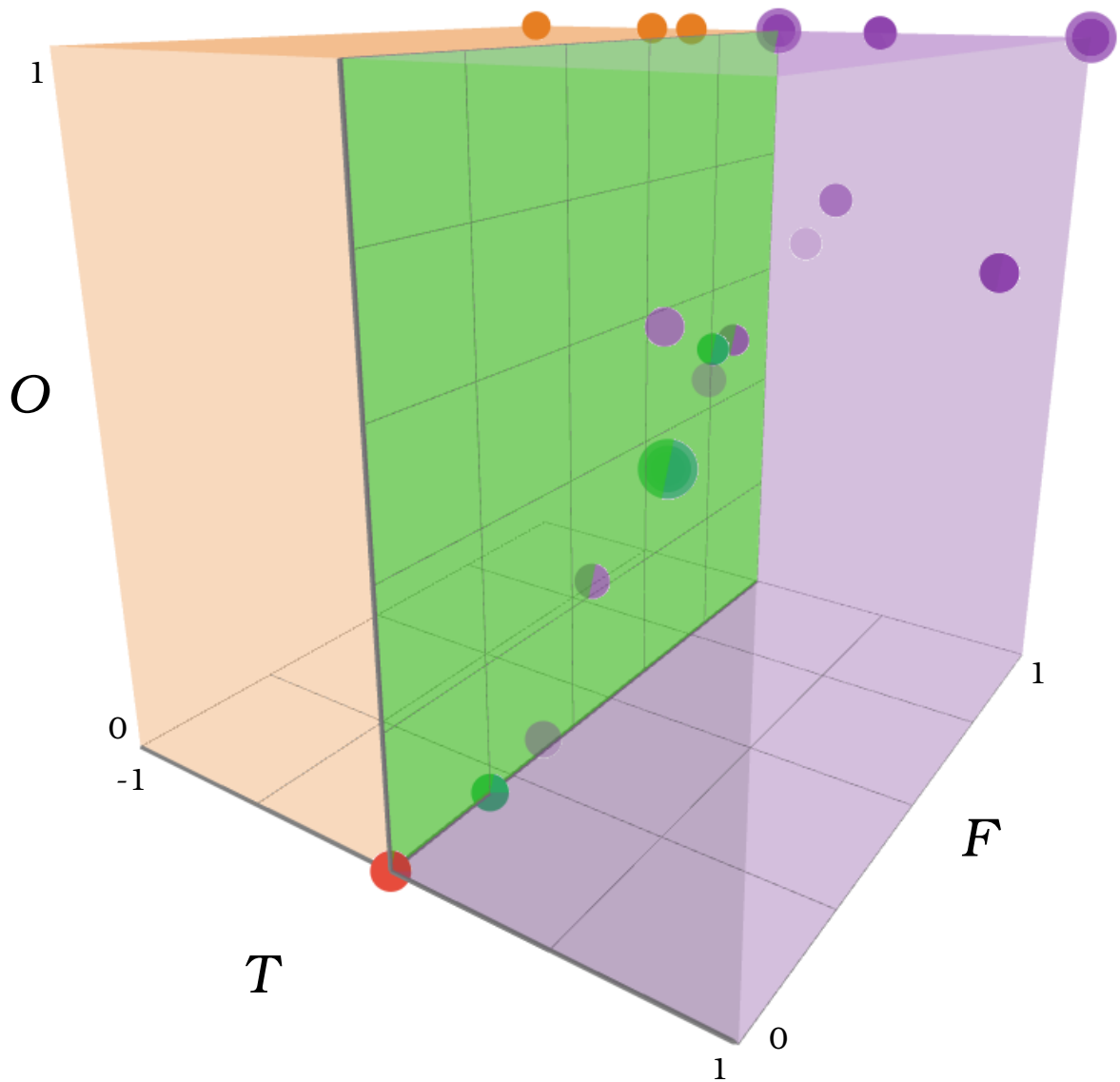


Figura 42: Morfoespacio jerárquico con las redes de diferenciación celular efectivas tras realizar su análisis estructural. El significado de las regiones y colores es el mismo que en la figura 30. Nótese cómo las redes de diferenciación de la categoría 1 se eliminan casi en su totalidad. La mayor parte de las redes de diferenciación se encuentran en la región que corresponde a una estructura jerárquica.

7.2. La identidad jerárquica está presente en las redes de regulación genética del desarrollo

Modelo estático	G AN	R C ₃ I	P C ₃ II	N C ₃ III	AM C ₃ IV	IM PC1	AI PC2	AP
Determinación floral (Espinosa-Soto <i>et al.</i> , 2004)	15 0	41 0	21 3	20 2	2 1	5 3	1 5	3
Determinación cardiogénica (Herrmann <i>et al.</i> , 2012)	15 0	38 1	31 0	7 0	2 0	0 0	0 0	2
Células B (Méndez y Mendoza, 2016)	22 0	39 0	26 6	13 0	1 0	4 4	0 0	3
Células CD4 (Martinez-Sanchez <i>et al.</i> , 2015)	18 0	78 0	39 31	39 10	5 10	9 11	5 12	9
Determinación cortical (Giacomantonio y Goodhill, 2010)	5 0	14 0	5 5	9 0	1 0	3 2	0 0	1
Formación dendrítica (Nuñez-Reza <i>et al.</i> , 2021)	94 0	228 1	205 0	23 0	4 0	0 0	0 0	3
Linfopoyesis (Mendoza y Méndez, 2015)	81 0	158 0	108 10	50 0	3 10	12 11	0 10	8
Especificación de mesodermo (Mbodj <i>et al.</i> , 2016)	48 0	78 0	62 0	16 0	2 0	0 0	0 0	2
Decisión mieloide/linfoide (Collombet <i>et al.</i> , 2017)	23 0	69 7	51 6	18 4	6 0	2 6	0 7	4
Determinación sexual humana (Ríos <i>et al.</i> , 2015)	19 0	79 8	52 17	27 5	10 0	7 8	1 3	3
Linfocitos T (Martínez-Sosa y Mendoza, 2013)	50 0	97 0	69 4	28 0	2 8	9 8	0 4	8
Desarrollo de vulva (Weinstein <i>et al.</i> , 2015)	14 0	38 0	19 3	19 1	1 1	4 3	3 6	3
Formación de corion (Fauré <i>et al.</i> , 2014)	17 0	26 1	18 0	8 1	0 0	0 0	0 0	2
Genes gap en la segmentación (Sánchez y Thieffry, 2001)	7 0	15 0	7 0	8 0	0 3	2 0	0 3	0
Genes pair-rule en la segmentación (Sánchez y Thieffry, 2003)	7 0	23 0	6 6	17 1	0 4	5 2	2 6	2

Polaridad hojal (Yuste <i>et al.</i> , 2024)	17	41	15	26	3	2	2	2
	2	0	4	1	1	4	5	
Angiogénesis (Weinstein <i>et al.</i> , 2017)	64	147	116	31	5	0	2	1
	0	0	0	0	0	0	0	
Cardiomiocitos (Argyris <i>et al.</i> , 2024)	21	50	39	11	3	0	0	3
	0	1	0	0	0	0	0	
Destino gonadal en pollos (Sánchez y Chaouiya, 2018)	14	26	16	10	2	2	0	1
	0	2	2	1	0	3	2	
Disco de alas (González <i>et al.</i> , 2006)	24	35	31	4	0	0	0	10
	0	0	0	0	0	0	0	
Transición epitelial-mesenquimal (Weinstein <i>et al.</i> , 2020)	29	84	70	14	4	1	2	12
	1	2	0	1	0	1	1	
Macrófagos (Palma <i>et al.</i> , 2018)	30	51	40	11	0	0	0	5
	0	2	0	0	0	0	0	
Destino sexual en euterios (Sánchez y Chaouiya, 2016)	18	40	30	10	4	2	1	1
	0	4	1	0	0	4	1	
Ectodermo en erizo de mar (Floc'hlay <i>et al.</i> , 2020)	30	38	23	15	1	1	0	1
	0	0	0	0	0	0	0	
Endomesodermo en erizo de mar (Peter y Davidson, 2017)	79	209	162	47	7	1	3	4
	12	3	0	3	0	0	1	
Transición levadura-hifa (Wooten <i>et al.</i> , 2021)	19	39	25	14	0	0	0	4
	0	0	3	2	0	0	2	
Células GMP (Ramírez y Mendoza, 2018)	29	82	65	17	2	2	0	6
	0	0	1	0	0	3	0	
Células embrionarias humanas (Narad <i>et al.</i> , 2018)	45	81	51	30	0	1	0	7
	0	2	1	0	0	2	0	
Células madre pluripotentes (Yachie-Kinoshita <i>et al.</i> , 2018)	39	162	111	51	12	1	3	6
	1	21	4	8	0	6	6	
Adipocitos (Siersbæk <i>et al.</i> , 2012)	30	52	38	14	4	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	

Epidermis radicular (Álvarez Buylla <i>et al.</i> , 2024)	17	32	23	9	2	0	4	1
	0	1	1	2	0	1	1	
Células meristemáticas (García-Gómez <i>et al.</i> , 2020)	18	50	28	22	5	2	0	4
	0	4	0	1	0	3	1	
Células cardíacas progenitoras (Yao <i>et al.</i> , 2017)	9	34	20	14	3	0	1	7
	0	1	7	0	0	7	2	
Destino cardíaco en <i>Xenopus sp.</i> (Grieb <i>et al.</i> , 2015)	15	38	31	7	2	0	0	2
	0	1	0	0	0	0	0	
Condrocitos (Kerkhofs <i>et al.</i> , 2012)	35	89	68	21	1	0	0	4
	0	3	3	0	0	4	0	
Células madre de ratón (Chen <i>et al.</i> , 2015)	10	23	15	8	1	3	0	2
	0	0	2	1	0	4	1	
Primordio de sépalo (La Rota <i>et al.</i> , 2011)	21	32	24	8	2	0	0	1
	0	0	1	0	0	0	0	
Hematopoyesis (Herrera <i>et al.</i> , 2024)	21	85	47	38	2	9	5	7
	0	5	13	10	6	9	13	
Células de la masa celular interna (Bessonard <i>et al.</i> , 2014)	4	9	5	4	0	1	0	2
	0	1	1	0	0	4	0	
Células estromales mesenquimales (Kaltdorf <i>et al.</i> , 2023)	155	328	231	97	1	4	4	0
	0	3	5	2	3	5	6	
Queratinocitos (Domínguez-Hüttinger <i>et al.</i> , 2025)	11	28	18	10	4	1	1	2
	0	1	1	2	0	3	2	
Determinación del eje mediolateral (Moya-Cuevas <i>et al.</i> , 2024)	14	73	35	38	5	7	1	6
	1	3	25	11	2	7	9	
Mielopoyesis (Krumtsiek <i>et al.</i> , 2011)	11	30	15	15	1	4	1	4
	0	0	4	2	1	5	5	
Desarrollo de <i>Myxococcus xanthus</i> (Arias Del Angel <i>et al.</i> , 2018)	24	41	31	10	2	0	1	4
	0	0	1	0	0	2	2	
Células asesinas naturales (Liquitaya-Montiel y Mendoza, 2018)	38	125	71	54	7	6	0	10
	0	1	18	4	1	14	8	

Células pancreáticas (Zhou <i>et al.</i> , 2011)	10	28	22	6	2	3	0	4
	0	2	0	1	0	3	2	
Polaridad segmentaria (Albert y Othmer, 2003)	17	29	18	11	0	0	0	2
	0	0	0	2	0	0	0	
Células de la medula espinal (Lovrics <i>et al.</i> , 2014)	8	14	0	14	0	4	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	
Células Th (Naldi <i>et al.</i> , 2010)	34	95	75	20	5	1	0	7
	0	5	1	3	0	5	1	
Fascículo vascular (Benítez y Hejátko, 2013)	22	35	25	10	2	0	1	1
	0	0	2	0	0	1	1	
Endomesordermo en <i>Xenopus sp.</i> (Brown <i>et al.</i> , 2014)	9	18	14	4	1	1	0	1
	1	0	1	0	0	1	1	
Endomesodermo en ajolote (Brown <i>et al.</i> , 2014)	13	26	22	4	1	0	1	2
	1	0	1	0	0	1	3	
Progenitores neurales en ratón (Vokes <i>et al.</i> , 2007)	14	25	10	15	0	4	0	0
	0	1	0	0	0	0	0	
Morfogénesis de extremidades (Rabinowitz y Vokes, 2012)	26	47	37	10	1	0	1	0
	0	4	0	2	0	0	0	
Desarrollo oclar (Aguilar-Hidalgo <i>et al.</i> , 2013)	12	20	11	9	0	1	0	3
	0	0	0	2	0	1	0	
Rombencéfalo en vertebrados (Tümpel <i>et al.</i> , 2009)	9	14	9	5	1	0	0	3
	0	0	0	0	0	0	0	
Células progenitoras sensoriales (Grocott <i>et al.</i> , 2012)	29	80	52	28	2	2	4	3
	0	1	2	11	1	1	2	
Placoda cristaliniiana (Ogino <i>et al.</i> , 2012)	24	30	30	0	2	0	0	3
	0	0	0	0	0	0	0	
Neurogénesis apical (Feuda y Peter, 2022)	25	35	24	11	0	2	1	0
	3	0	0	0	1	0	2	
Trofoectodermo/endodermo (Chickarmane y Peterson, 2008)	6	15	10	5	2	2	0	3
	0	0	1	2	0	4	4	

Cuadro 3: Datos del análisis de atributos topológicos de las redes de regulación genética. G: genes; R: regulaciones; P: regulaciones positivas; N: regulaciones negativas; AM: activaciones mutuas; IM: inhibiciones mutuas; AI: activaciones-inhibiciones; AP: autorregulaciones positivas; AN: autorregulaciones negativas; C_3I : ciclo de 3 genes tipo I; C_3II : ciclo de 3 genes tipo II; C_3III : ciclo de 3 genes tipo III; C_3IV : ciclo de 3 genes tipo IV; PC1: patrones conjugados 1; PC2: patrones conjugados II.

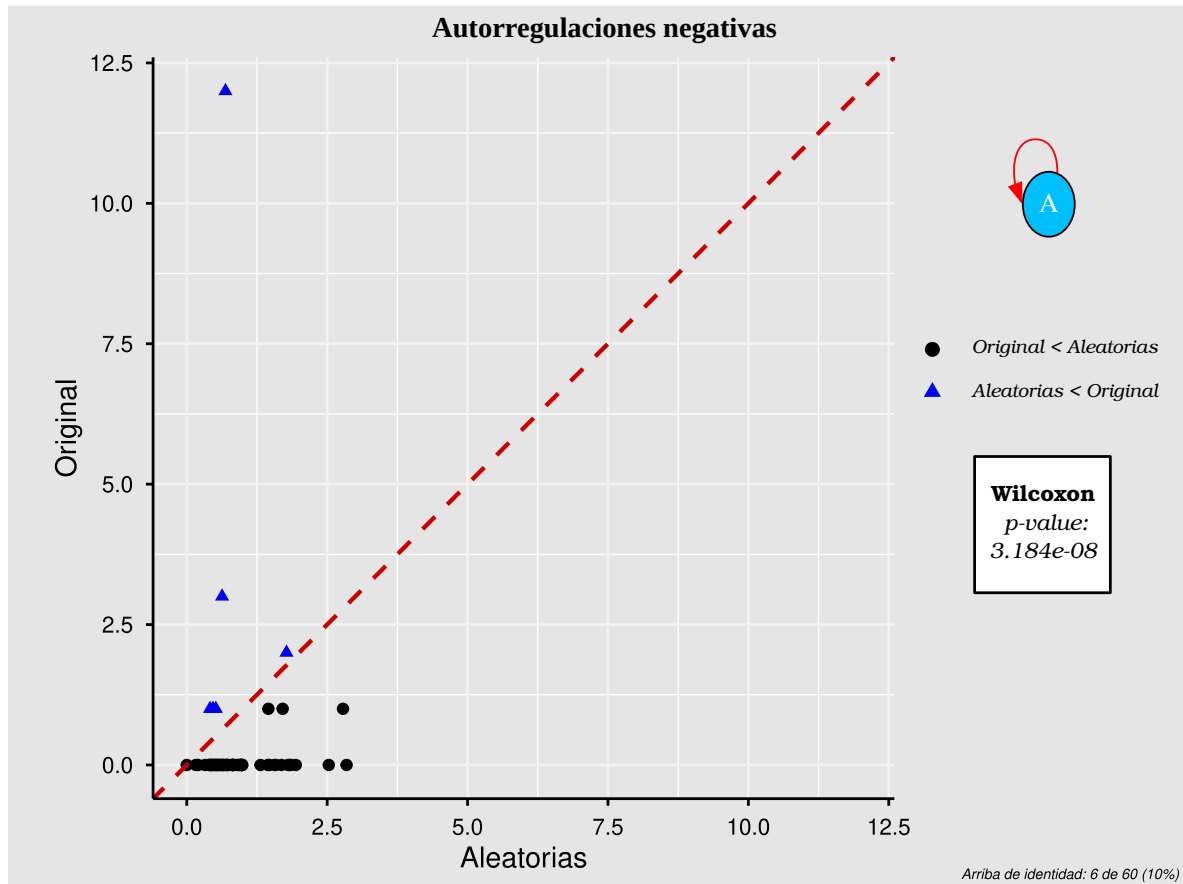


Figura 43: Cantidad de autorregulaciones negativas en las redes representativas de sistemas biológicos y en las redes aleatorias. Este patrón de conectividad se encuentra en menor cantidad en las redes de los sistemas biológicos que en las aleatorias.

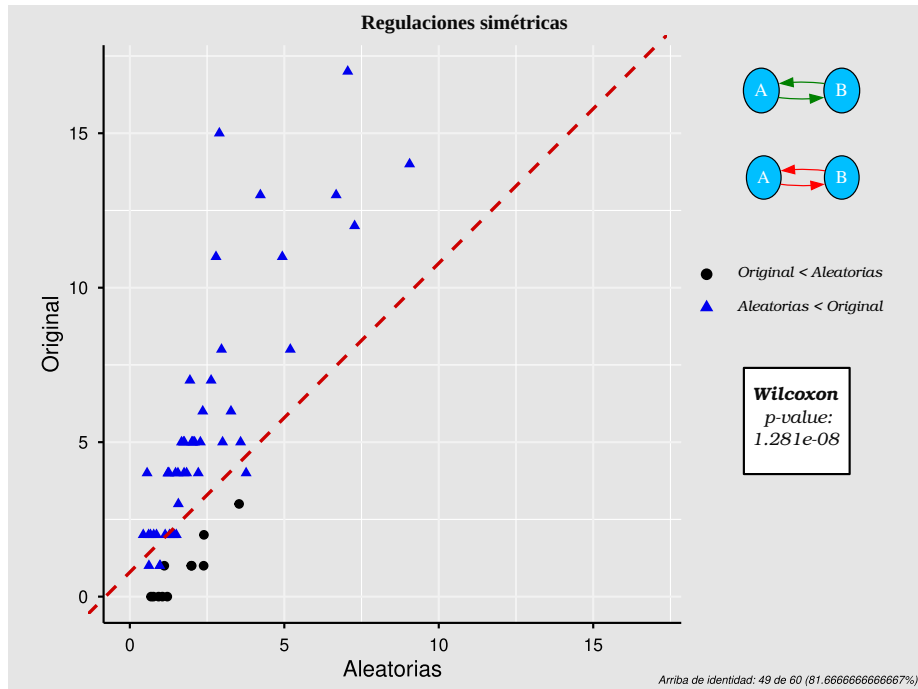
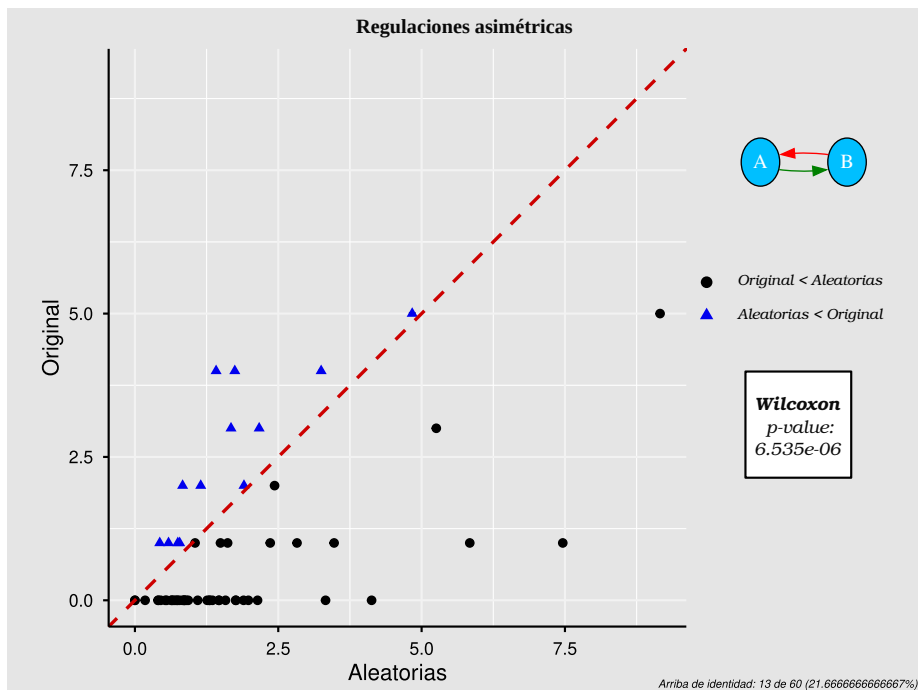
A**B**

Figura 44: Cantidad de regulaciones simétricas y asimétricas en las redes representativas de sistemas biológicos y en las redes aleatorias. (A) Regulaciones simétricas (activaciones mutuas + inhibiciones mutuas). Véase que se encuentran más en las redes de los sistemas biológicos que en las aleatorias. (B) Regulaciones asimétricas. Véase como las redes de los sistemas biológicos tienen menos este circuito que las redes aleatorias.

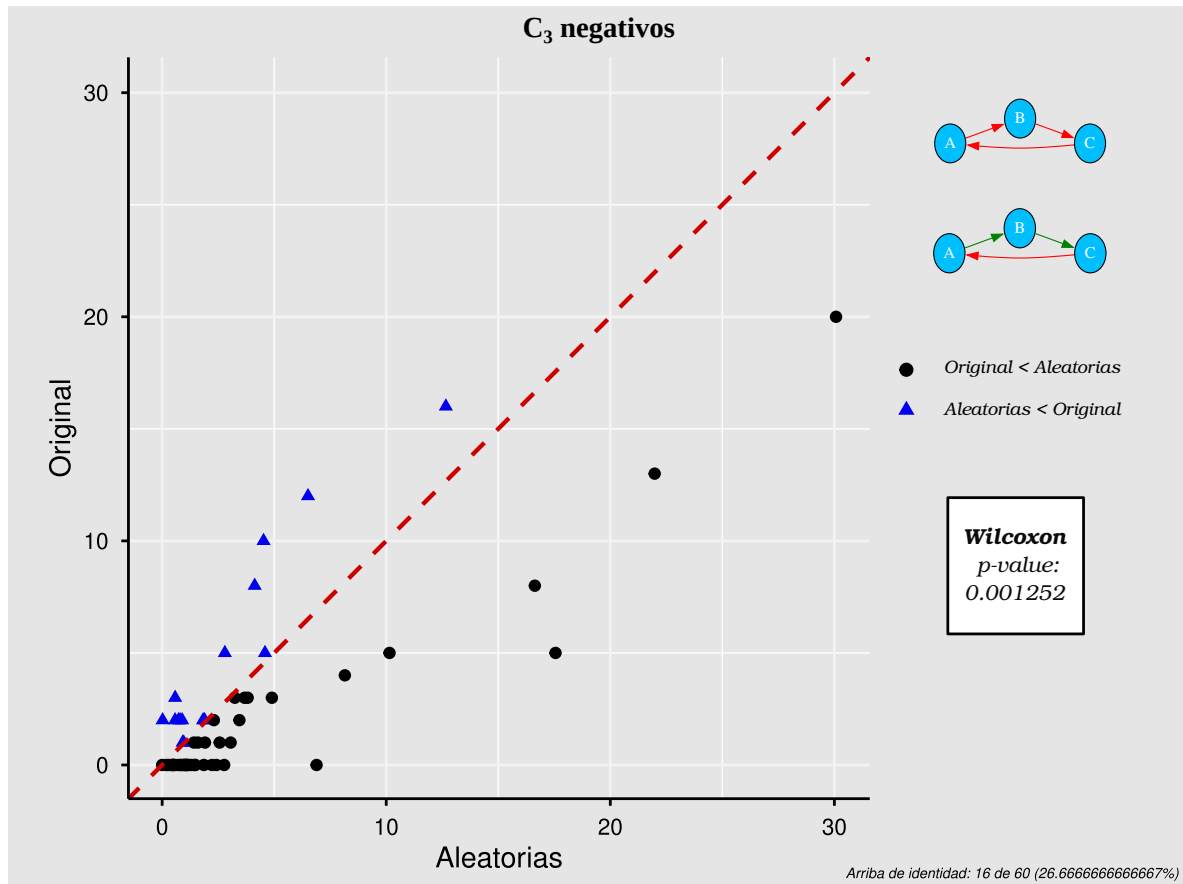


Figura 45: Cantidad de los CRN (tipo III + tipo IV) en las redes representativas de sistemas biológicos y en las redes aleatorias. Estos circuitos se encuentran menos en las redes del desarrollo de los sistemas biológicos que en las redes aleatorias.

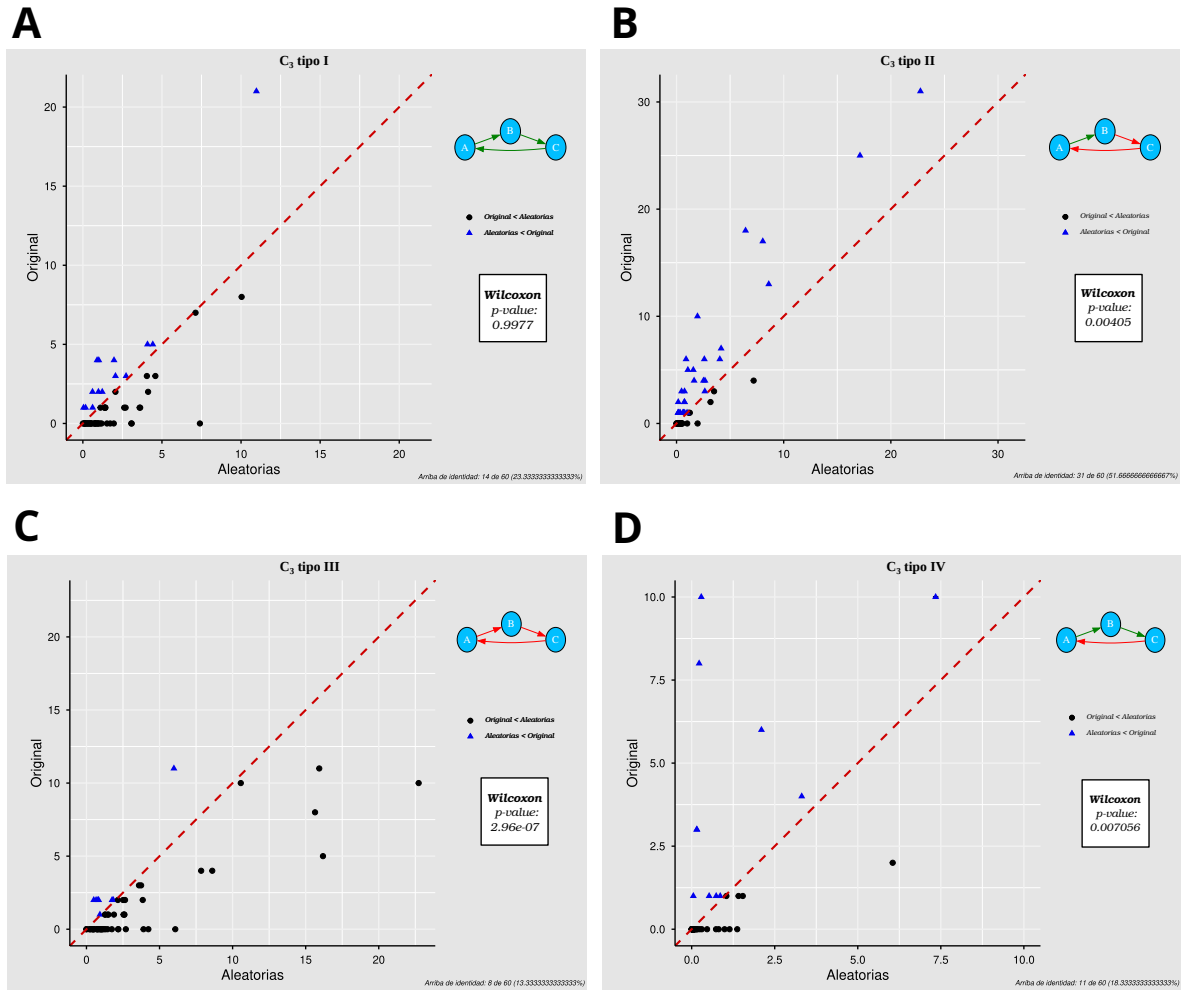


Figura 46: Cantidad de cada tipo de C_3 en las redes representativas de sistemas biológicos y en las redes aleatorias. (A) C_3 tipo I, i.e., 0 regulaciones positivas. (B) C_3 tipo II, i.e., dos regulaciones negativas. (C) C_3 tipo III, i.e., 3 regulaciones negativas. (D) C_3 tipo IV, i.e., 1 regulación negativa. Obsérvese que los C_3 I y II son CRP, los C_3 III y IV son CRN. Los CRP se encuentran más en las redes de los sistemas biológicos. Los CRN se encuentran más en las redes del muestreo aleatorio.

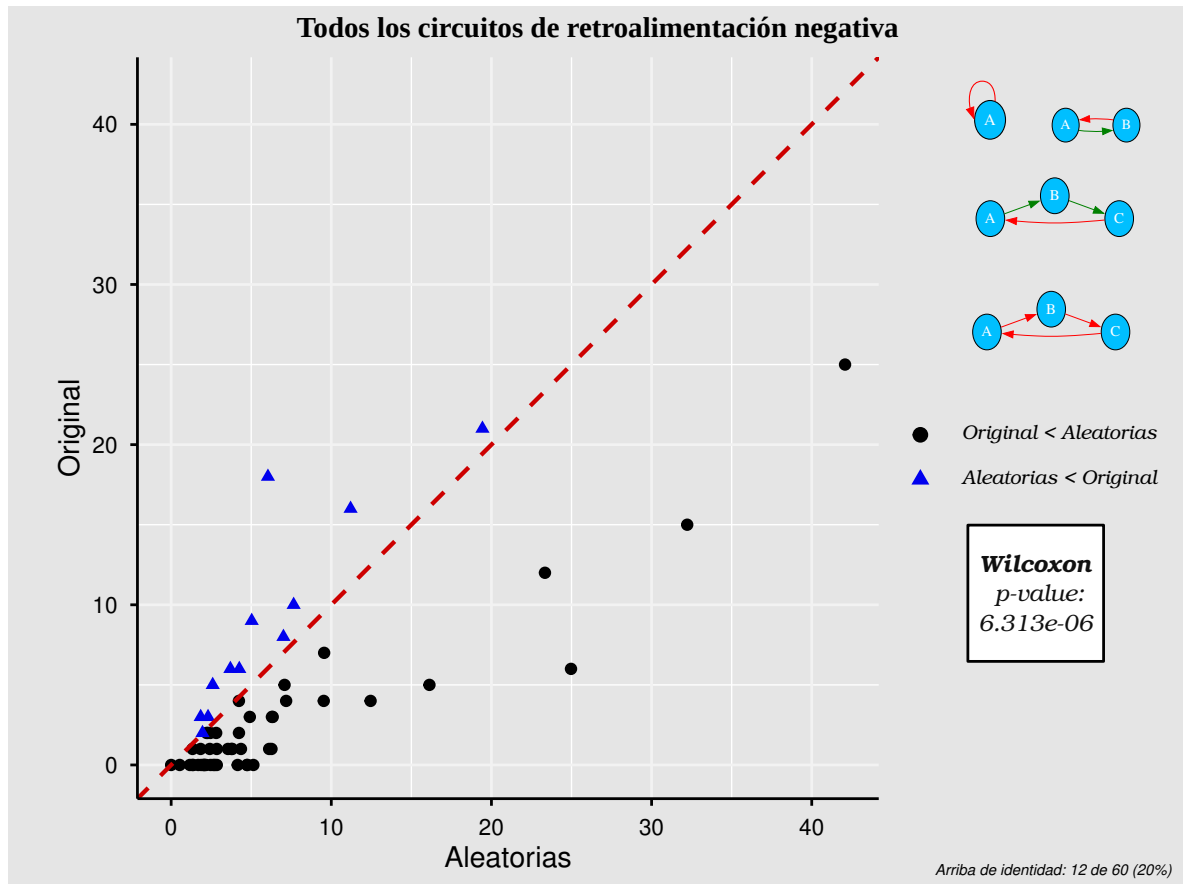


Figura 47: Todos los circuitos de retroalimentación negativa. Se encuentran en mucha menor cantidad en las redes representativas de los sistemas biológicos en comparación a todos los circuitos de retroalimentación negativa.

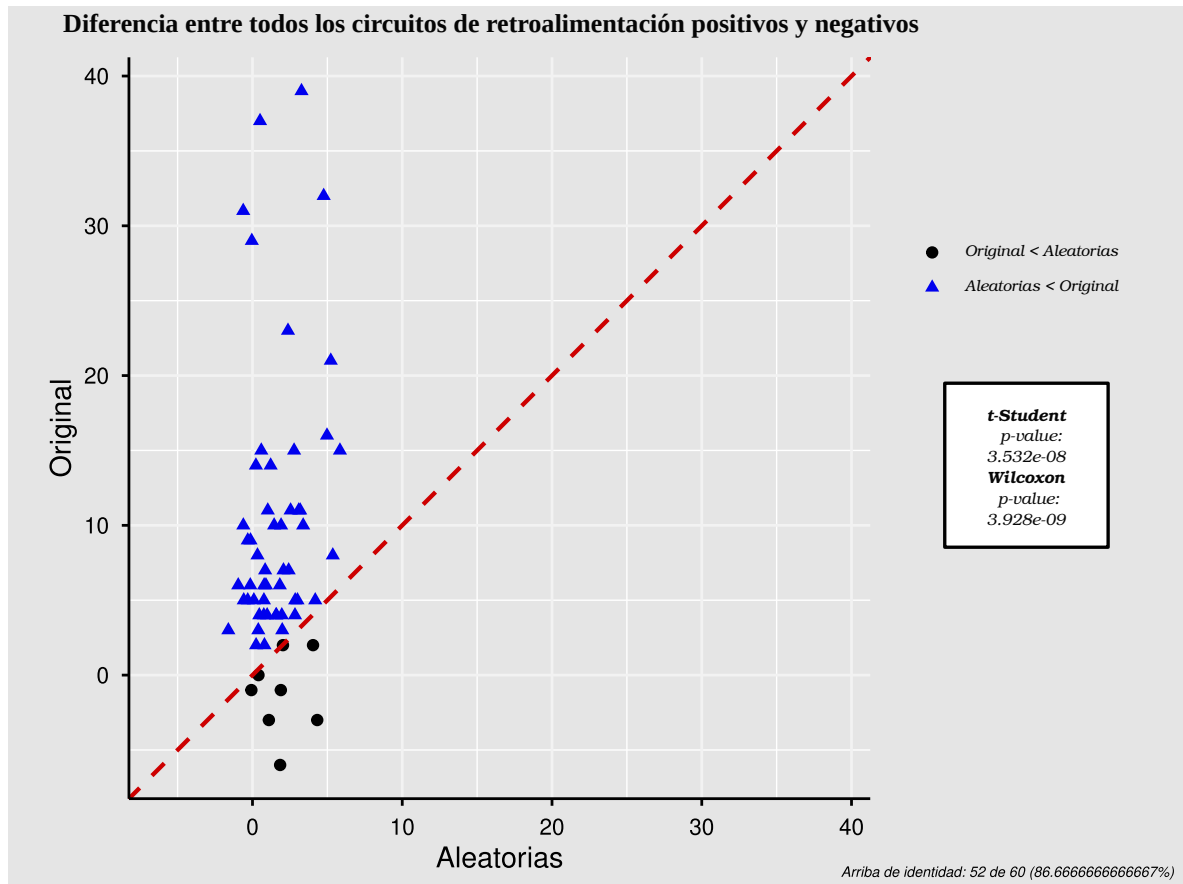


Figura 48: Diferencia entre todos los circuitos de retroalimentación positiva y todos los circuitos de retroalimentación negativa. Además de la diferencia significativa entre las redes biológicas y las aleatorias, obsérvese como en las redes aleatorias la diferencia se concentra en 0.

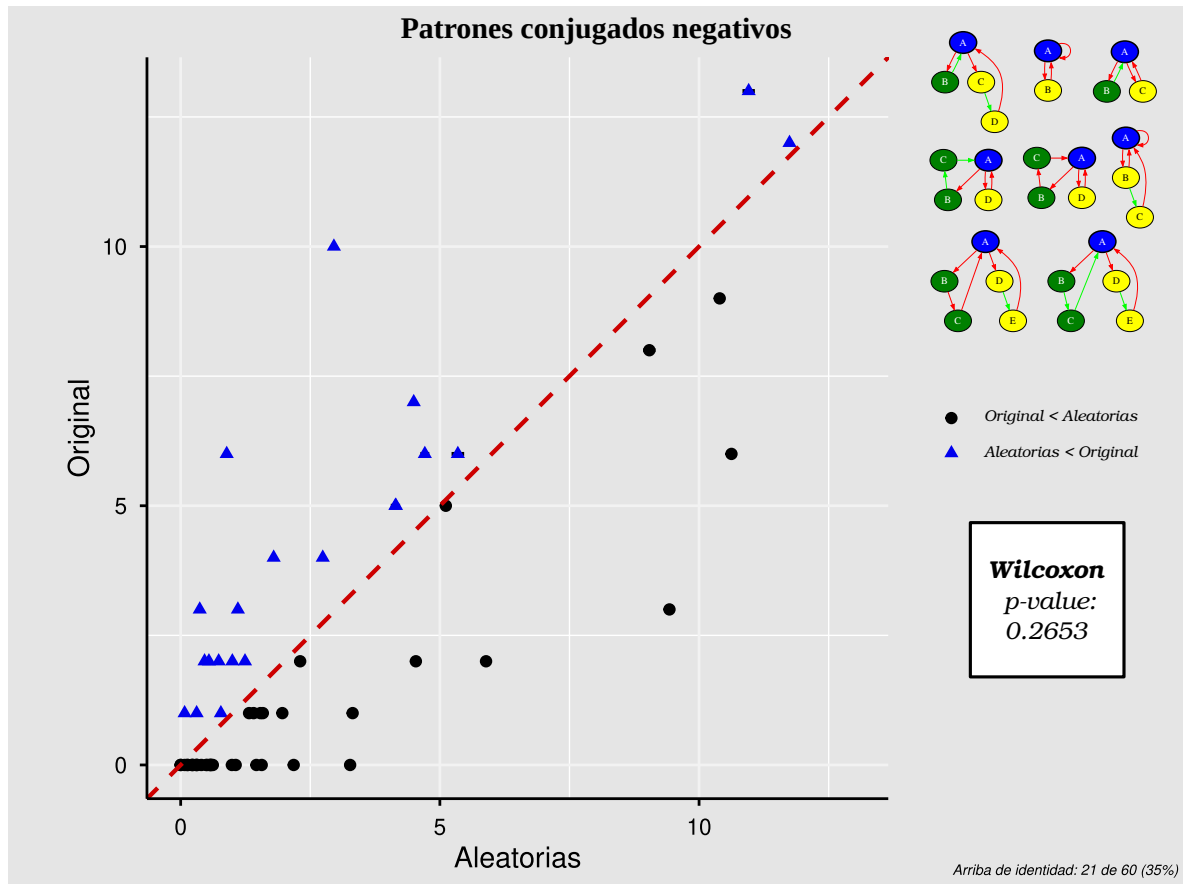


Figura 49: Patrones conjugados negativos. Aparecen en menor abundancia en las redes que controlan el desarrollo de los sistemas biológicos que en las aleatorias.