

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE INFORMÁTICA  
CURSO: BIOTECNOLOGIA - HABILITAÇÃO: BIOINFORMÁTICA

DAVI PADILHA MESQUITA

**Estudo e Modelagem dos Efeitos da Forma  
e do Crescimento em Processos de  
Formação de Padrões de Pelagem via  
Reação-Difusão**

Orientador: Prof. Marcelo Walter

Porto Alegre  
2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Reitor: Prof. Carlos Alexandre Netto

Pró-Reitor de Graduação: Prof. Sérgio Roberto Kieling Franco

Diretor do Instituto de Informática: Prof. Luís da Cunha Lamb

Coordenadora do Curso de Biotecnologia: Prof<sup>a</sup>. Irene Silveira Schrank

*“Evolution is definable as a change  
from an incoherent homogeneity  
to a coherent heterogeneity”*

— HERBERT SPENCER

## AGRADECIMENTOS

Antes de mais nada, gostaria de agradecer a meus pais, por terem incentivado o interesse pelas ciências naturais e, de forma geral, por assuntos intelectuais desde a minha infância, além de dar todo o apoio e toda a compreensão necessários à realização da minha formação acadêmica. Espero que possa um dia retribuir tudo o que fizeram para me ajudar a chegar onde estou.

Também gostaria de agradecer ao Prof. Marcelo Walter por ter me apresentado a esse mundo fascinante dos mecanismos de formação de padrão durante o desenvolvimento embrionário e da biologia matemática, para não falar do maravilhoso mundo da produção artística através de métodos computacionais.

É necessário agradecer também a todos os cientistas cujo esforço, genialidade e curiosidade ajudaram a elucidar um pouco o mistério da transformação de uma célula em um animal adulto. Antes de todos, o criador dos modelos de reação-difusão, o genial pioneiro da computação Alan Turing; além disso, um outro importante inspirador para este trabalho foi Jonathan Bard, por sua teoria sobre como um sistema de reação-difusão poderia dar origem às listras de zebras e outros padrões em mamíferos.

Por fim, gostaria de agradecer também à UFRGS, pelo ensino de qualidade que recebi durante todos estes anos, particularmente ao Instituto de Informática e ao Curso de Biotecnologia.

# SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b> . . . . .	7
<b>LISTA DE FIGURAS</b> . . . . .	8
<b>LISTA DE TABELAS</b> . . . . .	10
<b>RESUMO</b> . . . . .	11
<b>ABSTRACT</b> . . . . .	12
<b>1 INTRODUÇÃO</b> . . . . .	13
1.1 <b>Objetivos</b> . . . . .	14
1.2 <b>Justificativas</b> . . . . .	15
1.3 <b>Organização do Trabalho</b> . . . . .	16
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> . . . . .	17
2.1 <b>Introdução</b> . . . . .	17
2.2 <b>Funcionamento dos Sistemas de Reação-Difusão</b> . . . . .	17
2.3 <b>Aplicações Teóricas e Experimentais dos Modelos de Reação-Difusão</b> . . . . .	22
2.4 <b>Biologia da Pigmentação dos Padrões de Pelagem em Mamíferos</b> . . . . .	25
2.4.1 <b>Biologia da Pigmentação da Pelagem em Mamíferos</b> . . . . .	26
2.4.2 <b>Padrões <i>Tabby</i> em Felinos</b> . . . . .	30
2.5 <b>Alguns Modelos de Reação-Difusão</b> . . . . .	35
2.6 <b>Análise do Sistema de Reação-Difusão Não-Linear de Turing</b> . . . . .	38
2.7 <b>Forma e Crescimento</b> . . . . .	46
2.8 <b>Conclusão</b> . . . . .	51
<b>3 METODOLOGIA</b> . . . . .	52
3.1 <b>Ferramentas Computacionais Desenvolvidas</b> . . . . .	52
3.2 <b>Simulações Realizadas</b> . . . . .	60
3.3 <b>Conclusão</b> . . . . .	64
<b>4 RESULTADOS</b> . . . . .	65
4.1 <b>Variação dos Parâmetros</b> . . . . .	65
4.2 <b>Efeito da Forma</b> . . . . .	70
4.3 <b>Efeito da Concentração Inicial na Crista Neural</b> . . . . .	74
4.4 <b>Efeito do Tamanho</b> . . . . .	77
4.5 <b>Efeito do Crescimento</b> . . . . .	79

4.6	Conclusão . . . . .	83
5	<b>DISCUSSÃO . . . . .</b>	84
5.1	Variação dos Parâmetros . . . . .	84
5.2	Efeito da Forma . . . . .	87
5.3	Efeito da Concentração Inicial na Crista Neural . . . . .	89
5.4	Efeito do Tamanho . . . . .	90
5.5	Efeito do Crescimento . . . . .	91
5.6	Possíveis Aplicações nas Áreas Computacionais e Biológicas . . . . .	91
5.7	Conclusão . . . . .	93
6	<b>CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS . . . . .</b>	94
	<b>REFERÊNCIAS . . . . .</b>	96

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

RD Reação-Difusão

## LISTA DE FIGURAS

1.1	Exemplos de padrões encontrados em seres vivos. . . . .	13
2.1	Evolução de um sistema de reação-difusão no tempo. . . . .	19
2.2	Modelo ativador-inibidor de Meinhardt. . . . .	20
2.3	Sistemas mosaico e regulativo. . . . .	21
2.4	Hipótese de Bard para o desenvolvimento das listras nas diferentes espécies de zebras. . . . .	23
2.5	Mudança do padrão de pigmentação em <i>zebrafish</i> após destruição dos melanóforos. . . . .	25
2.6	Migração dos melanoblastos a partir da crista neural . . . . .	26
2.7	Rato com pelagem aguti . . . . .	27
2.8	Pelo de animal com pelagem aguti . . . . .	28
2.9	Pelagem aguti de gato da raça abissínia . . . . .	28
2.10	Gato com pigmentação apenas nas pontas do corpo . . . . .	29
2.11	Rota bioquímica da síntese de eumelanina e feomelanina . . . . .	29
2.12	Melanócito com melanossomas . . . . .	30
2.13	Padrões <i>tabby</i> em gatos . . . . .	31
2.14	Gatos com padrões <i>tabby</i> híbridos . . . . .	32
2.15	Guepardo com pintas e com o padrão <i>King Cheetah</i> . . . . .	33
2.16	Pelos e regiões da pele de gatos <i>mackerel</i> e <i>blotched</i> . . . . .	34
2.17	Processo de formação das áreas de diferente pigmentação em felinos .	34
2.18	Geneta . . . . .	38
2.19	Interpretação molecular simplificada do sistema de reação-difusão não-linear de Turing. . . . .	40
2.20	Variação do comprimento de onda conforme a velocidade das reações - Bard e Lauder. . . . .	41
2.21	Relação entre comprimento de onda e velocidade das reações - Bard e Lauder. . . . .	41
2.22	Simulações de reação-difusão para um diferente número de células - Bard e Lauder. . . . .	42
2.23	Simulações de reação-difusão para um número crescente de células - Bard e Lauder. . . . .	43
2.24	Reação-difusão em um sistema bidimensional - Bard e Lauder. . . . .	44
2.25	Condições de contorno para sistemas de reação-difusão bidimensionais - Bard e Lauder. . . . .	45
2.26	Gato doméstico com padrão de pintas na pelagem . . . . .	45
2.27	Reação-difusão com difusão apenas no sentido vertical . . . . .	47

2.28	Reação-difusão em superfície 3D com difusão anisotrópica . . . . .	47
2.29	Efeito do tamanho sobre o padrão de pelagem . . . . .	48
2.30	Resultados de simulação com crescimento usando o modelo de mo- saico clonal . . . . .	49
2.31	Crescimento posterior à reação-difusão transformando pintas em listras	50
3.1	Interface gráfica do programa <i>Simple Reaction-Diffusion</i> . . . . .	52
3.2	Exemplo de células fronteiriças . . . . .	55
3.3	Busca por vizinhos para células com condição de fronteira circular . .	56
3.4	Exemplo de binarização de imagem . . . . .	59
3.5	Imagem (modelo de corpo) utilizada nas simulações . . . . .	60
3.6	Sequência de imagens representando 16 estágios de crescimento . . .	63
3.7	Relação entre o comprimento do corpo e o período do desenvolvi- mento do gato doméstico . . . . .	64
4.1	Resultados para diferentes coeficientes de difusão . . . . .	66
4.2	Resultados para diferentes valores de $s$ . . . . .	67
4.3	Relação entre $s$ e área média das pintas . . . . .	67
4.4	Relação entre $s$ e o inverso da área das pintas . . . . .	68
4.5	Resultados para diferentes valores de $s$ e $D_b$ . . . . .	69
4.6	Resultado utilizando a forma de animal sem fronteiras circulares . . .	70
4.7	Variação de $s$ na forma de animal sem fronteiras circulares . . . . .	71
4.8	Resultado utilizando a forma de animal com fronteiras circulares . . .	71
4.9	Variação de $s$ na forma de animal com fronteiras circulares . . . . .	72
4.10	Variação de $s$ na forma de animal com fronteiras circulares e $D_b =$ 0.010 . . . . .	73
4.11	Simulações de reação-difusão em superfícies triangulares . . . . .	74
4.12	Listras geradas ao alterar a concentração inicial de diferentes regiões	74
4.13	Modelos de animais com crista neural . . . . .	75
4.14	Resultados de reação-difusão simulando crista neural . . . . .	76
4.15	Resultados diversos para sistemas com crista neural . . . . .	76
4.16	Variação de $s$ para modelos de animais de tamanho menor . . . . .	77
4.17	Relação entre a área das pintas e o tamanho do <i>grid</i> . . . . .	78
4.18	Estado do sistema durante o crescimento . . . . .	79
4.19	Resultados com crescimento, $s = 0.005$ , $D_b = 0.031$ . . . . .	80
4.20	Resultados com crescimento, $s = 0.005$ , $D_b = 0.020$ . . . . .	81
4.21	Resultados com crescimento, $s = 0.020$ , $D_b = 0.010$ . . . . .	82
5.1	Comparação entre resultados experimentais de cruzamentos de gatos <i>tabby</i> e simulações de reação-difusão . . . . .	86
5.2	Comparação entre o padrão de gatos pintados e simulações de reação- difusão . . . . .	88
5.3	Comparação entre o padrão de filhotes de javali e simulações de reação- difusão . . . . .	89
5.4	Comparação entre a pelagem da cabra <i>Valais blackneck</i> e simulações de reação-difusão . . . . .	90

## LISTA DE TABELAS

3.1	Código de cores para cada célula no <i>Simple Reaction-Diffusion</i> . . .	54
3.2	Medidas de comprimento dos estágios embrionários do gato . . . . .	62
4.1	Relação entre a área média das pintas e $s$ . . . . .	68
4.2	Relação entre o lado $N$ do <i>grid</i> e a área média das pintas . . . . .	79

## RESUMO

Um dos aspectos mais fascinantes da natureza são os padrões observáveis nos seres vivos, como os intrincados padrões de pelagem presentes nos mamíferos. Para explicar a formação dos padrões biológicos, Alan Turing propôs os modelos de reação-difusão, baseados na interação entre duas substâncias químicas que se difundem no espaço e reagem entre si, e que encontra aplicações não apenas como explicação destes fenômenos, como também para a geração de texturas realistas na área de computação gráfica. Apesar do amplo emprego destes modelos, poucos estudos levam em conta o efeito da forma e do crescimento da superfície na qual a formação de padrão ocorre. Este trabalho apresenta uma revisão da literatura sobre modelos de reação-difusão e a biologia da pigmentação da pelagem, além de uma série de simulações envolvendo estes modelos. Nestas simulações, utilizamos o modelo de reação-difusão não-linear criado por Turing aplicado a uma superfície bidimensional para analisar como diversos fatores podem afetar o padrão obtido. Estes fatores incluem diferentes valores para os parâmetros que regem o modelo, os efeitos da forma, diferentes concentrações iniciais das substâncias em certas áreas, e os efeitos do tamanho e do crescimento da superfície. Nossos resultados mostram que os efeitos destas condições são relevantes para a formação dos padrões, permitindo a transição de pintas para listras em superfícies estreitas, o aumento ou redução da estabilidade e da robustez do sistema, e a obtenção de padrões geometricamente regulares. Tais resultados encontram aplicações tanto na área de computação gráfica, ao permitir a obtenção de texturas mais similares às reais, quanto como explicação para a formação dos padrões de pelagem em mamíferos.

**Palavras-chave:** Reação-difusão, padrões de pelagem, simulação de fenômenos naturais, produção de texturas, biologia da pigmentação da pelagem em mamíferos.

## **Study and Modeling of the Effects of Form and Growth in Coat Pattern Formation through Reaction-Diffusion**

### **ABSTRACT**

One of the most fascinating aspects of Nature are the visible patterns in living beings, such as the intricate coat patterns in mammals. In order to explain the formation of biological patterns, Alan Turing proposed the reaction-diffusion model based on the interaction of two chemicals that diffuse and react with each other. These models are applied not only as an explanation of these natural phenomena, but also in the generation of realistic textures in computer graphics. Despite the wide use of these models, few studies take into account the effect of the shape and the growth of the surface in which the pattern formation occurs. This work presents a literature review of reaction-diffusion models and the biology of coat pigmentation, in addition to simulations involving these models. In the simulations, we used the non-linear reaction-diffusion model created by Turing applied to a two-dimensional surface to analyze how various factors can affect the resulting pattern. These factors include different values for model parameters, the effects of shape, different initial concentrations of the substances in certain areas, and the effects of surface size and growth. Our results show that the effects of these conditions are relevant for pattern formation, enabling the transition from spots to stripes on narrow surfaces, the increase or decrease of stability and robustness of the system, and to obtain geometrically regular patterns. These results find applications both in computer graphics by increasing the similarity of computer-generated textures with the natural ones, as well as in biology, as a plausible explanation for the formation of coat patterns in mammals.

**Keywords:** reaction-diffusion, coat patterns, simulation of natural phenomena, texture generation, biology of coat pigmentation in mammals.

# 1 INTRODUÇÃO

Poucos fenômenos da natureza conseguem ser mais impressionantes do que o processo pelo qual um ovo fecundado torna-se um indivíduo completo, ou seja, o processo de desenvolvimento do organismo. Desde a Antiguidade, esse mistério intrigou filósofos e pensadores, os quais desenvolveram suas hipóteses para explicar a formação dos seres vivos. Aristóteles defendeu a hipótese da epigênese, segundo a qual, ao invés de o organismo estar “pré-formado” (mas menor) desde o início, havia um gradual desenvolvimento das estruturas corpóreas – a hipótese correta, como se sabe hoje em dia (WOLPERT, 2008). E um dos resultados mais intrigantes desse processo é a formação de padrões periódicos, como as listras das zebras, as pintas do leopardo, os intrincados desenhos de certas espécies de borboletas, e muitos outros exemplos - a natureza está repleta de padrões (Fig. 1.1).

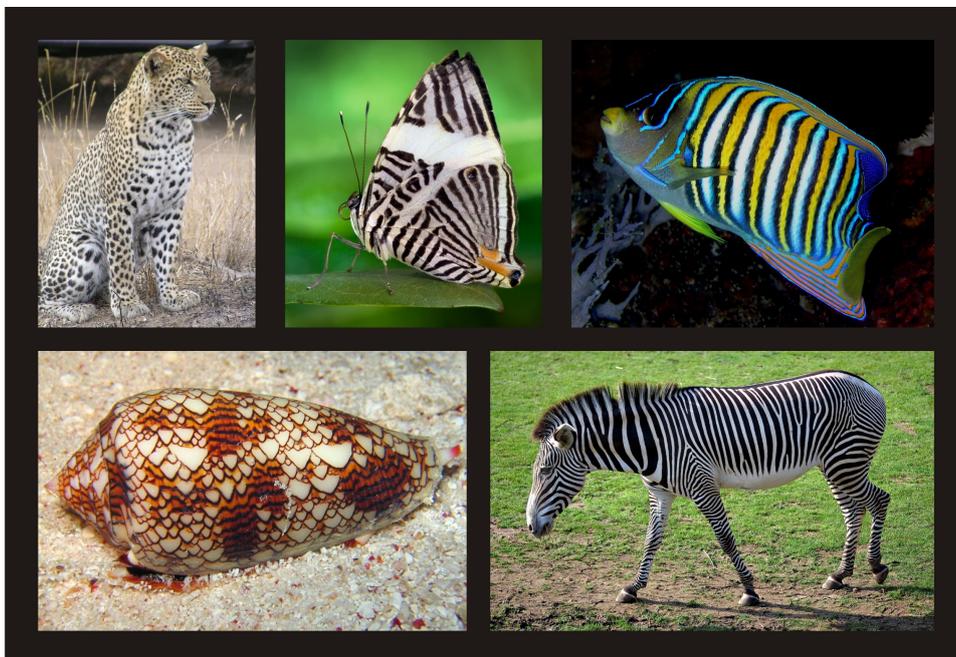


Figura 1.1: Exemplos de padrões encontrados em seres vivos; da esquerda para a direita, primeira linha: as pintas do leopardo, *Panthera pardus pardus*; o desenho da asa da borboleta *Colobura dirce*; as listras coloridas do peixe-anjo-real, *Pygoplites diacanthus*. Segunda linha: a concha do molusco gastrópode *Conus textile*; a pelagem listrada da zebra *Equus grevyi*. Fonte das imagens: Wikipédia, [http://en.wikipedia.org/wiki/Patterns\\_in\\_nature](http://en.wikipedia.org/wiki/Patterns_in_nature)

Dentre as várias hipóteses propostas para explicar como se dá a formação de padrões durante o desenvolvimento – que mecanismo sinaliza para o organismo onde produzir uma determinada estrutura ou para qual direção crescer -, estão os sistemas de reação-difusão (que são o tema deste trabalho), modelos baseados em informação posicional (algum mecanismo, como um gradiente de concentração de uma substância, sinaliza às células para reagir de uma determinada maneira dependendo de sua posição no tecido), modelos baseados em deformações mecânicas dos tecidos, modelos baseados em interações celulares e energia de adesão, e modelos baseados na oscilação sincronizada da expressão de determinados genes (MORELLI et al., 2012) (HELD, 1994) (KONDO; SHIROTA, 2009) (MURRAY, 2012).

Um sistema de reação-difusão consiste em um conjunto de equações diferenciais descrevendo a variação espacial e temporal de uma ou mais substâncias químicas. Estas substâncias são denominadas de morfógenos, ou seja, moléculas que afetam como o processo de desenvolvimento produz estruturas e padrões no organismo. Dependendo do valor dos parâmetros e de como se dá o funcionamento do modelo, é possível obter padrões espaciais estáveis - com uma notável similaridade àqueles encontrados no mundo biológico, particularmente padrões periódicos. Dentre estes, destacam-se os padrões de pigmentação e pelagem, que iremos focar em nosso trabalho.

Entretanto, a formação de estruturas e padrões se desenrola em um corpo que não apenas possui uma forma característica como também está em crescimento, isto é, sua forma muda no tempo. Uma simulação adequada do processo de formação de um padrão biológico deve, portanto, considerar a forma e o crescimento. Neste trabalho, pretendemos estudar como estes fatores podem influenciar no resultado final dos padrões de pelagem ou pigmentação quando gerados a partir de mecanismos de reação-difusão.

## 1.1 Objetivos

Os objetivos deste trabalho podem ser divididos em biológicos e computacionais, representando as áreas em cuja interface o trabalho se encontra.

Biologicamente falando, o objetivo do nosso trabalho é aumentar a compreensão a respeito de como a forma e o crescimento do corpo durante o desenvolvimento embrionário podem influenciar os padrões resultantes de processos de reação-difusão, especialmente quando estes processos visam a formação de padrões de pelagem. Como um objetivo secundário, pretendemos que nossos resultados reforcem a hipótese de que mecanismos baseados em reação-difusão (ou mecanismos que possam ser modelados de forma análoga) possam ser os responsáveis pelos padrões encontrados na pelagem de mamíferos, particularmente felinos.

Do ponto de vista computacional, desejamos solucionar o problema proposto de uma forma eficiente e com alta qualidade do resultado, em termos de similaridade com o padrão real, produzindo assim uma ferramenta virtual de simulação de processos de reação-difusão que possa ser utilizada como base para estudos de formação de padrões. Esta ferramenta deve permitir também a customização das simulações por parte do usuário, aumentando a quantidade de situações biologicamente relevantes que estejam dentro do escopo do nosso programa. Também desejamos que estas operações possam ser realizadas em uma interface gráfica *user-friendly*, embora este seja um objetivo secundário em relação aos outros citados.

## 1.2 Justificativas

Assim como outros processos de formação de padrão durante o desenvolvimento embrionário, processos de reação-difusão não se desenrolam em uma superfície retangular estática, mas na superfície de corpos tridimensionais que não apenas possuem formas complexas como também estão em constante crescimento. No entanto, embora exista uma enorme variedade de modelos de reação-difusão propostos na literatura, não existem muitos trabalhos a respeito do efeito da forma e do crescimento na produção dos padrões. Dentre estes trabalhos, a maioria estuda as propriedades matemáticas das equações que regem o sistema, e não há a simulação propriamente dita de como este se comportaria, ou esta simulação limita-se a casos unidimensionais e bidimensionais simples, como uma superfície retangular. No nosso trabalho, pretendemos confirmar, replicando resultados da literatura, e ampliar os experimentos computacionais existentes, visando corroborar (ou não) as hipóteses de comportamento de sistemas de reação-difusão quando restringidas a uma determinada forma ou ao crescimento da mesma.

Quanto aos padrões de pelagem em mamíferos, ainda não há um trabalho que comprove experimentalmente qual o mecanismo exato pelo qual ocorre a formação destes padrões, embora haja várias hipóteses, como as de Bard (BARD, 1981) e Murray (MURRAY, 1981a). As descobertas recentes de Kaelin (KAELIN et al., 2012) e Eizirik (EIZIRIK et al., 2010) sobre a genética e o desenvolvimento embrionário dos padrões encontrados em gatos domésticos e outros felinos (os chamados padrões *tabby*) lançaram uma nova luz sobre o que se conhece a respeito destes fenômenos biológicos. Simulações nesta área poderão ajudar a inferir que tipo de mecanismo molecular pode ser responsável pela formação dessas padrões, fornecendo pistas de que tipo de molécula (e conseqüentemente que tipo de gene) deve ser procurado nos experimentos de laboratório.

De forma mais geral, com a descoberta de evidências experimentais recentes favoráveis a hipóteses baseadas em reação-difusão para a formação de padrões (MAINI; BAKER; CHUONG, 2006) (MAINI, 2012) (KONDO; MIURA, 2010), o estudo desse tipo de sistema pode aumentar a compreensão não somente de como a natureza produz padrões no pelo e na pele dos organismos mas também da formação de outras estruturas produzidas no desenvolvimento embrionário. Com isso, talvez seja possível, em um futuro distante (ou nem tanto), criar métodos para prevenir a ocorrência de certos distúrbios do desenvolvimento, ou mesmo inventar formas de vida que estejam aptas a sobreviver a novas condições ambientais. Uma mudança no espaçamento entre penas ou pelos (fenômenos biológicos nos quais há evidências experimentais favoráveis à reação-difusão, conforme iremos mostrar mais adiante) poderá facilitar a adaptação de algumas espécies animais a ecossistemas pós-mudanças climáticas na Terra ou a habitats produzidos artificialmente na colonização de novos planetas com temperaturas diferentes da terrestre. Alterações nos padrões de pigmentação e pelagem poderão proporcionar uma ferramenta de sobrevivência via camuflagem a estas espécies. E, em um prazo mais próximo, ferramentas de simulação computacional poderão reduzir a necessidade de experimentos *in vivo*, reduzindo assim o uso de animais de laboratório, o que acreditamos ser positivo do ponto de vista ético.

### **1.3 Organização do Trabalho**

No Capítulo 2, de revisão da literatura, iremos apresentar uma revisão do que se conhece a respeito dos sistemas de reação-difusão. O capítulo seguinte (Cap. 3) apresenta a metodologia utilizada, descrevendo os programas e algoritmos desenvolvidos. Os resultados serão apresentados no Cap. 4, junto com uma breve explicação sobre eles e as conclusões mais imediatas.

No capítulo de discussão (Cap. 5), os resultados serão analisados e sua relevância tanto para o problema biológico dos padrões de pelagem quanto para o conhecimento do funcionamento de sistemas de reação-difusão será debatida.

Por fim, no capítulo de conclusão e trabalhos futuros (Cap. 6) iremos sintetizar o que pudemos concluir neste estudo e propor novas possibilidades de pesquisa para expandir o conhecimento a respeito dos temas do presente trabalho.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Introdução

Neste capítulo apresentaremos uma revisão sobre aspectos teóricos e aplicados dos modelos de reação-difusão, assim como dos processos biológicos envolvidos com a pigmentação da pelagem. Primeiro explicaremos algumas propriedades e características gerais dos sistemas de reação-difusão (seção 2.2), depois apresentaremos várias aplicações propostas a nível teórico (i.e., processos de formação de padrões para os quais a reação-difusão foi proposta como uma hipótese explicativa de seu funcionamento), seguido de evidências experimentais recentes de que de fato estes modelos podem ser úteis na explicação de certos fenômenos biológicos (seção 2.3). Como o nosso trabalho propõe a reação-difusão como hipótese para os padrões de pelagem, mostraremos um resumo do que se conhece sobre a biologia da pigmentação dos padrões de pelagem em mamíferos e, após, alguns dos modelos que consideramos mais relevantes para o nosso trabalho (seções 2.4 e 2.5, respectivamente). Este capítulo termina com alguns resultados interessantes de simulações para o sistema de equações que utilizamos em nosso trabalho (seção 2.6) e, por fim, do que se conhece a respeito do problema central de nosso estudo - o efeito da forma e do crescimento sobre os padrões resultantes.

### 2.2 Funcionamento dos Sistemas de Reação-Difusão

Os sistemas de reação-difusão<sup>1</sup> foram propostos originalmente pelo matemático e pioneiro da computação Alan Turing no seu clássico artigo de 1952, *The Chemical Basis of Morphogenesis* (TURING, 1952). De acordo com estes modelos, o padrão é gerado por uma maior ou menor concentração de determinadas substâncias químicas em certas regiões do corpo do embrião, denominadas morfógenos – isto é, “produtores de forma”. Estas substâncias são produzidas (e consumidas) a nível local através de reações químicas, ao passo que a difusão se encarrega de espalhar os químicos pela região considerada (podendo ser o corpo de um embrião, um órgão em desenvolvimento ou o interior de uma célula, por exemplo). Tais mecanismos podem ser modelados matematicamente via um sistema de equações diferenciais, como a eq. 2.1, que mostra um modelo simples de reação-difusão genérico com dois morfógenos. Cada ponto da área na qual se processa o mecanismo de reação-difusão possui seus próprios valores para a concentração dos morfógenos ( $a$  e  $b$ , no caso), o qual varia no tempo  $t$  para este ponto. Na primeira

---

<sup>1</sup>Como complemento a esta seção, uma introdução bastante acessível às simulações de sistemas de reação-difusão, requerendo apenas conhecimentos básicos das fórmulas do Microsoft Excel, é o artigo de Miura e Maini (MIURA; MAINI, 2004); recomendamos a leitores com menor *background* matemático que consultem este artigo e realizem a simulação simples presente no mesmo.

equação, o termo  $f(a, b)$  representa as reações produtoras e consumidoras do morfógeno  $a$ , ao passo que  $D_a \nabla^2 a$  é a difusão desta substância, sendo  $D_a = cte$  o coeficiente de difusão (análogo para  $b$  na segunda equação).

$$\frac{\partial a}{\partial t} = f(a, b) + D_a \nabla^2 a \quad (2.1a)$$

$$\frac{\partial b}{\partial t} = g(a, b) + D_b \nabla^2 b \quad (2.1b)$$

Tal sistema, embora inicialmente homogêneo em termos das concentrações dos morfógenos, ao sofrer algum tipo de perturbação aleatória – algo bastante plausível em processos biológicos – sai desse estado inicial de equilíbrio para chegar a um novo estado, o qual pode ser um estado estacionário<sup>2</sup>, um estado oscilatório<sup>3</sup> ou mesmo um novo estado homogêneo – dependendo da forma das equações e dos valores dos parâmetros destas. A instabilidade apresentada pelo equilíbrio inicial é, de acordo com James D. Murray (ARCURI; MURRAY, 1986), causada pela presença da difusão, sendo chamada apropriadamente de “instabilidade causada por difusão” (*diffusion-driven instability*). A figura 2.1 mostra um exemplo de evolução no tempo de um sistema desses. Para uma análise mais detalhada da estabilidade e do comportamento das equações de sistemas de reação-difusão, consulte (MURRAY, 1981a), (BARD; LAUDER, 1974), (MURRAY, 1993) ou (ARCURI; MURRAY, 1986).

Um importante conceito para o estado de padrões gerados por mecanismos de reação-difusão é o *Comprimento de Onda Químico* (TURING, 1952). Sistemas de reação-difusão unidimensionais podem gerar padrões similares ao gráfico de uma função ondulatória, e portanto podem possuir um comprimento de onda. O comprimento de onda químico corresponde aproximadamente ao tamanho de cada “onda” nesses casos, isto é, o tamanho de cada região onde há uma maior concentração local de um dos morfógenos; para um caso bidimensional onde há formação de pintas, o comprimento de onda químico pode ser interpretado como o tamanho de cada uma das pintas.

Segundo Hans Meinhardt (MEINHARDT, 2012), nem todo sistema de equações de reação-difusão apresentará a capacidade de formação de padrões. Para que isso ocorra, é necessário que o sistema apresente duas características: 1) auto-reforço local (*local self-enhancement*), isto é, uma reação de formação dos morfógenos catalisada por um deles, conhecido como ativador; e 2) inibição de longo-alcance (*long-range inhibition*), isto é, que outro morfógeno, o inibidor, seja catalisador de uma reação que de alguma forma reduza a quantidade de morfógenos (ou ao menos do ativador) – com um detalhe fundamental: o morfógeno do tipo inibidor deve possuir uma constante de difusão maior que o ativador, o que fará as moléculas daquele percorrerem uma distância maior na região de formação do padrão (daí o longo alcance). Nesse contexto, os fenômenos de auto-catálise<sup>4</sup> e catálise cruzada (*cross-catalysis*)<sup>5</sup> estão presentes dentro das reações

<sup>2</sup>O estado estacionário é um estado de um sistema no qual o valor de uma determinada variável varia no espaço, mas, para um determinado ponto, não varia no tempo. O equilíbrio, em comparação, é um estado no qual esta variável atinge o mesmo valor invariante tanto no espaço quanto no tempo (todos os pontos terão o mesmo valor, o qual se manterá constante com o passar do tempo).

<sup>3</sup>Onde uma região ou ponto apresenta variação no tempo de suas concentrações.

<sup>4</sup>Quando um dos produtos gerados é um catalisador da própria reação, aumentando a velocidade desta conforme o produto vai sendo gerado.

<sup>5</sup>Por exemplo, quando uma reação 1 gera um produto que vai catalisar uma reação 2, cujo produto catalisa a reação 1.

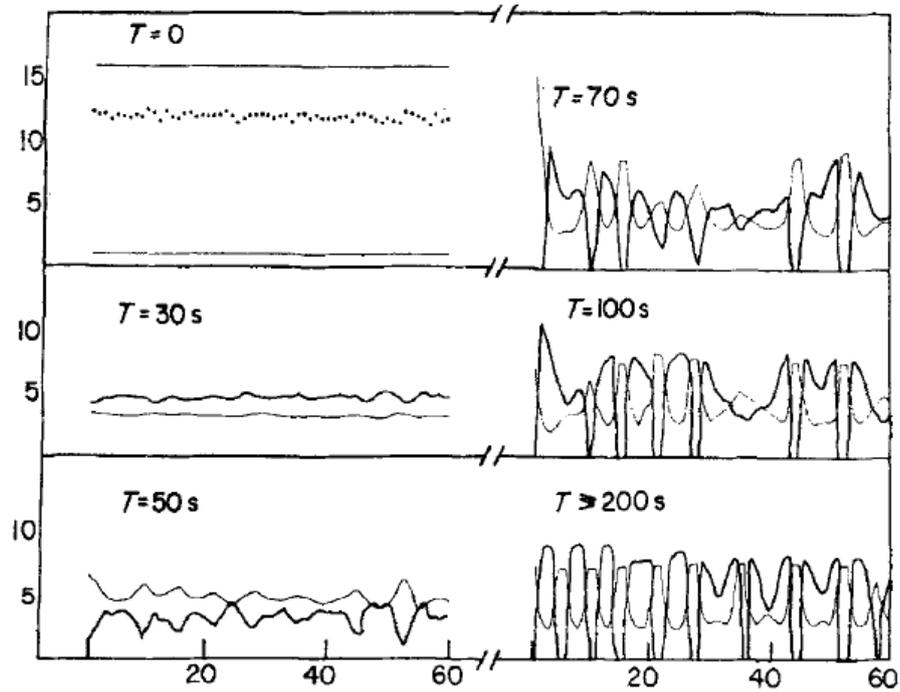


Figura 2.1: Evolução de um sistema de reação-difusão no tempo  $T$ , em termos da concentração dos morfógenos  $a$  e  $b$ . As equações utilizadas para este sistema foram as equações 2.7, que serão estudadas com mais detalhamento na seção 2.6. Os traços pontilhados representam a concentração do evocador ( $\beta$ , consulte a seção 2.6 para mais detalhes), os traços mais finos o morfógeno  $a$ , e os traços grossos o morfógeno  $b$ . Fonte: (BARD; LAUDER, 1974).

do sistema de reação-difusão (GIERER; MEINHARDT, 1972). No entanto, nem todos os modelos de reação-difusão possuem claramente morfógenos que assumam os papéis de “ativador” ou “inibidor” - o mecanismo pelo qual a concentração deles aumenta ou diminui pode se dar de diversas formas (via aumento/redução da taxa de produção, transformação de um morfógeno em outro, degradação catalisada por um dos morfógenos etc.). A figura 2.2 mostra um exemplo de sistema de reação-difusão do tipo ativador-inibidor, estudado por Kondo (KONDO; MIURA, 2010).

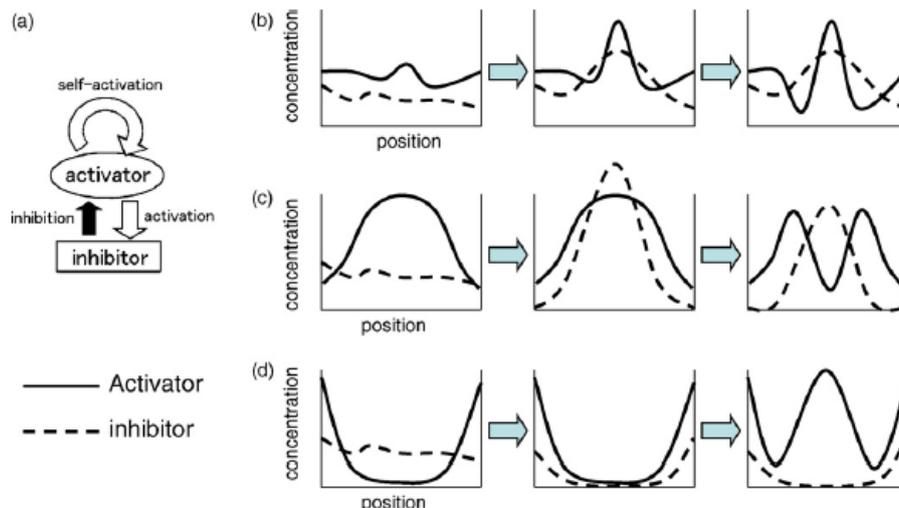


Figura 2.2: Exemplo de um modelo de ativador-inibidor, proposto por Meinhardt. Neste modelo, o ativador é capaz tanto de aumentar sua própria concentração quanto a do inibidor, ao passo que este último reduz a concentração do primeiro (esquema (a)). As imagens (b), (c) e (d) mostram os resultados do processo para um sistema unidimensional. Graças à ativação em curta distância e à inibição em longa, os morfógenos de mesmo tipo tendem a se concentrar, formando “picos” de alta concentração separados por “vales” de baixa concentração. Nesta imagem, é possível visualizar o comprimento de onda das variações espaciais de concentração (picos e vales formam “ondas” de concentração). Fonte das imagens: (KONDO; MIURA, 2010)

Em um trabalho mais recente, Kondo (ver o material suplementar de (KONDO; MIURA, 2010)) apresenta uma interpretação alternativa de sistemas de reação-difusão, com base em conhecimentos biológicos posteriores ao período no qual Turing propôs o modelo. No mecanismo proposto por Kondo, as células liberam as moléculas correspondentes aos morfógenos, e possuem receptores para os mesmos. Ao se ligarem com estes receptores, os morfógenos desencadeiam uma cascata de sinalização interna à célula, a qual irá, através da mudança na expressão gênica, afetar a produção e a liberação dos morfógenos.

Modelos do tipo reação-difusão podem ser classificados como modelos que geram “pré-padrões”, de acordo com a classificação proposta por Held (HELD, 1994) para os modelos que visam a explicar a formação de padrões no desenvolvimento embrionário. Nestes modelos, em algum ponto do desenvolvimento as células recebem alguma forma de sinal (no caso da reação-difusão, um sinal químico) que indica para qual estado ela vai (que tipo de célula ela irá se tornar - diferenciação celular -, se ela irá se replicar em uma dada velocidade ou direção, se expressará um dado gene etc.).

De acordo com Bard e Lauder (BARD; LAUDER, 1974), padrões no desenvolvimento embrionário podem ser classificados em duas categorias: regulativos e mosaicos (ver Fig. 2.3). Padrões regulativos são invariantes em relação ao tamanho da região onde são desenvolvidos, isto é, se essa região for seccionada em partes menores, as partes tenderão a desenvolver, cada uma delas, uma versão menor do padrão total da região original. Alguns exemplos desse fenômeno incluem a regeneração em animais como a hidra e a planária, onde cada pedaço de um animal seccionado desenvolve-se em um novo animal completo, ou a produção de gêmeos univitelinos a partir da divisão de um embrião de duas células em dois, algo que pode ser observado experimentalmente nas larvas de ouriços do mar (WOLPERT, 2008). Um exemplo de modelo com estas propriedades é o modelo de informação posicional, onde as posições das células relativas à região total determinarão a formação ou não de estruturas; num padrão de listras que seja invariante em relação ao tamanho, ao haver um aumento da estrutura, as listras aumentarão em tamanho mas não em número (no famoso exemplo da Bandeira Francesa, não importa o tamanho do retângulo utilizado para desenhá-la, deverão haver três trechos de mesmo comprimento, correspondentes às faixas azul, branca e vermelha da bandeira) (HELD, 1994). Esses padrões são também chamados de *size-invariant*, isto é, invariantes em relação ao tamanho, e aqui o comprimento de onda varia conforme o tamanho, para permitir a invariância da proporção de cada elemento em relação ao todo. Em uma comparação com *softwares* de edição de imagem (como o Photoshop ou Paint.Net), este tipo de sistema comporta-se como comandos de redimensionamento de imagem, que esticam ou achatam a imagem existente ao mudar o seu tamanho.

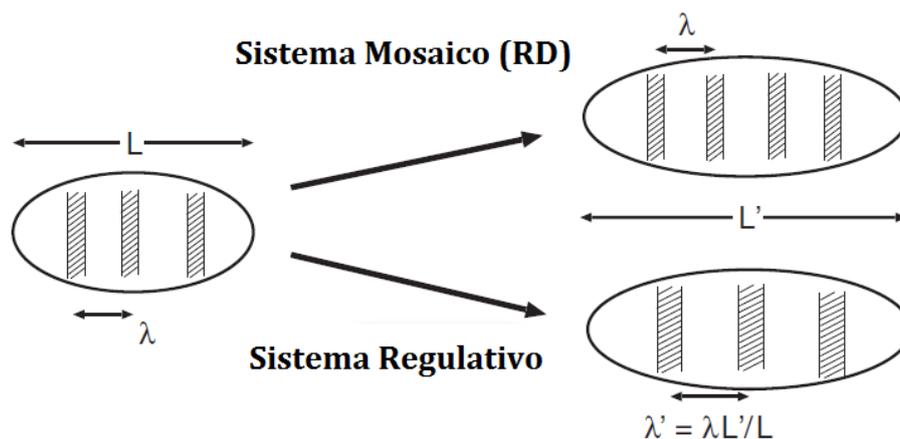


Figura 2.3: Sistemas apresentando padrões do tipo mosaico e regulativo. No sistema mosaico, o comprimento de onda,  $\lambda$ , é constante e não varia quando há uma mudança no tamanho da região na qual se processa a reação-difusão. Já sistemas regulativos preservam a proporção de cada elemento do padrão em relação ao tamanho total, e nesse caso o comprimento de onda, representando o tamanho de cada elemento, precisará se reajustar à nova situação. As regiões possuem comprimento inicial igual a  $L$  e final igual a  $L'$ . Fonte da imagem: (ISHIHARA; KANEKO, 2006)

Já os padrões mosaicos não são invariantes ao tamanho, e as regiões seccionadas são incapazes de se recriarem como uma original completa. Um exemplo óbvio é o observado na maioria dos órgãos de organismos adultos, que não possuem as habilidades regenerativas do embrião. Outro exemplo são as listras encontradas em peixes tropicais (KONDO; MIURA, 2010), pois nestes animais um aumento do tamanho corpóreo leva a um maior número de listras, e não ao mesmo número de listras de maior tamanho. De forma geral, manchas, pintas e outros padrões nos quais não há necessidade de um posicionamento exato de cada estrutura, mas sim de algum grau de periodicidade, podem ser classificados como padrões do tipo mosaico - inclusive padrões de pelagem. Esses padrões são também chamados de *size-dependent*, isto é, dependentes em relação ao tamanho. O comprimento de onda das estruturas é constante e independe do tamanho (o que é dependente em relação ao tamanho é a quantidade de estruturas, ou seja, o padrão gerado). Na metáfora comparativa com os programas de edição de imagem, sistemas mosaico são os comandos de mudança de tamanho da tela (*canvas* do Photoshop), nos quais a mudança da área total que pode ser desenhada na tela não afetará os elementos gráficos já existentes.

Mecanismos de reação-difusão típicos seriam apropriados apenas para explicar padrões do tipo mosaico, uma vez que a mudança do tamanho da região afeta apenas o número de estruturas (pintas ou listras), e não o seu tamanho (BARD; LAUDER, 1974). No entanto, o modelo de Gierer e Meinhardt (GIERER; MEINHARDT, 1972) pode apresentar invariância em relação ao tamanho (mais detalhes sobre este modelo na seção 2.5). Em um artigo mais recente, Ishihara e Kaneno (ISHIHARA; KANEKO, 2006) postularam uma série de mecanismos pelos quais um modelo de reação-difusão poderia apresentar resultados proporcionais ao tamanho, isto é, nos quais o comprimento de onda químico varia conforme o tamanho total do órgão, corpo ou estrutura na qual se processa a formação do padrão. Para tanto, seria necessário que a concentração de um ou mais morfógenos seja de alguma forma função do tamanho total (p. ex., um morfógeno que não sofre produção nem degradação conforme o corpo aumenta de tamanho, ou que é produzido em todo o sistema mas degradado apenas em suas bordas, gerando uma produção proporcional ao cubo do comprimento, isto é, seu volume, mas uma degradação proporcional a seu quadrado, ou seja, a área de sua superfície). Isto mostra que sistemas de reação-difusão são aplicáveis a uma ampla variedade de situações, como veremos na próxima seção.

### **2.3 Aplicações Teóricas e Experimentais dos Modelos de Reação-Difusão**

Sistemas de reação-difusão foram propostos como explicação para uma série de fenômenos de formação de padrões biológicos, como o estabelecimento do eixo cabeça-base da hidra (GIERER; MEINHARDT, 1972), a formação dos sulcos e dobras na superfície do cérebro durante o desenvolvimento (LEFÈVRE; MANGIN, 2010) e colunas de dominância ocular no córtex visual (regiões nas quais a maioria dos neurônios recebem informação de um dos olhos, mas alguns recebem de outro) (SWINDALE, 1980), por exemplo. Estes modelos encontraram aplicações até mesmo nas ciências criminais, para explicar o comportamento espacial de regiões de alta criminalidade em cidades (SHORT et al., 2010).

Como sistemas de reação-difusão são altamente hábeis em gerar padrões periódicos, não surpreende seu uso como hipótese para a formação de padrões de pigmentação em vários tipos de plantas e animais, como os intrincados padrões encontrados em asas de bor-

boletas (MURRAY, 1981b), as manchas de peixes tropicais (KONDO; MIURA, 2010) e no *zebrafish*<sup>6</sup> (WATANABE; KONDO, 2012), e os padrões de pelagem em mamíferos (MURRAY, 1981a) (BARD, 1981). Dentre estes últimos, destacam-se as pintas encontradas em felinos e as listras das zebras (BARD, 1977); Bard apresenta uma hipótese baseada em reação-difusão para explicar as diferenças nos padrões de listras entre as espécies de zebras (Fig. 2.4).

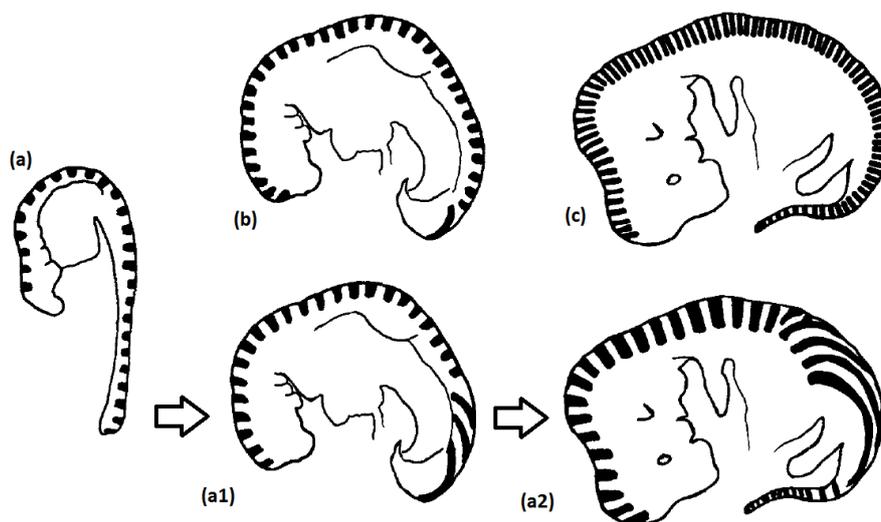


Figura 2.4: Hipótese de Bard para o desenvolvimento das listras nas diferentes espécies de zebras. Em (a), (b) e (c), embriões de diferentes espécies de zebra são mostrados no estágio em que ocorre a formação do padrão (ou pré-padrão), resultando em diferentes quantidades de listras (mas com o mesmo espaçamento entre elas). Em (a1) e (a2), é mostrado também o crescimento do embrião da espécie (a) até as idades nas quais as outras espécies adquirem o padrão. Fonte da imagem: (BARD, 1977).

A teoria de Bard afirma que há a formação, no embrião, de um pré-padrão (a pigmentação aparece numa etapa mais avançada do desenvolvimento) via reação-difusão, no qual as “pré-listras” possuem o mesmo tamanho inicial e espaçamento em todas as espécies de zebra; contudo, o momento no qual esse processo ocorre varia entre três a cinco semanas, conforme a espécie, o que leva a diferentes quantidades de listras (espécies mais precoces formam menos listras). O processo se encerra após alguns dias; a partir desse ponto, com o crescimento de certas áreas do corpo, as zonas “marcadas” como pretas ou brancas sofrem distorções e alargamentos em suas superfícies, produzindo, ao final, diferentes tamanhos e formas das listras no animal adulto. Para estimar o tempo de formação das “pré-listras”, Bard comparou o tamanho de zebras adultas com o de embriões de cavalo em diferentes tempos de gestação, “revertendo” o crescimento do animal até o ponto do embrião no qual, partindo de um mesmo espaçamento inicial para todas as espécies de zebra, um sistema de reação-difusão daria origem ao pré-padrão de listras que gerariam o padrão do animal adulto. A teoria de Bard permite explicar através de reação-difusão padrões de pelagem que, durante o crescimento após o nascimento, não sofrem mudança no número das estruturas, apenas no tamanho delas (algo que os modelos de reação-difusão

<sup>6</sup>Também conhecido como peixe-zebra, paulistinha e bandeirinha, é um pequeno peixe ósseo bastante popular entre os praticantes da aquariorfilia, e também um importante organismo-modelo para aplicações que variam da área da saúde humana até a filogenia, passando pelo estudo dos padrões de pigmentação.

padrão proibem, pois são do tipo mosaico ou dependente em relação ao tamanho), postulando que após o processo de formação do pré-padrão ser executado, seus resultados são “gravados” pelas células e a partir daí suas descendentes herdarão esse estado (no caso, a presença ou ausência de pigmento).

Apesar dessa grande variedade de hipóteses explicativas usando reação-difusão, durante muito tempo não foram encontrados sistemas biológicos que de fato se comportem, a nível microscópico (i.e., no sentido de apresentarem substâncias químicas que se comportem tais como o modelo previa, ao invés de simplesmente apresentarem resultados macroscópicos similares), como estes tipos de modelo, o que foi uma das principais críticas contra eles. Os primeiros sistemas experimentais que se comportavam de forma similar aos de reação-difusão foram sistemas químicos inorgânicos, como as reações de Belousov–Zhabotinsky (NICOLIS; WIT, 2007), nas quais a concentração dos químicos aparenta comportamento oscilatório, e podem gerar padrões espaciais devido ao balanço entre difusão e reação dos reagentes (ZHABOTINSKY, 2007). As primeiras evidências experimentais na área biológica surgiram com os trabalhos de Jung e colegas a respeito de como o espaçamento de penas de aves (JUNG et al., 1998) é afetado pela concentração de determinadas proteínas, ou seja, morfógenos. Outro marco importante nesta área foram os trabalhos de Sick e colegas sobre o padrão de espaçamento de folículos capilares no camundongo (com o nível de expressão das proteínas Dkk e Wnt cumprindo o papel dos morfógenos) (SICK et al., 2006). Um trabalho recente envolvendo a formação dos dedos de camundongos sugere que mecanismos similares à reação-difusão podem estar envolvidos - pois procedimentos de *knockout* de genes<sup>7</sup> foram capazes de aumentar ou diminuir o número de dedos produzidos sem aumentar o tamanho da pata - o comportamento esperado em um padrão “mosaico”, como o gerado por sistemas de reação-difusão (ARNEY, 2014).

Os trabalhos de Kondo (KONDO; MIURA, 2010) com as manchas e listras de peixes, envolvendo tanto simulações quanto experimentos *in vivo* no *zebrafish*, são um marco importante para a interface entre teoria e evidência empírica; neste peixe, os padrões de listras são produzidos a partir da interação entre as células produtoras de pigmento preto (melanóforos) e pigmento amarelo (xantóforo). O experimento realizado por Kondo consistiu em realizar ablações a laser de trechos de algumas das listras escuras do peixe, com coloração produzida via melanóforos; ao invés de regenerar as listras à situação anterior ou de manter os “buracos”, há uma movimentação nas listras que não sofreram ablação de forma, formando uma curva que preenche a região sem pigmento - e tal resultado condiz com as simulações de reação-difusão (Fig. 2.5). Acredita-se que tal fenômeno deva-se a interações de inibição mútua entre as células (inibição de curto alcance) e à movimentação ou reprodução dos melanóforos (ativação de longo alcance). Um trabalho posterior da equipe de Kondo, também envolvendo o *zebrafish*, produziu, a partir de experimentos envolvendo mutações e alterações na expressão do gene *conexina41.8* (*connexin41.8*), uma ampla gama de padrões de pigmentação - listras, pintas e toda uma sorte de manchas intermediárias (WATANABE; KONDO, 2012). Digno de nota é o fato de muitos destes padrões estarem presentes em variedades naturais do peixe, o que indica que o fato do mecanismo ser capaz de gerar vários tipos de manchas a partir de mutações genéticas relativamente pequenas pode ter uma importância evolutiva.

Um interessante trabalho com uma abordagem diferente à aplicação de reação-difusão em questões biológicas é o trabalho de Allen e colegas (ALLEN et al., 2011), relacionando o tipo de padrão de pelagem de cada espécie de felídeo com sua ecologia (seu habitat

---

<sup>7</sup>O bloqueio da expressão de determinados genes de forma a torná-los não-funcionais.

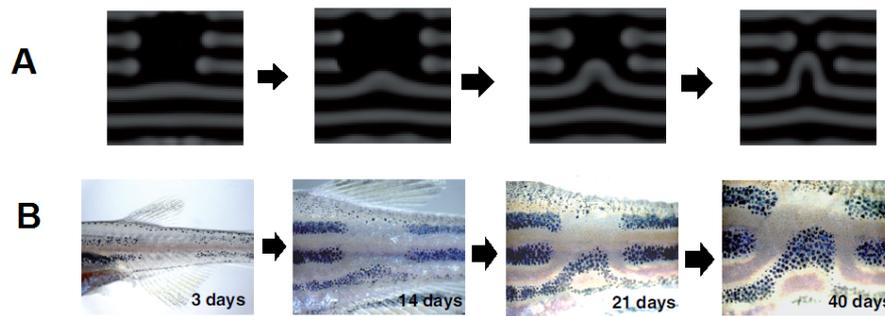


Figura 2.5: Mudança do padrão de pigmentação em *zebrafish* após destruição dos melanóforos (células produtoras do pigmento preto em peixes) via ablação com laser. Observa-se a similaridade da previsão via modelos computacionais de reação-difusão (A) com o fenômeno de reconstrução das listras observado experimentalmente (B). Fonte da imagem: (KONDO; MIURA, 2010).

natural, se é uma espécie notívaga ou diurna, e se prefere se locomover pelo solo ou pelas árvores). Neste trabalho, o modelo de reação-difusão não é aplicado com o intuito de explicar como se formam as manchas dos felídeos, mas tão somente como forma de gerar padrões com alta fidelidade ao observado no animal para uma comparação posterior utilizando métodos de análise de imagens. Um resultado curioso encontrado por eles é que há pouca correlação entre a proximidade filogenética e os padrões de pelagem das diversas espécies de felinos, sugerindo que um único mecanismo é capaz de gerar toda a gama de listras e pintas observados nesta família de carnívoros (e possivelmente em outras famílias também).

Além de questões biológicas e reações químicas oscilatórias, deve-se notar que a reação-difusão encontra aplicações em computação gráfica, como mecanismo de geração de texturas com padrões que sejam similares aos encontrados na natureza, visando aumentar o realismo das imagens geradas. Para estas aplicações, a plausibilidade biológica do mecanismo é secundária, e o que importa é tão somente se ele gera padrões que sejam similares aos biológicos. Turk (TURK, 1991) produziu modelos de animais tridimensionais com textura de superfície gerada via reação-difusão, obtendo resultados consideravelmente similares aos encontrados na natureza. Outro exemplo de trabalho nessa área é o trabalho de Lo e colegas (LO et al., 2007), que inclui, dentre outras simulações, o efeito de deformações das superfícies 3D nas quais o sistema se processa. Em ambos os trabalhos, a forma possui um efeito fundamental para a formação do padrão final.

## 2.4 Biologia da Pigmentação dos Padrões de Pelagem em Mamíferos

Iremos agora revisar brevemente o que se conhece a respeito dos mecanismos biológicos relacionados à pigmentação dos pelos e da organização dos padrões de pelagem em mamíferos; para mais informações, consulte (JACKSON, 1991) sobre os processos biológicos envolvendo a coloração de pelagem em camundongos. Após, falaremos brevemente sobre algumas das descobertas recentes mais relevantes a respeito dos padrões *tabby* em felinos (listras, pintas, manchas e pontilhados).

### 2.4.1 Biologia da Pigmentação da Pelagem em Mamíferos

A coloração dos pelos ocorre devido à presença do pigmento melanina nos mesmos. Existem duas variantes desta molécula: a **eumelanina**, que produz uma coloração preta ou amarronzada, e a **feomelanina**, que gera uma cor avermelhada ou alaranjada. Estes pigmentos são produzidos e injetados nos pelos por células chamadas de melanócitos, que se localizam na base dos mesmos.

Durante o desenvolvimento embrionário, as células precursoras dos melanócitos, os melanoblastos, são formadas na crista neural (um conjunto de células migratórias e multipotentes<sup>8</sup> derivadas do revestimento do tubo neural, estrutura que dará origem posteriormente ao sistema nervoso central, incluindo a medula espinhal e o cérebro), a partir da qual migram por caminhos dorso-ventrais (rentes à epiderme<sup>9</sup>), se distribuindo pela derme<sup>10</sup> no corpo do animal (Fig. 2.6). Mutações nos genes cujas proteínas codificadas coordenam esse movimento costumam levar a animais com pouco ou nenhum pigmento (e eventualmente com problemas neurológicos por não conseguir realizar a migração ou a diferenciação de outras células da crista neural); mutação em um destes genes causa o piebaldismo, que é a presença de várias partes do corpo sem pigmento, como nos gatos preto-e-branco ou em certas raças de vacas e cavalos.

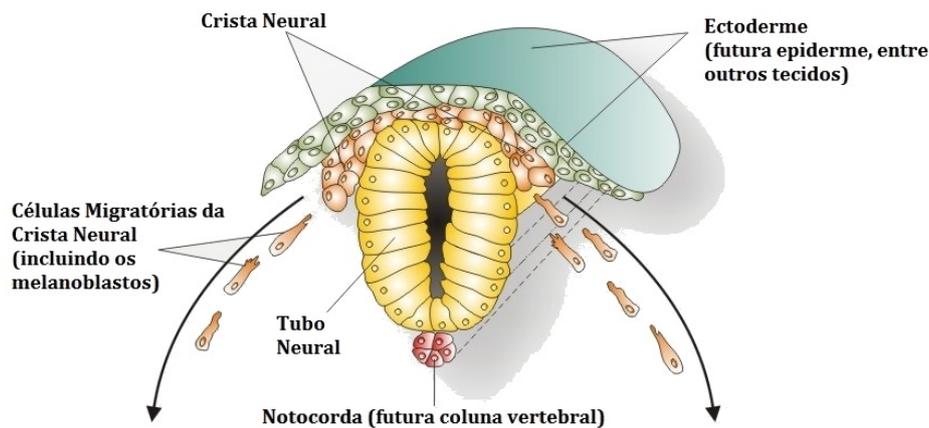


Figura 2.6: Representação da migração dos melanoblastos e outras células migratórias provenientes da crista neural. Os melanoblastos migram por caminhos rentes aos tecidos que futuramente darão origem à epiderme, isto é, à camada externa da pele, se distribuindo pela derme (a camada da pele abaixo da epiderme). Imagem adaptada de: <http://web.biologie.uni-bielefeld.de/cellbiology/index.php/research/neural-crest-derived-stem-cells>

Alguns dos melanócitos que se espalham pela derme atingem a base dos pelos, o bulbo capilar, e começam a produzir e injetar pigmento no mesmo – o qual pode ser tanto eumelanina quanto feomelanina. Por *default*, será produzida feomelanina (vermelho/amarelo);

<sup>8</sup>Células embrionárias capazes de se diferenciar, isto é, se transformar, em diferentes tipos de células adultas.

<sup>9</sup>Camada superficial da pele, que está em contato com o meio externo.

<sup>10</sup>Camada intermediária da pele, abaixo da epiderme.

haverá a troca para eumelanina (preto/marrom) caso seja ativada a sinalização do hormônio estimulador de melanócitos,  $\alpha$ -MSH (*Melanocyte-stimulating hormone*), que ocorre quando ele se liga ao receptor de melanocortina (MC1R), proteína que se encontra na membrana dos melanócitos. No entanto, outra molécula, o peptídeo sinalizador aguti, possui função inibitória sobre esse receptor, impedindo a sinalização do MSH e revertendo a produção de pigmento para eumelanina.

Tipicamente, camundongos não mutantes (Fig. 2.7) para os genes envolvidos nesse mecanismo de sinalização apresentam ambos os pigmentos no pelo: eumelanina preta e feomelanina amarela formando bandas de diferentes cores no pelo (Fig. 2.8). Isso ocorre devido à natureza oscilante da sinalização do peptídeo aguti, havendo então ciclos de ativação e inibição da sinalização do MSH. Mutantes apresentam uma gama de cores, indo do totalmente preto ao totalmente amarelo. Nota-se que este tipo de padrão é bastante comum entre os mamíferos, indicando uma provável vantagem evolucionária em certos ambientes devido à camuflagem (Fig. 2.9).



Figura 2.7: Camundongo (*Mus musculus*), apresentando a típica pelagem aguti, nos quais os pelos com bandas produzem a impressão de um pelo “pontilhado”. Fonte da imagem: [http://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Mus\\_musculus](http://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Mus_musculus)

Ambos os tipos de melanina são produzidos a partir do aminoácido tirosina. O primeiro passo na rota de síntese destes compostos é a reação catalisada pela enzima tirosinase, que transforma a tirosina em dihidroxifenilalanina (DOPA); mutantes para o gene que codifica esta enzima costumam apresentar albinismo (ausência de pigmentos). Algumas das mutações deste gene levam a pigmentações intermediárias, enquanto outras geram o chamado padrão himalaia (encontrado, por exemplo, em gatos das raças siamês, himalaia, birmanês e tonquinês, como o siamês da Fig. 2.10), no qual a proteína é sensível à temperatura (o que leva o animal a apresentar pelo branco em todo o corpo exceto nas extremidades mais frias, que conseguem sintetizar a melanina). Após este primeiro passo, as rotas de ambos os pigmentos (Fig. 2.11) acabam por divergir, dependendo de diferentes enzimas para a sua síntese.

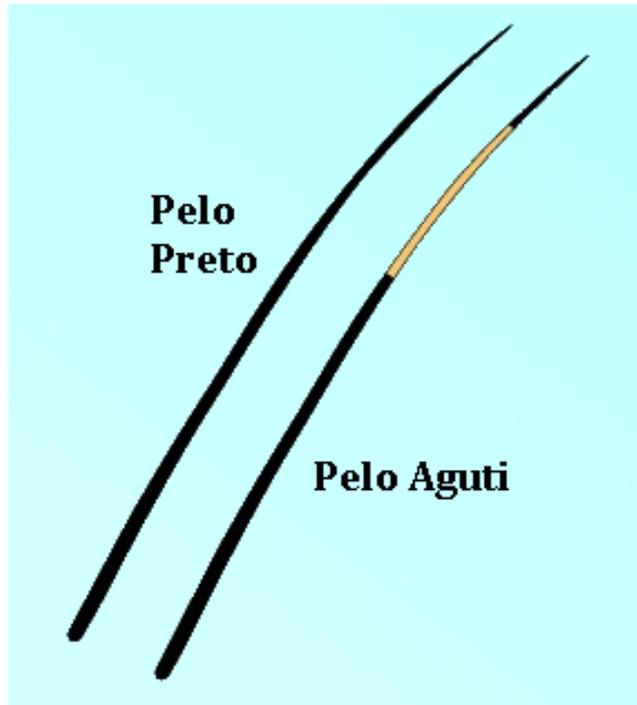


Figura 2.8: Pelo de animal com pelagem aguti, em comparação com um pelo de pigmentação única. Observa-se que o pelo apresenta bandas de diferentes cores, produzidas pela deposição de diferentes pigmentos durante cada etapa do seu crescimento. Imagem adaptada de: <http://agoutidreamsiberians.webs.com/agoutigenotypeperesearch.htm>



Figura 2.9: Pelagem aguti de gato da raça abissínia (*Felis catus*), mostrando o padrão pontilhado aguti típico, apropriado para camuflagem junto à vegetação rasteira. Fonte da imagem: <http://pictures-of-cats.org/abyssinian-cat.html>



Figura 2.10: Gato doméstico (*Felis catus*) da raça siamesa, a qual apresenta pigmentação apenas nas pontas do corpo, mais frias, devido à enzima tirosinase ser sensível à temperatura nestes animais. Fonte da imagem: [http://en.wikipedia.org/wiki/Cat\\_coat\\_genetics](http://en.wikipedia.org/wiki/Cat_coat_genetics)

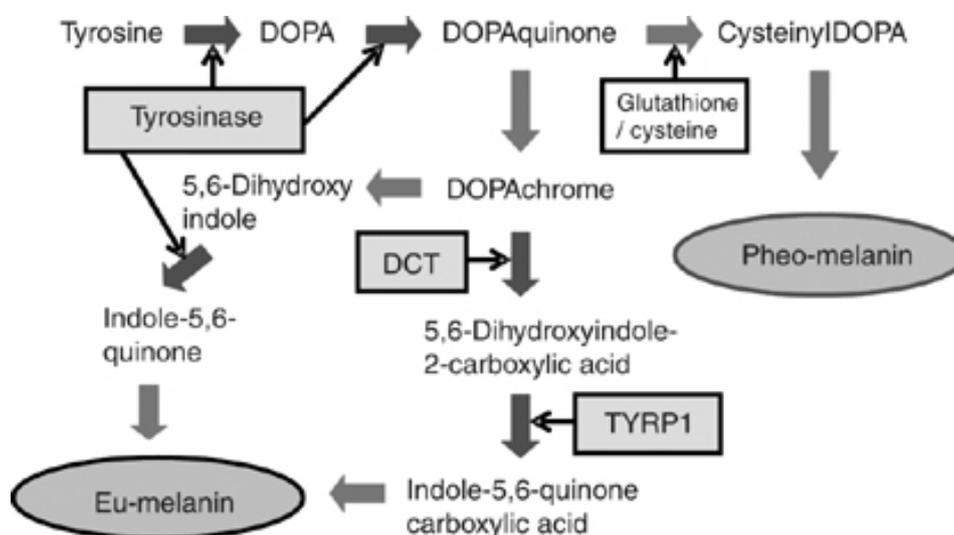


Figura 2.11: Rota bioquímica da síntese de eumelanina e feomelanina, iniciando pela transformação desta em DOPA pela enzima tirosinase e, alguns passos depois, na divergência da rota dos dois pigmentos. Mutações nos genes que codificam estas enzimas podem levar a diferentes tons de cores na pelagem dos animais. Fonte da imagem: <http://cosmeticinsight.blogspot.com.br/2014/06/coenzyme-q10-molecule-with-multi.html>

Dentro dos melanócitos, a melanina é produzida em organelas conhecidas como melanossomas (Fig. 2.12). Após a produção, estas organelas se deslocam dentro da célula através de dendritos, estruturas análogas a um “apêndice” da célula, até serem secretadas no exterior e depositadas na raiz do pelo, determinando a coloração do mesmo conforme ele cresce. Animais capazes de produzir o peptídeo aguti e apresentam sua sinalização de forma oscilante geram pelos com bandas (o pelo aguti) porque o tipo de pigmento depositado nos melanossomas alterna-se periodicamente durante o período de crescimento do pelo.

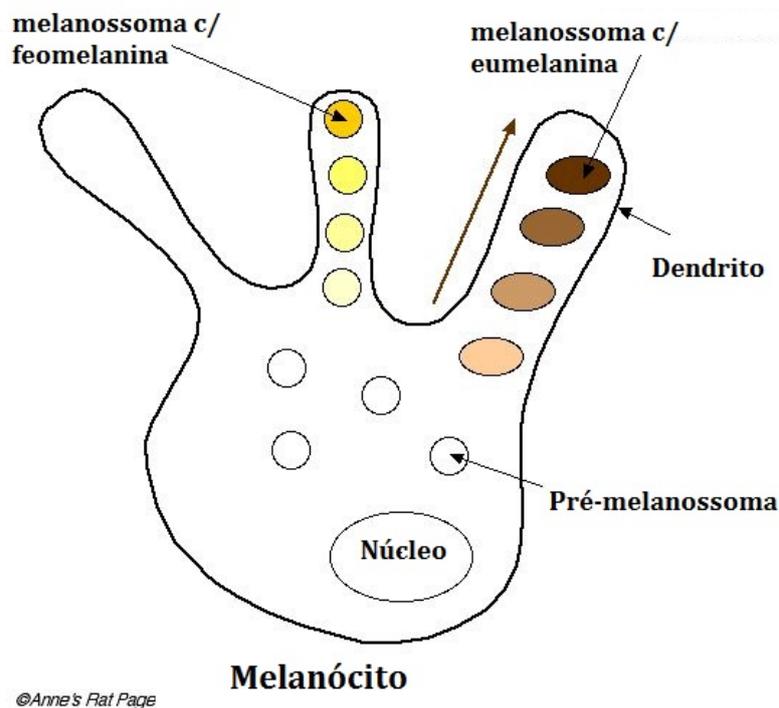


Figura 2.12: Melanócito localizado no folículo capilar contendo melanossomas, pequenas “bolsas” contendo eumelanina e feomelanina, e seu transporte até a base do pelo, na qual irão depositar o pigmento. Imagem adaptada de: <http://palaeo.gly.bris.ac.uk/melanosomes/melanin.html>

#### 2.4.2 Padrões *Tabby* em Felinos

Marcações *tabby* são um grupo de padrões de pelagem comuns em gatos domésticos, caracterizadas por marcas como listras, pintas ou manchas na pelagem do animal. Existem basicamente quatro tipos de padrão *tabby* (Fig. 2.13):

- *Ticked* (abissínio): pontilhado, gato aguti de pelo mais uniforme.
- *Spotted* (pintado): padrão de pintas pelo corpo.
- *Mackerel* (listrado): listras, com um típico “M” na testa.
- *Blotched* (clássico): manchas e “espirais” irregulares.

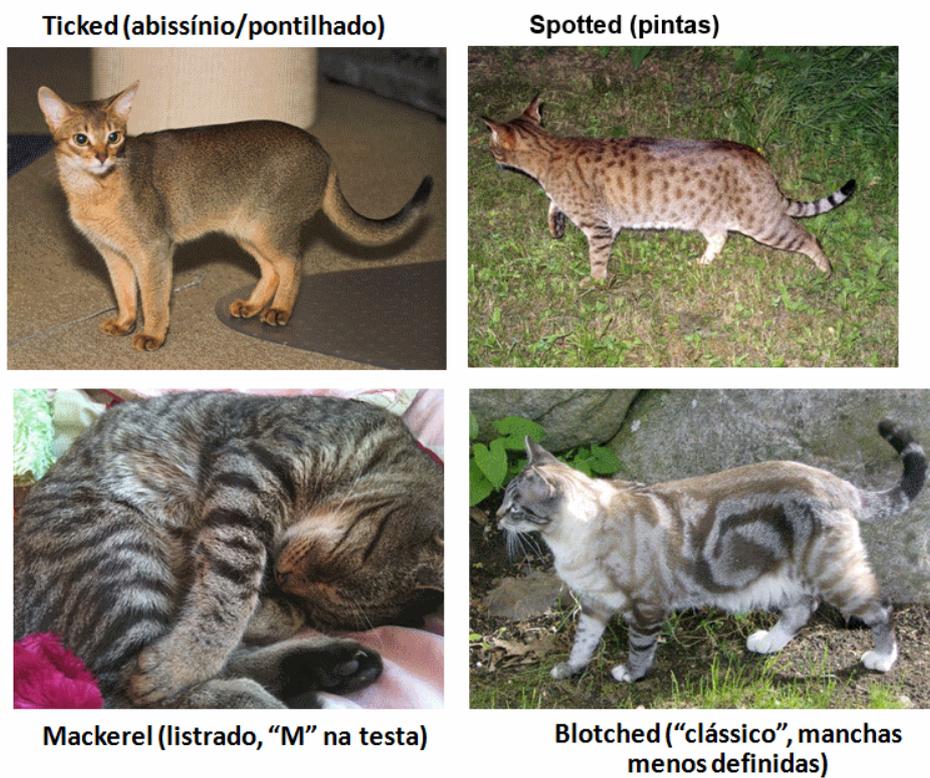


Figura 2.13: Os quatro diferentes tipos básicos de padrões *tabby* encontrados em gatos. Fontes das imagens originais: <https://community.logos.com/forums/t/83748.aspx>, [http://en.wikipedia.org/wiki/Tabby\\_cat](http://en.wikipedia.org/wiki/Tabby_cat), <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Kamee02.jpg>

Todos esses padrões só podem ocorrer em gatos que apresentam o fenômeno da troca de cor do pelo causado pelo peptídeo aguti, ou seja, apenas os gatos que não possuem uma variante do gene *aguti* que seja incapaz de produzir o peptídeo sinalizador *aguti* (o responsável pelo fenômeno de troca de cor nos pelos, como vimos). É interessante notar que a mutação não-*aguti* só consegue impedir essa troca de cor em gatos cuja cor básica<sup>11</sup> seja preta – gatos laranja demonstram padrões *tabby* independentemente do gene *aguti* (ou seja, não existem gatos laranja de cor “sólida”, sem marcações *tabby*).

Até recentemente, se acreditava que os quatro padrões *tabby* básicos eram codificados pelo mesmo gene (hoje conhecido como *tabby* primário), sendo cada um deles correspondente a uma variante ou mutação diferente. Foi descoberto (EIZIRIK et al., 2010) que há, no mínimo, um segundo gene relacionado à regulação dos padrões *tabby*, que foi chamado de *tabby* secundário. Para este gene, existe uma variante dominante que determina que o gato apresente a pelagem do tipo pontilhada (*Ticked*) - diga-se de passagem, bastante similar à pelagem típica do camundongo - independente do produto do gene *tabby* primário. Outros padrões só são possíveis caso este gene apresente a variante recessiva.

Outro resultado interessante do estudo foi a obtenção, através de cruzamentos entre gatos de diversos padrões *tabby*, de gatos com padrão “híbrido”, no qual as listras pareciam “se quebrar” em pintas menores (Fig. 2.14). Tais resultados estão em acordo com a hipótese de Murray ((MURRAY, 1981a); ver a seção 2.7 para mais detalhes), na qual listras poderiam ser obtidas através da extensão de pintas posterior ao processo de formação de padrão que as gerou.

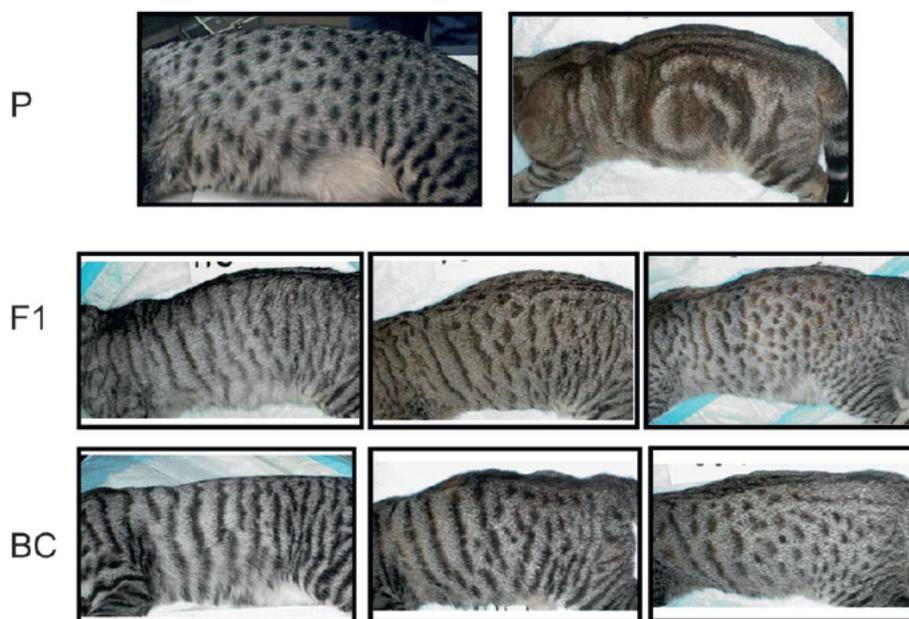


Figura 2.14: Gatos com padrões *tabby* intermediários entre listras e pintas. Fonte da imagem: (EIZIRIK et al., 2010).

<sup>11</sup>Determinada pelo gene *orange*, um gene presente no cromossomo X. Como este gene está presente neste cromossomo, gatos machos possuem apenas uma cor básica - ou é laranja/avermelhado ou é preto/castanho, podendo possuir manchas brancas também. Apenas gatas fêmeas podem apresentar as duas cores, o chamado padrão escama de tartaruga, que ocorre em gatas que possuam uma versão do gene para cada cromossomo. Em cada célula, só há um cromossomo X ativo; o outro forma o corpúsculo de Barr, uma estrutura incapaz de expressar seus genes.

Em 2012, o trabalho de Kaelin e colegas (KAELIN et al., 2012) trouxe novas informações a respeito da formação dos padrões *tabby*. Os genes responsáveis pelos diferentes padrões *tabby* também estão presentes em outros felinos (mutações nos mesmos causam, por exemplo, o padrão *King Cheetah* em guepardos, apresentando manchas ao invés de pintas - Fig. 2.15). Também foi descoberta a proteína codificada pelo gene *tabby* primário (denominado pelos autores de *TaqPep*<sup>12</sup>), uma protease<sup>13</sup> chamada de tabulina, cuja sequência indica localização na membrana celular. Essa proteína está presente nos gatos listrados (*Mackerel*), mas não nos de padrão de manchas irregulares (*Blotched*), incluindo o guepardo *King Chetah*, cujo gene *tabby* primário é incapaz de produzir uma versão funcional desta proteína. Isso sugere um papel para a tabulina no sentido de organizar com periodicidade estas regiões, uma vez que gatos com a proteína apresentam listras (regiões escuras e claras) espaçadas com regularidade (Fig. 2.16). Note-se que esta proteína é expressa igualmente em regiões de pelagem clara e escura na pele do animal. Além disso, melanócitos estão presentes em ambas as regiões, embora produzam mais pigmento preto nas regiões escuras.



Figura 2.15: Guepardo com pintas (comum) e com o padrão *King Cheetah*. Fonte da imagem: (KAELIN et al., 2012).

Os resultados experimentais deste trabalho sugerem que a diferença entre uma área de pelagem escura (pintas e listras) e uma de coloração clara (o “fundo” amarelado ou avermelhado) se deve a, respectivamente, altos e baixos níveis de expressão do gene *Edn3* na base do folículo capilar (onde se encontram os melanócitos que depositam os pigmentos no pelo) (Fig. 2.17). Esse gene codifica um hormônio, endotelina-3, promotor da diferenciação e da proliferação de melanócitos e outras células provenientes da crista neural.

Os mecanismos específicos pelos quais estas proteínas produzem os padrões *tabby* ainda são desconhecidos, especialmente os que geram os padrões de pintas (*spotted*), cujos genes responsáveis ainda não foram identificados, mas algumas possibilidades foram propostas. Eizirik e colegas (EIZIRIK et al., 2010) sugeriram que padrões de pelagem em mamíferos derivam de dois processos: (i) um mecanismo orientado espacialmente que estabelece um pré-padrão na pele e (ii) um mecanismo orientado por pigmentos que responde a esse pré-padrão e origina diferenças nas cores dos pelos de cada região. O primeiro é de maior interesse para este trabalho, uma vez que este mecanismo poderia ser produzido por reação-difusão ou algum sistema análogo a este. Em Kaelin e colegas, foi proposta a hipótese de que a tabulina, que normalmente ficaria na membrana celular, poderia se soltar desta e se difundir através da pele, se concentrando em determinadas

<sup>12</sup>*Transmembrane Aminopeptidase Q*

<sup>13</sup>Uma enzima que quebra outras proteínas.

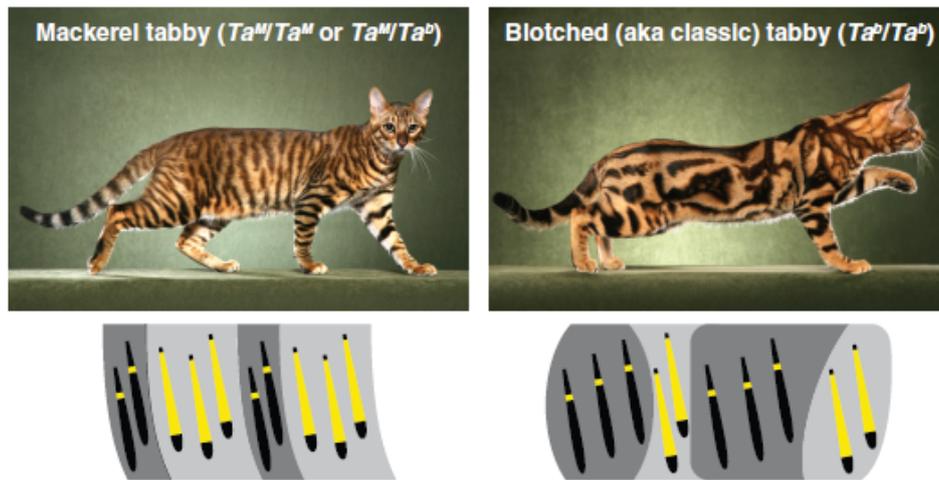
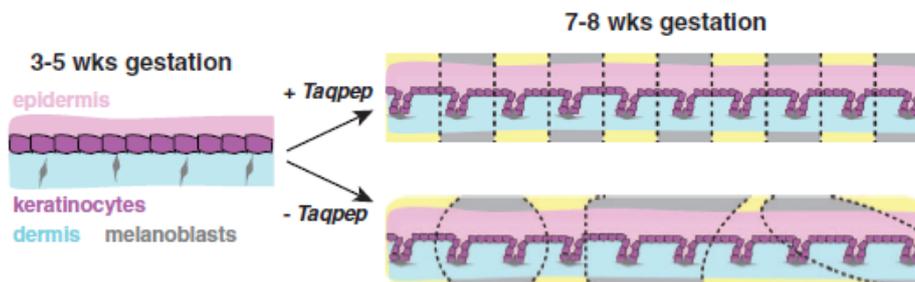


Figura 2.16: Diferença na organização das regiões escuras e claras nos gatos do tipo *mackerel* e *blotched*. Nota-se que em ambas as regiões o pelo apresenta o fenômeno aguti, apresentando bandas de ambas as cores - o que muda é o tamanho da banda amarela intermediária, pequena nas regiões escuras e grande nas claras. Fonte da imagem: (KAELIN et al., 2012).

#### A Estabelecimento de um pré-padrão no desenvolvimento da pele



#### B Implementação do padrão durante o crescimento dos folículos

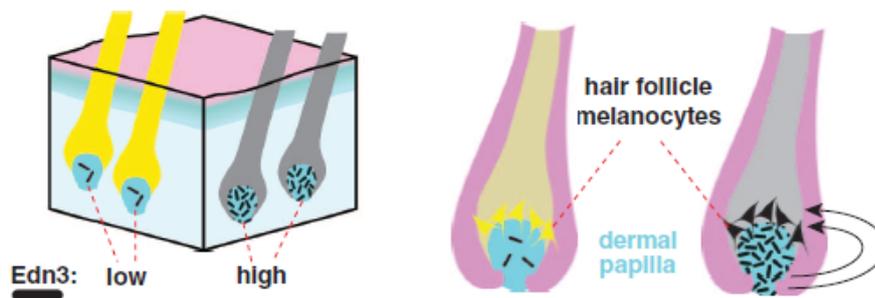


Figura 2.17: Processo de formação das áreas de diferente pigmentação em felinos durante o desenvolvimento embrionário através da ação da tabulina (codificada pelo gene *TaqPep*) e da endotelina-3 (codificada pelo gene *Edn3*). A tabulina é responsável pela formação de um pré-padrão de listras; na sua ausência, manchas irregulares de predominância escura ou clara são formadas. A identidade de cada região é mantida pelas diferenças de expressão do gene *Edn3*, expresso em alta quantidade nos pelos de regiões escuras e em baixas nos de regiões claras. Fonte da imagem: (KAELIN et al., 2012).

áreas. Isto significa que, mesmo sem diferenças espaciais no padrão de expressão gênica, poderia haver uma diferença na concentração do produto da expressão, que é a proteína. Barsh, um dos autores do paper, acredita que a proteína tabulina pode ser um morfógeno (YONG, 2012).

O artigo de Kaelin e colegas afirma que os padrões *tabby* diferem daqueles gerados por modelos de reação-difusão, pois, nos embriões felinos, o crescimento do corpo (domínio espacial) gera um aumento do tamanho das listras, enquanto que nos sistemas de reação-difusão a expansão do domínio aumenta o número das estruturas mantendo constante o tamanho de cada uma. No entanto, como visto na seção 2.2, é possível a um sistema de reação-difusão possuir invariância da proporção em relação ao tamanho, embora isto exija condições adicionais ao mecanismo. Além disso, Bard (BARD, 1977) postulou um modelo no qual diferenças de tamanho podem ser obtidas *após* encerrar o mecanismo de reação-difusão, bastando para tanto haver crescimento posterior das listras/estruturas obtidas. Ou seja, a tabulina poderia participar do processo de formação do pré-padrão (seja ele via reação-difusão ou por outro mecanismo) como um morfógeno, em uma etapa bastante precoce da embriogênese (na qual a distância típica de deslocamento via difusão ainda fosse capaz de espalhar a molécula pelo corpo microscópico do embrião), enquanto que o resultado desse processo estabeleceria a diferença de expressão do gene produtor da endotelina-3 - o qual produzirá as diferenças em si das cores na pelagem. Apresentaremos algumas hipóteses para este problema no capítulo 5.

## 2.5 Alguns Modelos de Reação-Difusão

Nesta seção, apresentaremos alguns dos modelos de reação-difusão presentes na literatura, escolhidos tanto por sua relevância histórica e conceitual quanto por sua aplicação no tema do trabalho, isto é, a formação dos padrões de pelagem encontrados em mamíferos. No entanto, esta seleção está longe de ser exaustiva, e uma enorme variedade de modelos diferentes foram propostos; alguns outros exemplos de sistemas de reação-difusão similares aos apresentados podem ser encontrados em (MEINHARDT, 2012), (KONDO; MIURA, 2010) e (MURRAY, 1993). Além destes, outros modelos importantes incluem as equações de Gray-Scott (uma interessante exposição para este modelo, contendo um mapa dos resultados de acordo com diferentes parâmetros se encontra em (MUNAFO, 1996)), as reações de Belousov-Zhabotinsky (ZHABOTINSKY, 2007) e os vários modelos que geram estruturas com comprimento de onda químico proporcional ao tamanho total da estrutura (ISHIHARA; KANEKO, 2006).

Conforme dito anteriormente, os modelos de reação-difusão foram propostos pela primeira vez por Alan Turing (TURING, 1952); em seu trabalho, ele propôs um modelo (eq. 2.2) contendo dois morfógenos que interagem entre si e se difundem a diferentes taxas de difusão, utilizando um sistema de equações diferenciais parciais lineares. Em todos os modelos mostrados neste trabalho,  $a$  e  $b$  representam a concentração dos dois morfógenos,  $\partial a/\partial t$  e  $\partial b/\partial t$  sua respectiva taxa de variação no tempo para um dado ponto no espaço,  $D_a$  e  $D_b$  os coeficientes de difusão de cada morfógeno, e  $\nabla^2 a$  e  $\nabla^2 b$  a variação espacial da concentração de  $a$  e  $b$ . Para uma dimensão,  $\nabla^2 a = \partial^2 a/\partial x^2$  (análogo para  $b$ ).

$$\frac{\partial a}{\partial t} = (5a - 6b + 1) + D_a \nabla^2 a \quad (2.2a)$$

$$\frac{\partial b}{\partial t} = (6a - 7b + 1) + D_b \nabla^2 b \quad (2.2b)$$

Para aumentar a plausibilidade do mecanismo molecular, torna-se necessária a presença de não-linearidades nas equações (MEINHARDT, 2012); Turing também formulou um sistema baseado em equações não-lineares (eq. 2.3), o qual foi estudado mais profundamente por Bard e Lauder (BARD; LAUDER, 1974) para sistemas uni e bidimensionais e Turk para a formação de padrões de reação-difusão em superfícies tridimensionais (TURK, 1991). Este é o sistema utilizado nas simulações deste trabalho, e suas características serão detalhadas adiante, na seção 2.6. Há a adição de dois parâmetros adicionais,  $s$  e  $\beta$ .  $s$  representa a velocidade das reações químicas (no artigo de Turing,  $s$  era uma constante de valor fixo  $s = 1/16$ ). Já  $\beta$  é um valor invariante no tempo mas que varia para cada ponto do espaço, e pode ser interpretado como uma concentração de alguma molécula que não é afetada diretamente por  $a$  e  $b$  mas é capaz de degradar o morfógeno  $b$  - e é a responsável por “evocar” o processo de formação de padrão, como veremos na seção 2.6. As equações mostradas aqui são as versões utilizadas por Turk (TURK, 1991).

$$\frac{\partial a}{\partial t} = s(16 - ab) + D_a \nabla^2 a \quad (2.3a)$$

$$\frac{\partial b}{\partial t} = s(ab - b - \beta) + D_b \nabla^2 b \quad (2.3b)$$

Meinhardt e Gierer (GIERER; MEINHARDT, 1972) formularam a ideia, já presente nas equações de Turing, de ativação a curto alcance e inibição a longo alcance; além disso, eles propuseram o modelo de ativador-inibidor, no qual os morfógenos possuem explicitamente as funções de ativação (aumento da concentração) e inibição (redução da concentração). No modelo proposto pelos autores (eq. 2.4), chamado de modelo de ativador-inibidor, além da concentração dos morfógenos existe uma concentração de suas fontes de produção, e a ativação/inibição atua sobre as fontes e não diretamente sobre as concentrações. Na equação abaixo (eq. 2.4),  $a$  é o ativador e  $b$  é o inibidor;  $\rho$  denota a concentração dessas fontes e  $\rho_a$  e  $\rho_b$  a produção basal de cada um dos morfógenos.  $\mu_a$  e  $\mu_b$  são as taxas de remoção de  $a$  e  $b$  (o que pode ser interpretado como degradação ou conversão do morfógeno a alguma outra substância, seja espontaneamente ou catalisada por alguma enzima, por exemplo). Para que as condições de ativação a curto alcance e inibição a longo alcance sejam satisfeitas pelas equações abaixo, é necessário que  $D_b > D_a$ .

$$\frac{\partial a}{\partial t} = \rho \frac{a^2 + \rho_a}{b} - \mu_a a + D_a \nabla^2 a \quad (2.4a)$$

$$\frac{\partial b}{\partial t} = \rho_b + \rho a^2 - \mu_b b + D_b \nabla^2 b \quad (2.4b)$$

Além da geração de padrões periódicos, o sistema de Meinhardt e Gierer é capaz de modelar uma estrutura polarizada, na qual a concentração do morfógeno é elevada em uma extremidade da região e baixa em outra, similar ao obtido por modelos de informação posicional baseados em gradientes químicos; para tanto, basta que haja um gradiente inicial, ainda que muito sutil, da concentração das fontes na área considerada. Nestes sistemas, pode-se considerar que o alcance da inibição é muito longo em comparação à área total (GIERER; MEINHARDT, 1972), de forma que o comprimento de onda químico possua tamanho similar ao total (então toda a área corresponderia a uma única estrutura). Estes resultados também são capazes de apresentar invariância em relação ao tamanho, pois subseções retiradas do modelo original desenvolvem uma polaridade similar a este.

No mesmo artigo (GIERER; MEINHARDT, 1972), Meinhardt e Gierer apresentaram outro modelo, baseado na depleção de um dos substratos ou morfógenos (denominado como Mecanismo de Ativador e Depleção de Substrato, numa tradução de *Activator-Depleted Substrate Mechanism* (MEINHARDT, 2012)), onde o efeito antagonístico causado por um dos morfógenos deve-se não à inibição da produção, e sim ao consumo de um dos morfógenos na mesma taxa de criação do outro morfógeno, sugerindo uma reação na qual um dos substratos transforma-se no outro. Conceitualmente, este modelo é bastante similar ao modelo não-linear apresentado por Turing (eq. 2.3), uma vez que em ambos há uma reação que sugere a conversão de um morfógeno para o outro ao invés de um efeito inibidor. A equação 2.5, adaptada de (MEINHARDT, 2012), exemplifica um modelo do gênero; os parâmetros possuem interpretação análoga aos do modelo ativador-inibidor, mas a concentração da fonte  $\rho$  pode ser interpretado também como a velocidade da reação de conversão de  $a$  para  $b$ .

$$\frac{\partial a}{\partial t} = \rho_a - \rho ab^2 - \mu_a a + D_a \nabla^2 a \quad (2.5a)$$

$$\frac{\partial b}{\partial t} = \rho ab^2 - \mu_b b + D_b \nabla^2 b \quad (2.5b)$$

O matemático James Murray propôs, para explicar a formação de padrões de pelagem em mamíferos (MURRAY, 1981a), um mecanismo (eq. 2.6) similar a reações enzimáticas nas quais ocorre inibição de substrato (no caso, inibição da produção de um dos morfógenos), baseado em trabalhos experimentais com enzimas imobilizadas em superfícies similares a membranas celulares. Ressaltam-se dois aspectos de seu trabalho: um sistema de equação cujos parâmetros leva a formações de pintas tende, em superfícies cilíndricas, a formar anéis – o que ocorre em várias espécies de mamíferos, onde animais com pintas formam caudas aneladas (por exemplo, a Geneta, Fig. 2.18); e o efeito da escala – corpos muito pequenos ou muito grandes impedem a formação de padrão (ver a seção 2.7, sobre Forma e Crescimento, para uma discussão mais detalhada de como a forma e o tamanho da superfície afeta o padrão gerado). Na equação 2.6, todos os valores foram adimensionalizados;  $a$  e  $b$ , representam, portanto, as concentrações adimensionalizadas,  $D$  a razão dos coeficientes de difusão  $D_b/D_a$ , e  $\rho$ ,  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $K$ ,  $a_0$  e  $b_0$  parâmetros constantes do sistema, onde  $\gamma$  é um parâmetro de escala.

$$\frac{\partial a}{\partial t} = \gamma \left[ a_0 - a - \rho \left( \frac{ab}{1 + a + Ka^2} \right) \right] + \nabla^2 a \quad (2.6a)$$

$$\frac{\partial b}{\partial t} = \gamma \left[ \alpha(b_0 - b) - \rho \left( \frac{ab}{1 + a + Ka^2} \right) \right] + D\nabla^2 b \quad (2.6b)$$



Figura 2.18: Geneta (*Genetta genetta*), um pequeno mamífero carnívoro parente dos felídeos, da família dos viverrídeos, cujo padrão de pelagem exemplifica o efeito de superfícies estreitas (caudas): o animal, que possui um corpo com pintas, apresenta rabo anelado. Fonte da imagem: Wikipédia, <http://en.wikipedia.org/wiki/Genetta>

## 2.6 Análise do Sistema de Reação-Difusão Não-Linear de Turing

Em seu trabalho de 1974, Bard e Lauder (BARD; LAUDER, 1974) examinaram detalhadamente as propriedades do sistema não-linear criado por Turing (equações 2.3). Iremos neste seção mostrar alguns de seus resultados que são mais relevantes para o trabalho em questão.

Turing propôs uma complexa rede de reações químicas, consistindo em um sistema com várias substâncias químicas além dos dois morfógenos (consulte (TURING, 1952)

ou (BARD; LAUDER, 1974) para detalhes sobre essa rede de interações); para fins de clareza conceitual, mostramos na figura 2.19 uma interpretação simplificada da rede envolvendo apenas as equações de variação dos dois morfógenos (o sistema que consideramos na seção anterior na eq. 2.3). Neste caso, apenas a concentração dos dois morfógenos,  $a$  e  $b$ , e de uma terceira molécula, nomeada no contexto do modelo como evocador (pois ela “evoca” a formação de padrão ao produzir pequenas perturbações aleatórias na concentração de  $b$ , retirando o sistema da homogeneidade inicial), cuja concentração é proporcional ao parâmetro  $\beta$ , são considerados como variáveis no sistema. O valor de  $\beta$  é diferente para cada “célula” ou ponto do sistema, e é determinado a partir de uma distribuição aleatória.

Para que o sistema de equações diferenciais possa ser resolvido, a difusão e a variação temporal foram discretizadas, de forma que cada iteração é considerada como o avanço do sistema em uma unidade de tempo ( $\Delta t = 1$  para cada iteração). A eq. 2.7 mostra as equações utilizadas nessas simulações para uma determinada célula de posição  $r$  no *array* unidimensional de  $N$  células.

Existe, para os valores padrão de  $s^{14}$  e da média de  $\beta$  conforme postulado por Turing ( $s = 1/16$  e  $\bar{\beta} = 12$ ), um ponto fixo estável em  $a = 4$  e  $b = 4$ , mas, conforme foi mostrado na seção 2.2, a difusão transforma esse ponto fixo em instável - produzindo assim o estado estacionário contendo os padrões em “ondas” de concentração. Em todas as simulações mostradas nesta seção para sistemas unidimensionais, baseados em um *array* de células que realizam difusão com as vizinhas, é assumido, exceto quando afirmado em contrário, que não haja continuidade nas condições de fronteira (*zero-flux boundary conditions*<sup>15</sup>), o tamanho do *array* unidimensional é de  $N = 60$  células, os valores dos parâmetros são  $s = 1/16$ ,  $D_a = 1/4$  e  $D_b = 1/16$ , e  $\beta$  é gerada por uma distribuição normal com média = 12 e desvio-padrão igual a 0,25. A evolução no tempo desse sistema foi mostrada na figura 2.1.

$$\frac{\Delta a_r}{\Delta t} = s(16 - a_r b_r) + D_a(a_{r-1} - 2a_r + a_{r+1}) \quad (2.7a)$$

$$\frac{\Delta b_r}{\Delta t} = s(a_r b_r - b_r - \beta_r) + D_b(b_{r-1} - 2b_r + b_{r+1}) \quad (2.7b)$$

$$r = 2, \dots, N - 1$$

Bard e Lauder examinaram os efeitos da variação do parâmetro  $s$ , que representa a velocidade das reações químicas, para um sistema de reação-difusão unidimensional (Fig. 2.20). A partir destes resultados, foi averiguada a existência de uma relação entre o comprimento de onda químico,  $\gamma$ , e a velocidade de reação  $s$ , tal que  $\gamma \propto 1/\sqrt{s}$  - isto é, o comprimento de onda é proporcional ao inverso da raiz quadrada da velocidade de reação, o que indica que há uma relação entre  $s$  e o tamanho dos elementos do padrão (Fig. 2.21).

Os autores também investigaram se havia alguma relação entre a quantidade de “células” no sistema unidimensional e  $\gamma$  (Fig. 2.22), e não foi encontrado nenhum efeito

<sup>14</sup>Bard e Lauder utilizaram nas equações o parâmetro  $S_p = 16s$ , mas utilizamos aqui  $s$  conforme mostramos na eq. 2.3.

<sup>15</sup>Isto é, para as células de fronteira, com  $r = 0$  ou  $r = N$ , a difusão considera apenas a troca com um vizinho; por exemplo, para  $r = 0$ , o termo correspondente à difusão na equação do morfógeno  $a$  é  $D_a(a_1 - a_0)$ . Em uma tradução livre, condições de contorno de fluxo zero.

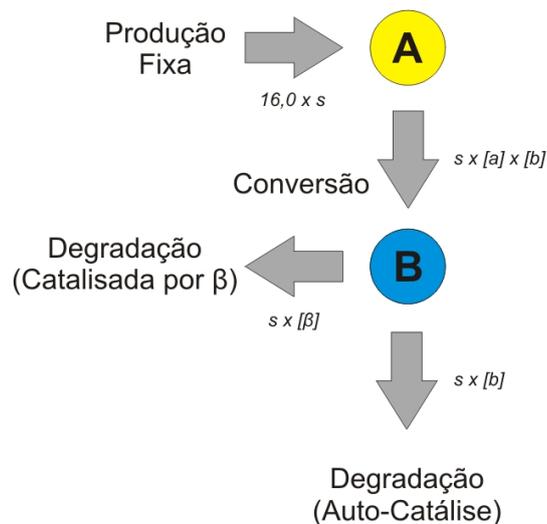


Figura 2.19: Interpretação molecular simplificada do sistema de reação-difusão não-linear de Turing. O morfógeno  $a$  é produzido, através de reações químicas fora do sistema, a uma taxa que pode ser considerada constante (pois esta taxa não é em função da concentração de  $a$ ,  $b$  ou  $\beta$ ). Reações químicas convertem  $a$  em  $b$  em uma taxa que depende tanto da concentração de  $a$  quanto da de  $b$ ; na interpretação original,  $a$  e  $b$  sofrem uma reação de síntese, dando origem a um terceiro produto químico o qual, após sucessivas novas reações, termina por se converter de volta em  $b$ .  $b$ , por sua vez, é degradado em uma reação cuja taxa depende de sua concentração, convertendo-se em mais um produto químico cuja concentração não afeta o sistema. Além disso,  $b$  também é degradado em uma reação catalisada pelo químico  $\beta$  (cuja concentração não é afetada pelo sistema de reação-difusão em si). A interpretação completa, envolvendo um maior número de moléculas, pode ser encontrada em (TURING, 1952) ou (BARD; LAUDER, 1974). Imagem produzida pelo autor.

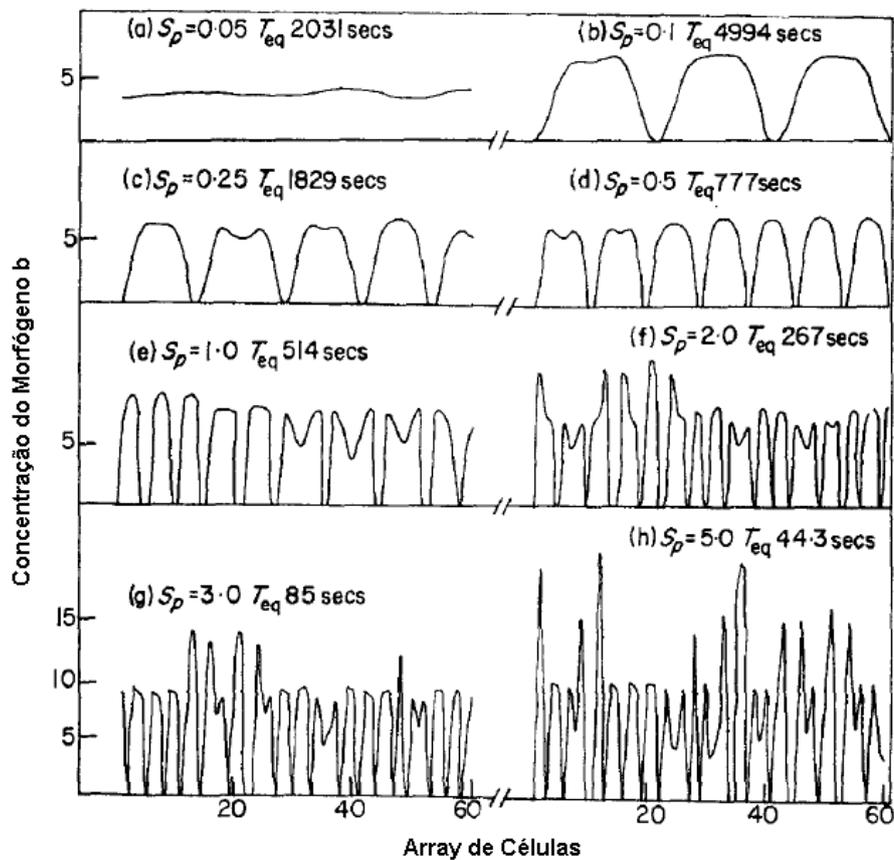


Figura 2.20: Variação do comprimento de onda conforme a velocidade das reações para o sistema modelado pelas eq. 2.7. Cada gráfico mostrado representa a concentração do morfógeno  $b$  para cada célula do *array* unidimensional após um determinado tempo  $T_{eq}$  (necessário para o sistema se estabilizar) e um dado valor de  $s$  (representado nas figuras por  $S_p = 16s$ ). Nota-se que, quanto maior a velocidade das reações químicas, menor é o comprimento de onda e conseqüentemente menores são as estruturas formadas. Fonte: (BARD; LAUDER, 1974).

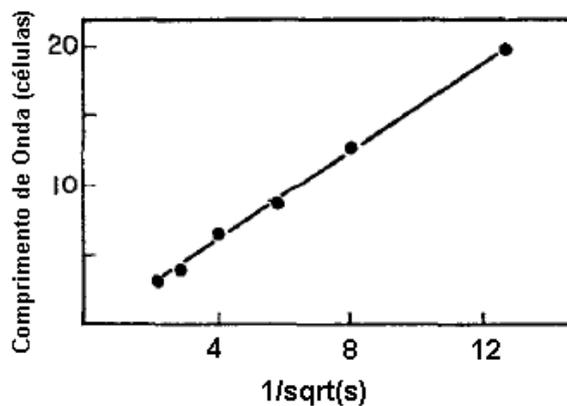


Figura 2.21: Relação entre o comprimento de onda  $\gamma$  e a velocidade das reações  $s$  encontrada por Bard e Lauder. Na imagem original, a comparação era com o parâmetro  $S_p = 16s$ . Adaptado de: (BARD; LAUDER, 1974).

significativo do tamanho total sobre o tamanho de cada pico de concentração. A quantidade de picos é proporcional ao tamanho total e o comprimento de onda é invariante em relação ao mesmo (aproximadamente seis ou sete células), tal como esperado de um sistema do tipo “mosaico”.

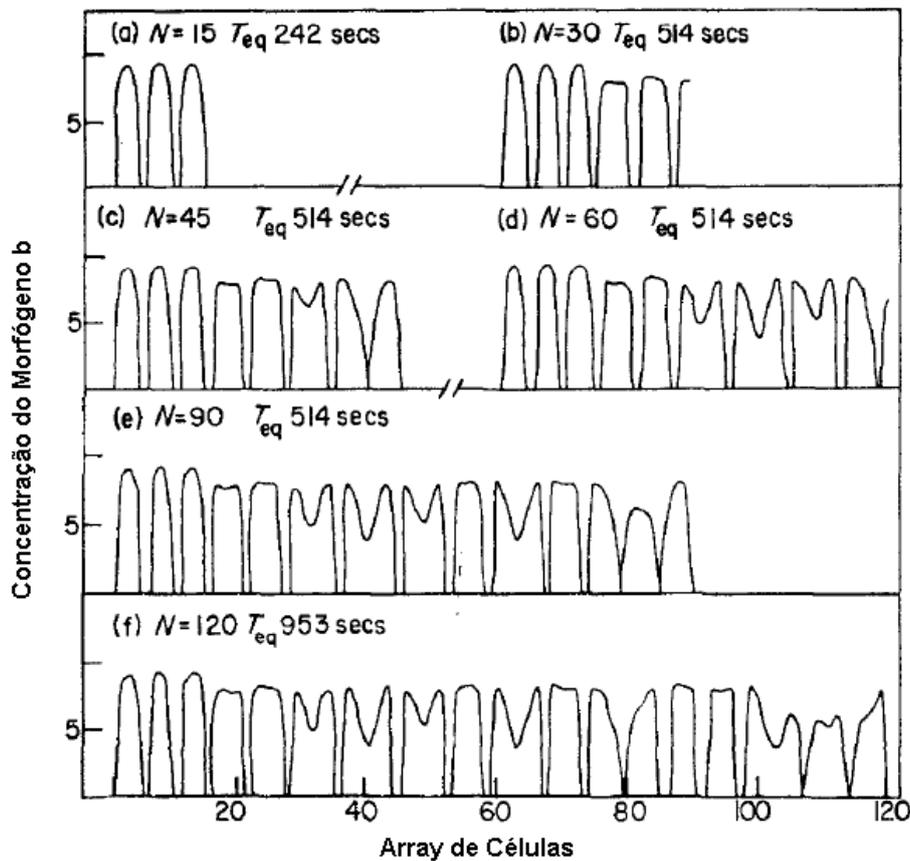


Figura 2.22: Simulações de reação-difusão para diferentes números  $N$  de células usando as equações 2.7. Cada gráfico mostrado representa a concentração do morfógeno  $b$  para cada célula do *array* unidimensional após um determinado tempo  $T_{eq}$  (necessário para o sistema se estabilizar) e um dado tamanho do *array* de células  $N$ . As simulações não mostraram nenhuma correlação significativa entre  $N$  e o padrão final. Fonte: (BARD; LAUDER, 1974).

Ainda foi analisado o efeito de crescimento sobre o padrão final e a estabilidade do sistema (Fig. 2.23), através do incremento de três “células” sobre um padrão existente, e não foi encontrado nenhum efeito significativo desse incremento sobre as células já existentes.

Por fim, os autores realizaram algumas simulações utilizando sistemas bidimensionais (onde cada “célula” pode ser compreendida como uma “casa” de um tabuleiro de xadrez ou damas ou um elemento de uma matriz de dimensões iguais à altura e à largura), mostrando resultados que começam a se assemelhar aos padrões de pintas de animais. Nestas imagens, cada célula no qual o valor da concentração do morfógeno  $b$  é igual a zero é interpretada como um pixel preto (Fig. 2.24).

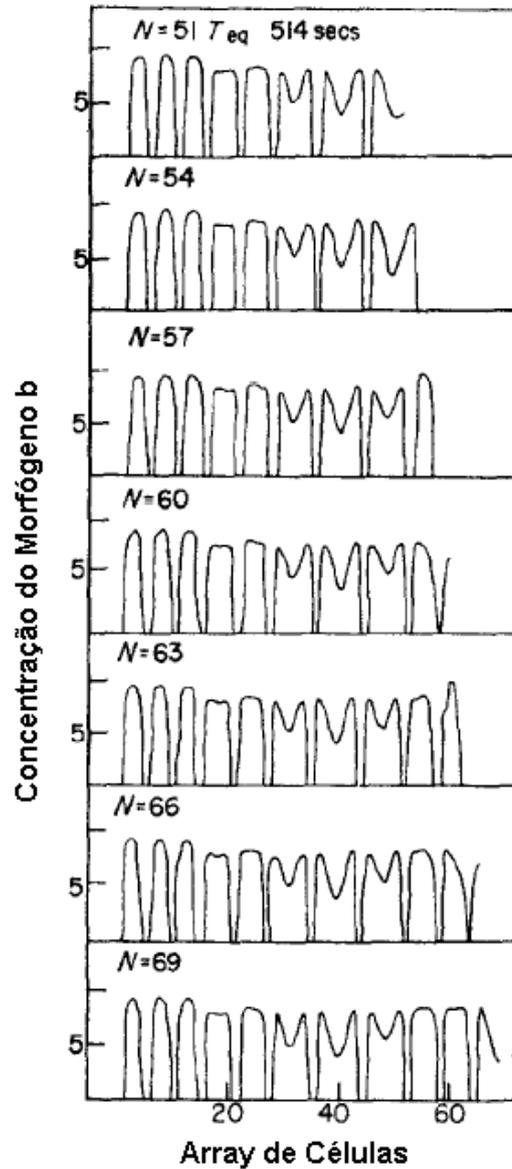


Figura 2.23: Simulações de reação-difusão nas quais o número  $N$  de células sofre pequenos incrementos, da ordem de três células, durante o processo (após a estabilização do sistema), para as equações 2.7. Cada gráfico mostrado representa a concentração do morfógeno  $b$  para cada célula do *array* unidimensional após a adição de um novo incremento de três células. Estas simulações não aparentam nenhuma alteração significativa em relação ao padrão anterior ao incremento. Fonte: (BARD; LAUDER, 1974).

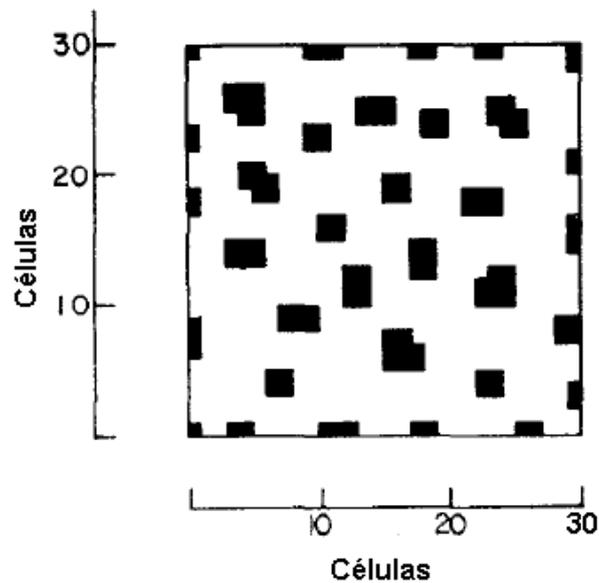


Figura 2.24: Simulação de reação-difusão para um sistema bidimensional, com 30 x 30 células de tamanho. Na imagem, cada célula na qual o valor da concentração do morfógeno  $b$  é igual a zero é mostrada como um pixel preto. Fonte: (BARD; LAUDER, 1974).

Foi observado que, para sistemas retangulares com largura muito pequena, as pintas tendem a se transformar em linhas (para larguras de aproximadamente três células). O efeito de condições de fronteira ou contorno foi testado com sistemas retangulares nos quais há continuidade entre as fronteiras horizontais (condições circulares de contorno ou *circular boundary conditions*), simulando de forma mais realista o que acontece, por exemplo, em uma cauda ou no corpo de uma cobra. Os resultados gerados são muito interessantes (Fig. 2.25): nestes sistemas, a formação de listras no lugar de pintas ocorre para larguras maiores, por volta de seis células. Tal efeito pode ser observado em certos animais com pintas, como gatos de padrão *spotted* ou pintado (Fig. 2.26), o guepardo, e o carnívoro de pequeno porte geneta, parente dos felídeos (ver Fig. 2.18, na seção anterior). De certa forma, a aplicação de condições de contorno contínua gera sistemas com propriedades mais próximas ao domínio tridimensional, uma vez que um retângulo cujas bordas possuem fronteiras é uma planificação de um cilindro. E, como veremos na próxima seção, estes resultados são um indício de que aspectos a respeito da forma podem afetar o produto de um sistema de reação-difusão.

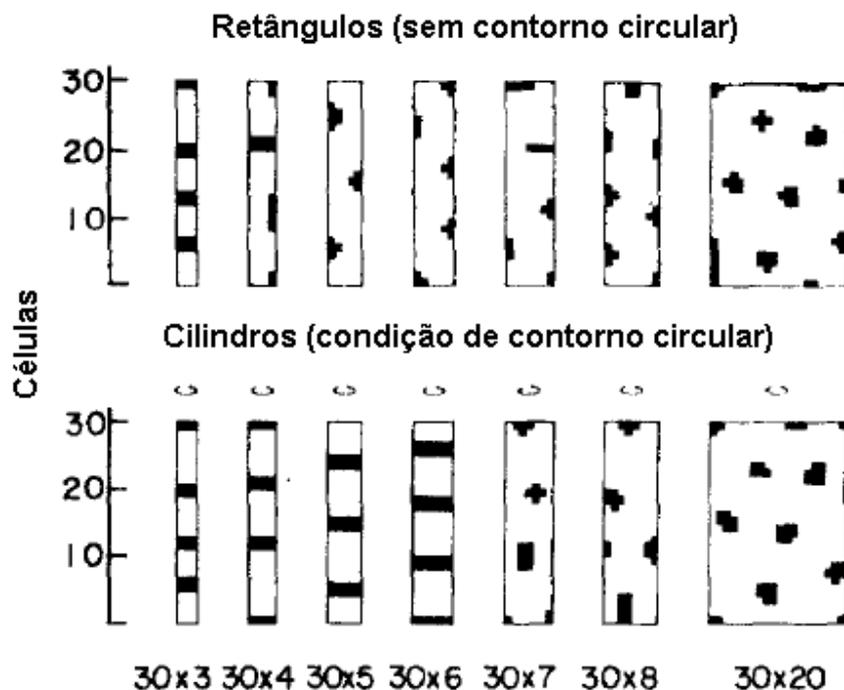


Figura 2.25: Simulações de reação-difusão para sistemas bidimensionais retangulares, com diferentes larguras (de três a 20 células) e comprimento de 30 células, tanto na ausência de condições de contorno circulares quanto na presença das mesmas (formando cilindros, pois um retângulo com comunicação entre os lados horizontais é um cilindro planificado). Tanto o efeito da largura pequena, que induz à formação de listras no lugar de pintas, quanto das condições de contorno circulares, que permitem a formação de listras em sistema de largura maior, podem ser observadas nesta simulação. Fonte: (BARD; LAUDER, 1974).



Figura 2.26: Gato doméstico (*Felis catus*) com padrão *tabby* pintado ou *spotted*. Observe-se que neste felino a cauda e as patas apresentam anéis ou listras no lugar de pintas, assim como previsto pelas simulações de reação-difusão. Fonte da imagem: Wikipédia, [http://en.wikipedia.org/wiki/Tabby\\_cat](http://en.wikipedia.org/wiki/Tabby_cat)

## 2.7 Forma e Crescimento

Os processos que geram a variedade de padrões observados por todos os domínios do mundo vivo não costumam ocorrer dentro de superfícies de formas retilíneas e definidas como quadrados e retângulos, muito menos em *arrays* unidimensionais de células, e sim em uma miríade de formas distintas. No entanto, não existem muitos trabalhos sobre reação-difusão levando em consideração o efeito que a forma pode exercer sobre o processo e, conseqüentemente, sobre o padrão resultante.

Dentre os primeiros trabalhos a lidar com este aspecto do processo, estão os já citados trabalhos de Bard (BARD; LAUDER, 1974) (BARD, 1981) e de Murray (MURRAY, 1981a). Ambos os autores falaram sobre o efeito de superfícies finas transformarem pintas em listras (conforme discutido nas seções 2.5 e 2.6). Este é um exemplo simples de um sistema no qual a forma da superfície, juntamente com as condições de contorno circulares, que facilitam a passagem de pintas a listras, restringe a reação-difusão a realizar um determinado tipo de padrão, e podemos considerar que a forma também é uma espécie de parâmetro do sistema e faz parte do mecanismo que sinaliza ao corpo como proceder durante o processo de desenvolvimento embrionário. As eq. 2.7 (Bard) e 2.6 (Murray) foram as utilizadas nestes dois estudos para chegar a estes resultados. O efeito das condições de contorno, que também podem ser consideradas como parte da forma, foi estudado em (ARCURI; MURRAY, 1986). Outro exemplo de efeito da forma são os padrões de listras de zebras encontrado na passagem entre as patas e o corpo (MURRAY, 1981a).

Efeitos de anisotropia (diferenças nas características do sistema conforme a direção) são mostradas desde Bard (BARD, 1981), que simulou os efeitos de uma diferença na velocidade de difusão nos sentidos vertical e horizontal (nas eq. 2.3). Do ponto de vista biológico, a anisotropia usada por Bard, que limitava a difusão ao sentido vertical, considera o fato dos melanócitos se espalharem a partir da crista neural (ver sec. 2.4), que foi tratada no sistema bidimensional como a linha superior do mesmo (Fig. 2.27). Um aspecto interessante desse experimento foi que, ao aumentar o desvio-padrão do evocador  $\beta$ , isto é, tornar as condições iniciais mais heterogêneas, as listras verticais acabam por quebrar-se em pintas na região inferior da imagem. Turk (TURK, 1991), em seus trabalhos envolvendo simulações de reação-difusão em superfícies de corpos 3D, também realizou simulações com difusão anisotrópica, através da variação das taxas de difusão para cada parte da malha de células que corresponde à textura do objeto, levando à formação de pintas esticadas (Fig. 2.28). Um resultado similar foi obtido por (SANDERSON; JOHNSON; KIRBY, 2004) utilizando sistemas de reação-difusão com anisotropia na difusão para visualizar campos vetoriais (as taxas de difusão orientadas direcionalmente correspondem a regiões do espaço nos quais os vetores tendem a se orientar na mesma direção).

Murray também discute o efeito do tamanho total da superfície sobre a geração de padrão (Fig. 2.29a) utilizando para isso variações no parâmetro  $\gamma$  (das eq. 2.6), que representa a escala do sistema. Superfícies muito grandes ou muito pequenas (em relação à velocidade de difusão das substâncias) impedem a formação de qualquer padrão, gerando uma coloração homogênea, ou mesmo a divisão da superfície em duas regiões, cada uma com uma coloração homogênea distinta (o que é observado em certas espécies de cabras, por exemplo - ver Fig. 2.29b). Além disso, estas imagens mostram que, para tamanhos intermediários, embora o corpo siga um padrão baseado em manchas largas, as patas, que são superfícies mais finas, podem apresentar listras (a variação da escala simula variações de largura em todo o sistema, incluindo as patas). Em termos de análise de equações di-

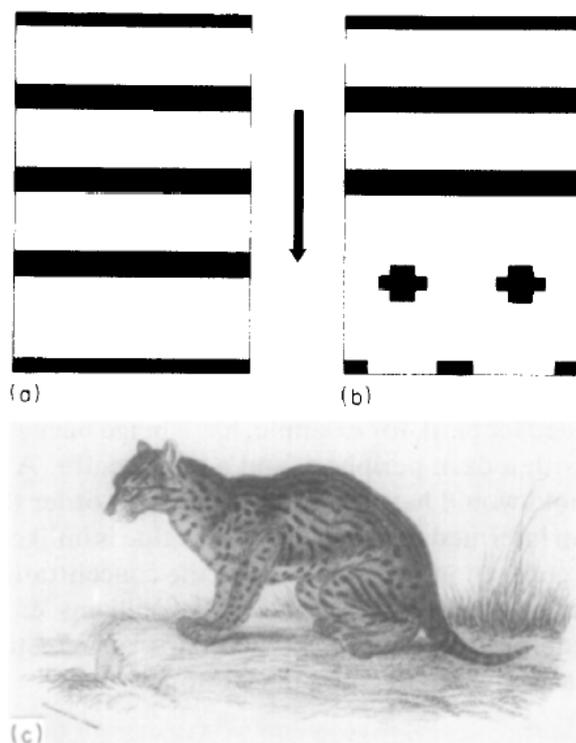


Figura 2.27: Resultado de simulações de reação-difusão com difusão apenas no sentido vertical realizadas por Bard (BARD, 1981), visando emular a distribuição das células formadoras de pigmento a partir da crista neural (região posterior da imagem). Em (a), observa-se a formação de listras horizontais paralelas, resultando em um padrão bastante organizado. Já em (b), as listras quebram-se em pintas ao se distanciarem da crista neural, padrão que é observado em certas espécies de animais, como mostrado na ilustração (c), do gato-pescador (*Felis viverrina*). Fonte da imagem: (BARD, 1981).

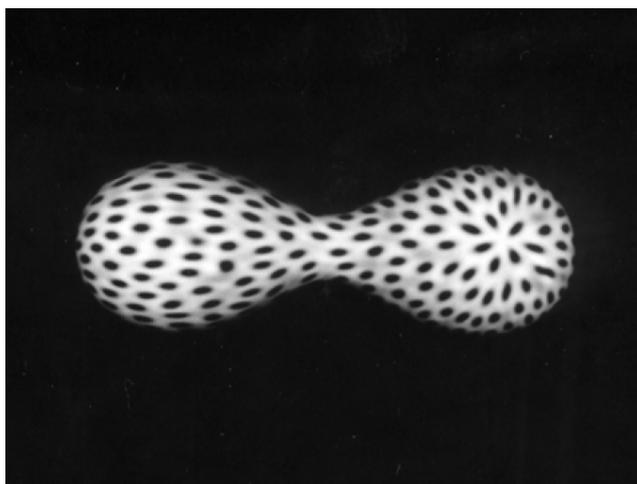


Figura 2.28: Reação-difusão sobre uma superfície tridimensional com difusão anisotrópica. Esta simulação, realizada por Turk (TURK, 1991), resultou em um sistema com pintas esticadas, mostrando um claro efeito da anisotropia sobre o padrão final. Fonte da imagem: (TURK, 1991).

ferenciais, este é um caso de bifurcação, onde o comportamento do sistema de equações (estabilidade e quantidade de soluções, p. ex.) varia com a alteração em algum parâmetro (no caso, a escala  $\gamma$ ). Estes resultados explicariam o fato de padrões em mamíferos muito grandes ou muito pequenos não serem comuns (exceções à regra, como a girafa, podem ser explicados por processos de geração de padrão se darem em etapas mais precoces do desenvolvimento embrionário). Deve-se notar que, obviamente, o tamanho que importa para a geração do padrão não é o tamanho do adulto, e sim o tamanho do embrião no ponto de produção do padrão (ou melhor, do pré-padrão que dará origem posteriormente às diferenças de pigmentação).



Figura 2.29: (a) Simulações realizadas por Murray (MURRAY, 1981a) para diferentes tamanhos de um modelo bidimensional representando a superfície do corpo de um animal planificado. Nota-se que para tamanhos muito grandes ou muito pequenos não há a aparição do padrão. Em (b), uma cabra da raça *Valais blackneck*, que apresenta fenômenos similar ao de certos tamanhos pequenos, nos quais há duas ou três regiões com um único tipo sólido de coloração. Fonte da imagem: (MURRAY, 2012).

Quanto ao efeito do crescimento ocorrendo concomitantemente ao processo de reação-difusão, um dos primeiros trabalhos a analisar esta possibilidade é o já citado trabalho de Bard (ver a seção 2.6, que analisa os resultados deste estudo em sistemas que apresentam crescimento no número de células). Existe uma série de trabalhos que analisam, através das propriedades matemáticas das equações e da resolução das mesmas via métodos de cálculo numérico, o efeito que o crescimento do tamanho do domínio durante o processo de reação-difusão exerce sobre o mesmo (CRAMPIN; GAFFNEY; MAINI, 1999) (MAINI et al., 2012) (CRAMPIN; GAFFNEY; MAINI, 2002). Em (MADZVAMUSE; GAFFNEY; MAINI, 2010), os autores encontraram que sistemas em crescimento podem apresentar comportamentos bastante diferentes em termos do tipo específico de mecanismo de reação-difusão que pode levar à geração de padrões espaciais (alguns sistemas que para tamanhos fixos não apresentam instabilidade produzida por difusão podem se tornar instáveis na presença de crescimento, p. ex.).

Walter (WALTER; FOURNIER; MENEVAUX, 2001) realizou simulações de formação de padrões de pelagem em superfícies bi e tridimensionais submetidas a um processo de crescimento, visando uma integração entre os processos que produzem a forma e os que produzem os padrões de pelagem. No crescimento simulado neste trabalho, há mudanças na forma geral do corpo e na proporção das partes do mesmo, de acordo com dados embriológicos reais, ao invés de uma simples mudança de escala de um mesmo

objeto. Estas simulações utilizaram um modelo alternativo à reação-difusão, o mosaico clonal ou *Mclone* (WALTER; FOURNIER; REIMERS, 1998), no qual diferentes tipos celulares representam as várias cores de pelagem. Manchas, listras e outras estruturas são formados via mecanismos celulares (divisão celular e repulsão), a partir de uma distribuição inicial aleatória dos tipos atribuídos a cada célula. Em outro trabalho mais recente (QUEIROZ; WALTER, 2012), foi incorporado o efeito da distribuição das células produtoras da pigmento a partir da crista neural, através de anisotropia. Ambos os trabalhos geraram resultados com alta semelhança aos padrões encontrados nos animais verdadeiros (Fig. 2.30).

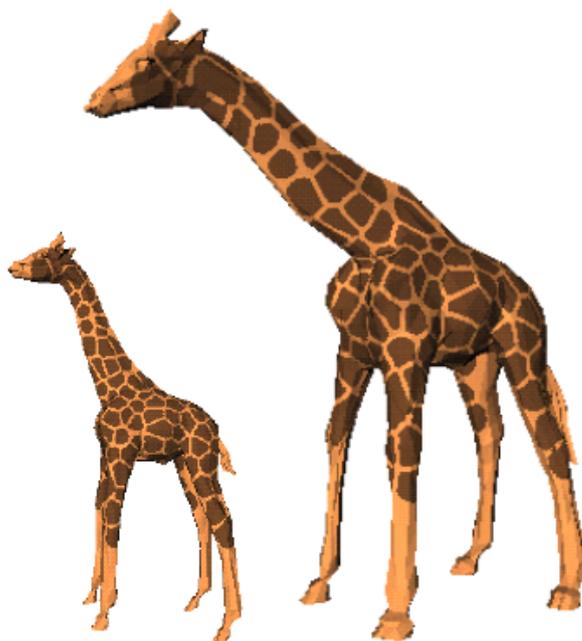


Figura 2.30: Modelos tridimensionais de girafa cujo padrão foi obtido com o modelo de mosaico clonal. (WALTER; FOURNIER; MENEVAUX, 2001). Neste trabalho, além de os resultados apresentarem considerável semelhança ao dos animais reais, o processo de formação de padrão foi simulado junto com o crescimento em diferentes taxas para cada parte do corpo. Fonte da imagem: (WALTER; FOURNIER; MENEVAUX, 2001).

Além do crescimento do sistema durante o desenrolar do processo de reação-difusão, também é importante considerar o crescimento que ocorre *após* o “encerramento” do processo. Bard (BARD, 1977) considerou o crescimento posterior à reação-difusão na sua hipótese para a formação das listras das zebras (como vimos na seção 2.3). O mecanismo de reação-difusão irá gerar um pré-padrão de concentração dos morfógenos, e estes, ao invés de produzirem o padrão final observável diretamente, irão “marcar” as células de cada região (por exemplo, através de diferenciação celular ou alteração permanente da expressão gênica delas) de forma que suas descendentes manterão essas características. Assim, mesmo que a reação-difusão produza duas listras de tamanho similar, se as regiões correspondentes a elas sofrerem crescimento em diferentes taxas, o resultado final apresentará listras de diferentes tamanhos. Dessa forma, é possível a um embrião cujo pré-padrão for produzido por reação-difusão responder ao crescimento através do aumento das estru-

turas ao invés do aumento do número delas (isto é, proporção invariante em relação ao tamanho). Turk (TURK, 1991) simulou o efeito de crescimento posterior ao processo de reação-difusão utilizando difusão anisotrópica (diferentes taxas de difusão em diferentes partes do corpo simulam uma maior ou menor velocidade de crescimento daquela parte). Seus resultados mostram, como previsto, o efeito da forma sobre as listras nas regiões de passagem do corpo para a pata ou para a cabeça, resultando em listras bastante similares às da zebra.

Outro efeito de crescimento pós-reação-difusão, estudado por Murray (MURRAY, 1981a), é a possibilidade de pintas se transformarem em estruturas similares a listras devido ao crescimento. Este mecanismo de processamento posterior à geração do pré-padrão pode ser uma explicação para os resultados experimentais obtidos por Eizirik e colegas (EIZIRIK et al., 2010) com cruzamentos de gatos *tabby* de padrões diferentes, como vimos na seção 2.4. A Fig. 2.31 ilustra essa ideia, que pode ser comparada com a Fig. 2.14, que mostra os resultados experimentais de Eizirik.

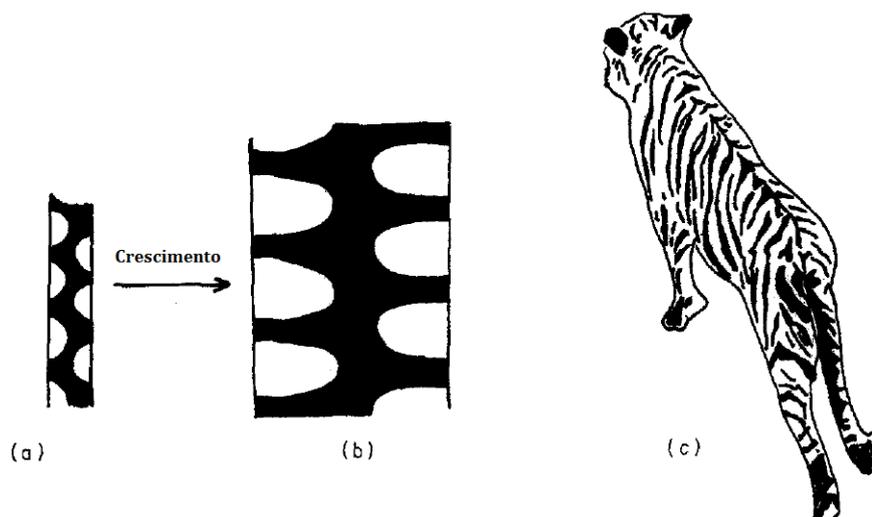


Figura 2.31: Um sistema de reação-difusão gerou um pré-padrão de pintas em (a). O corpo do embrião sofreu, após o encerramento deste processo, crescimento da região na qual as pintas se encontram, convertendo as mesmas em listras (b), que se espalham a partir da região central da imagem (correspondente à crista neural). Em (c), um exemplo de animal no qual isso poderia ter ocorrido, o tigre (*Panthera tigris*). Observa-se como as listras parecem se esticar a partir de uma “linha” nas costas, que corresponde à coluna vertebral (ou seja, a região correspondente àquela na qual se encontravam a crista neural, o tubo neural e a notocorda do embrião). Fonte da imagem: (MURRAY, 1981a).

## 2.8 Conclusão

Como pudemos ver nesta seção, sistemas de reação-difusão podem ser aplicados a uma grande gama de fenômenos de formação de padrões e estruturas nos seres vivos, além de sistemas químicos e mesmo como forma de gerar texturas similares às reais na área de computação gráfica. Além disso, existem vários fenômenos biológicos para os quais há evidências empíricas bastante favoráveis à reação-difusão ou a sistemas análogos; no entanto, ainda não se conhece como se dá a formação de pintas e listras na pelagem de mamíferos, e existem argumentos tanto favoráveis quanto contrários à aplicação de modelos de reação-difusão para este problema científico.

Embora exista uma vasta literatura a respeito destes sistemas, escritos sob a ótica de vários ramos das ciências (da matemática à biologia do desenvolvimento, da físico-química à computação gráfica), são poucos os trabalhos que tratam sobre o efeito do crescimento que ocorre durante e após o processo ou do formato do corpo do embrião. Os trabalhos de Walter e colegas com o mosaico clonal apresentam essa integração entre forma e padrão - caminho pelo qual pretendemos seguir nos próximos capítulos, agora para os sistemas de Turing.

### 3 METODOLOGIA

Neste capítulo, iremos detalhar os programas e algoritmos desenvolvidos para este trabalho, além das diferentes simulações que realizamos.

#### 3.1 Ferramentas Computacionais Desenvolvidas

Para a realização deste trabalho, usamos como base um simulador já existente de reação-difusão, o **Simple Reaction-Diffusion**, desenvolvido no laboratório do Prof. Marcelo Walter, o qual foi alterado conforme as necessidades de nossas simulações. A Figura 3.1 mostra um *screenshot* do programa, já contendo as funcionalidades desenvolvidas para este trabalho.

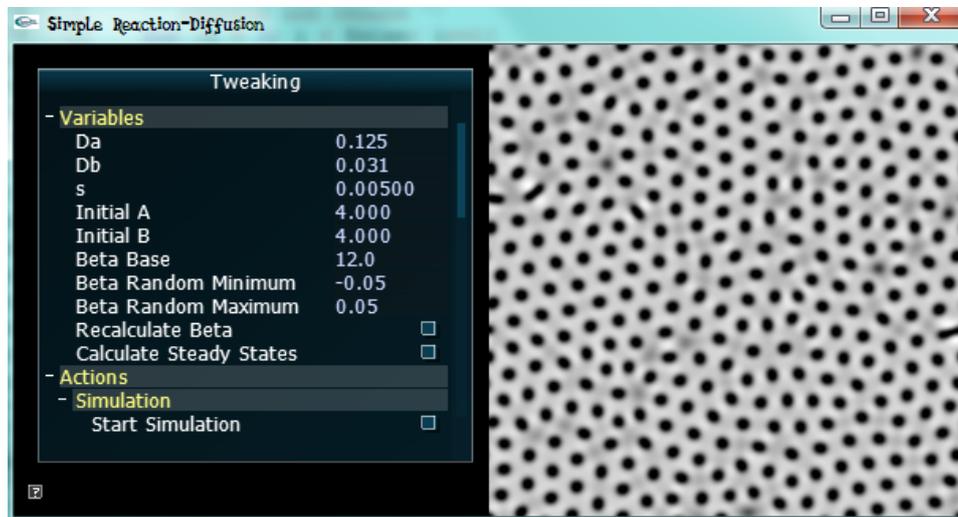


Figura 3.1: Interface gráfica do programa *Simple Reaction-Diffusion*. À esquerda, está o menu com as diversas opções de parâmetros e funcionamento, além dos botões de operação do sistema (que também podem ser acessados via atalhos do teclado). À direita, uma simulação de reação-difusão já encerrada utilizando os valores padrão para os parâmetros. Imagem produzida pelo autor.

O programa original foi escrito na linguagem C (C PROGRAMMING LANGUAGE, 1972) e utiliza as bibliotecas OpenGL (OPENGL, 1992), para a renderização gráfica dos resultados das simulações, e AntTweakBar (ANTTWEAKBAR, 2005), para adicionar uma interface gráfica que facilite a interação do usuário. O programa utiliza o sistema

de reação-difusão não-linear de Turing discretizado para duas dimensões (eq. 3.1) em um *grid* de 300 x 300 pixels de dimensão, permitindo simular um sistema bidimensional. Denominaremos cada um desses pixels como uma “célula” no contexto do programa; no entanto, isso não significa que cada pixel corresponda necessariamente a uma célula real. Neste programa, a visualização do resultado é feita mostrando o mapa de células na tela e as concentrações do morfógeno  $b$  são interpretadas como diferentes tons de cinza. Para um dado ponto no tempo, o máximo valor de  $b$  dentre os valores de cada uma das células é interpretado como a cor branca (i.e., todas as três cores básicas do RGB são iguais a 1)<sup>1</sup> e o menor valor como a cor preta (RGB igual a 0 para cada cor), e a cor correspondente a valores intermediários de  $b$  é normalizada para dentro deste intervalo. O programa proíbe valores negativos de  $a$  e  $b$  (isto é, caso após um passo uma célula fique com um valor negativo para a concentração de um morfógeno, ao invés disso este valor será 0 para a célula).

$$\frac{\Delta a_{i,j}}{\Delta t} = s(16 - a_{i,j}b_{i,j}) + D_a(a_{i-1,j} + a_{i+1,j} + a_{i,j-1} + a_{i,j+1} - 4a_{i,j}) \quad (3.1a)$$

$$\frac{\Delta b_{i,j}}{\Delta t} = s(a_{i,j}b_{i,j} - b_{i,j} - \beta_{i,j}) + D_b(b_{i-1,j} + b_{i+1,j} + b_{i,j-1} + b_{i,j+1} - 4b_{i,j}) \quad (3.1b)$$

$$a \geq 0, b \geq 0$$

Originalmente, as funcionalidades do programa incluem a definição do tempo de simulação, dos valores dos parâmetros  $D_a$ ,  $D_b$  e  $s$ , além do número de passos executados pela simulação, do valor médio de  $\beta$ , e dos limites de o quanto o valor de  $\beta$  de cada célula pode variar para cima ou para baixo dessa média. Este último valor, para cada célula, é gerado no início da simulação a partir de uma distribuição uniforme, usando uma função que recebe uma *seed* para a geração dos números aleatórios (permitindo reproduzir o mesmo padrão exato posteriormente), e não sofre alterações durante a simulação. Os dois lados do *grid* possuem condições de contorno circular, o que significa que há comunicação entre as células de extremidades opostas. Os valores dos morfógenos  $a$  e  $b$  no início da simulação são os mesmos para todas as células, e na versão original do programa era o valor de um ponto fixo<sup>2</sup> do sistema de equações para os valores padrão dos parâmetros, ou seja, o ponto  $a = 4$  e  $b = 4$ .

Várias funcionalidades foram adicionadas a este programa para a variedade de simulações e testes realizados. Para podermos testar o efeito da forma sobre o processo de reação-difusão, foi desenvolvida uma opção para carregar um “mapa” que contém um código para cada célula que indica qual o seu comportamento durante o processo. Este mapa é uma imagem com tamanho 300 x 300 pixels no formato PPM<sup>3</sup>; cada pixel dessa imagem corresponde a uma célula do *grid* dentro do programa, e o código de cada uma destas é indicado pela cor RGB do pixel, conforme mostrado na Tabela 3.1.

<sup>1</sup>O OpenGL normaliza os valores de RGB, que vão de 0 a 255 no conjunto dos números inteiros, para o intervalo de 0 a 1 dentro do conjunto dos números reais.

<sup>2</sup>Ponto no qual  $\partial a/\partial t = 0$  e  $\partial b/\partial t = 0$  para o trecho de reação das equações, ou seja, o ponto no qual a concentração dos morfógenos não muda e o sistema permanece indefinidamente no mesmo estado, denominado estado estacionário.

<sup>3</sup>*Portable pixmap format*, um formato de arquivo do tipo Netpbm, que armazena a imagem como um arquivo de texto e permite imagens coloridas ao gravar a cor RGB de cada pixel; para mais informações sobre imagens no formato Netpbm, consulte (NETPBM FORMAT, 2014).

Código	Cor (RGB)	Significado
0	Branco (255,255,255)	Célula fora do corpo (não há reação-difusão)
1	Preto (0,0,0)	Sem condição de fronteira circular
2	Vermelho (255,0,0)	Condição de fronteira circular horizontal
3	Verde (0,255,0)	Condição de fronteira circular vertical
4	Azul (0,0,255)	Diferentes concentrações iniciais dos morfógenos
5	Amarelo (255,255,0)	Condição de fronteira circular nos dois sentidos
6	Magenta (255,0,255)	Não utilizado até o momento
7	Ciano (0,255,255)	Diferentes concentrações iniciais dos morfógenos

Tabela 3.1: Código de cores para cada célula no *Simple Reaction-Diffusion*

Dessa forma, é possível limitar a área do *grid* que sofrerá reação-difusão para pertencer a uma forma definida complexa, como o corpo de um animal, o qual é considerado como o conjunto de células de código diferente de “0”. A parte correspondente à difusão nas equações implementadas foi alterada para depender do número de vizinhos de código “0” que uma dada célula possui, conforme ilustrado na Fig. 3.2.

Além disto, o uso de outras “cores” permite adicionar fronteiras circulares ao corpo do animal, conforme visto na Tabela 3.1. Por exemplo, uma célula de código “2” (fronteira circular horizontal) que esteja num limite horizontal da imagem vai possuir como vizinha uma célula localizada na extremidade oposta horizontal do corpo na mesma linha, permitindo a difusão com esta célula. Em todas as imagens que produzimos com este método, ambas as células que adquiriram vizinhança uma com a outra possuem o mesmo código de cor. Veja a Fig. 3.3 para mais detalhes. O Algoritmo 1 mostra, como exemplo, o caso de uma célula que se localiza na fronteira esquerda do corpo do animal, e busca seu vizinho esquerdo percorrendo as células à sua direita (a célula 2 da Fig. 3.3).

As cores “4” e “7” do código permitem alterar as concentrações iniciais dos morfógenos nos pixels que possuem estas cores. Ao carregar a imagem de mapa, o programa altera o valor inicial de  $a$  e/ou  $b$  (conforme definido pelo usuário, que pode escolher qualquer valor para adicionar ou subtrair da concentração de ambos os morfógenos) para células com estes códigos, e, a seguir altera o valor delas para “1”. Utilizamos duas cores para permitir dois tipos de células com alteração nas concentrações iniciais (por exemplo, uma célula com maior e outra com menor concentração inicial de  $b$ ). A possibilidade de diferentes valores de concentração inicial para algumas células afetarem o resultado final foi explorada por (BARD, 1981), ao obter listras paralelas com difusão anisotrópica (ver 2.7).

Para poder salvar o estado do sistema para análises e simulações posteriores, o programa ganhou uma funcionalidade que grava todos os valores de parâmetros e os valores de concentração dos morfógenos de cada célula para um dado instante da simulação em uma imagem PGM<sup>4</sup>. Assim, é possível visualizar o resultado em editores de imagem que leiam arquivos Netpbm (como por exemplo o GIMP, que nós utilizamos neste trabalho). As cores em si são salvas como inteiros de 0 (preto) a 255 (branco) para cada célula, além dos valores dos morfógenos. O programa também é capaz de ler um estado anterior de um sistema com suas características e rodar novas simulações a partir daí. Utilizamos esta funcionalidade para realizar análises sobre os resultados do sistema de reação-difusão, como veremos mais adiante.

Por fim, para podermos simular os efeitos do crescimento, criamos uma funcionalidade

<sup>4</sup>Portable graymap format, outro formato Netpbm, mas que permite apenas imagens em tons de cinza.

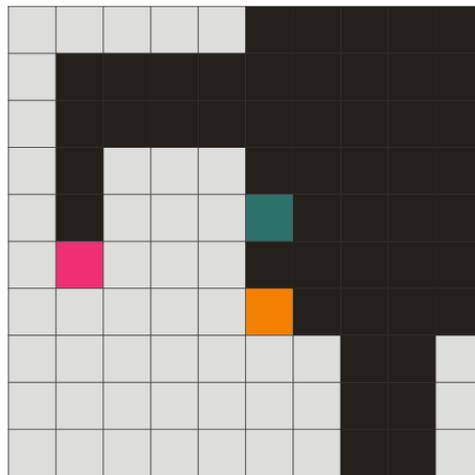


Figura 3.2: Exemplo de células fronteiriças. Nesta imagem, células brancas possuem código “0” (fora do corpo) e células pretas ou coloridas código “1” (corpo). Células pertencentes ao corpo do animal não sofrem difusão com as de código “0”, e seu termo de difusão é alterado para refletir isto. Na imagem acima, a célula de cor verde-água possui um vizinho “0”, sofrendo difusão apenas com os três vizinhos pertencentes ao corpo (ou seja, as células não brancas na imagem), e seu termo de difusão é igual a  $D_a(a_{i-1,j} + a_{i+1,j} + a_{i,j+1} - 3a_{i,j})$  para o morfógeno  $a$  (análogo para o  $b$ ) - não há difusão para o vizinho de posição  $(i, j - 1)$ , que é a célula branca à esquerda. A célula laranja possui difusão com dois vizinhos e a rosa apenas com seu vizinho acima, o único que também pertence ao corpo do animal (o termo de difusão de  $a$  da mesma é igual a  $D_a(a_{i-1,j} - a_{i,j})$ ). As cores destas três células não possuem nenhuma relação com o código de cores ou a simulação real, e foram usadas apenas para ilustrar o número de vizinhos nesta imagem. Imagem produzida pelo autor.

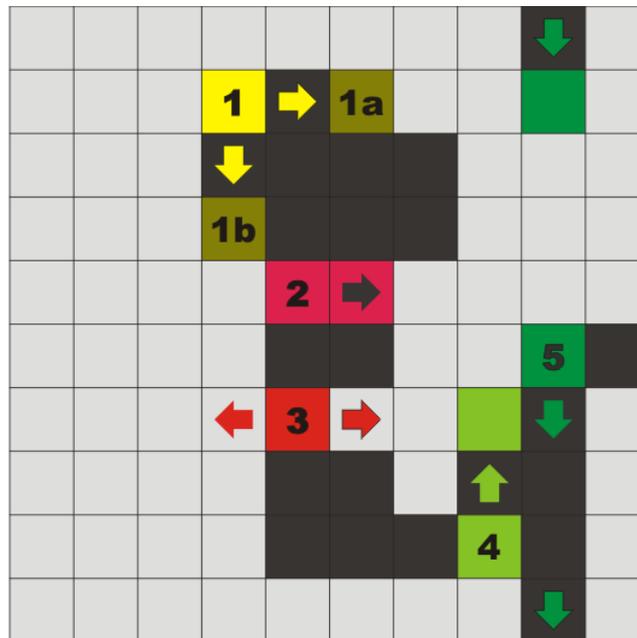


Figura 3.3: Busca por vizinhos para células com condição de fronteira circular. A célula amarela 1 possui condição de fronteira circular nas duas direções, portanto possui contato direto com a outra extremidade da parte do corpo onde se localiza, em ambos os sentidos (que são, no caso, as células 1a e 1b). Para encontrar o vizinho à esquerda da célula (a célula com a qual a extremidade esquerda de 1 realizará troca de morfógenos via difusão), o programa percorre a lista de todas as células no sentido oposto ao da fronteira esquerda, isto é, para a direita, até encontrar uma célula de código “0” (nova fronteira). A última célula de código diferente de “0” encontrada, a célula 1a, é considerada a vizinha à esquerda de 1. A mesma lógica é aplicada para se encontrar o vizinho de cima da célula 1, que é a célula 1b. Tais células representam o contato entre regiões que, na superfície real tridimensional, estariam contíguas, e portanto substâncias difusíveis passariam da célula amarela para a dourada e vice-versa pela superfície de contato das células. A célula 2 representa um exemplo de condição de fronteira horizontal. A outra célula de cor vermelho-néon é tanto a vizinha normal à direita quanto a vizinha à esquerda obtida pelo algoritmo de busca de vizinhos, como se estas duas células formassem um anel. A célula 3 possui como vizinha, nos dois sentidos da direção horizontal, ela mesma (o que equivale a não haver difusão horizontal). Já a célula 4 possui condição de fronteira vertical. Como seu limite com a região de fora do corpo se encontra abaixo dela, o algoritmo vai percorrendo as células acima dela até encontrar a outra célula verde-clara, a última célula não-“0” neste sentido. Por fim, para encontrar a vizinha da célula 5 o algoritmo percorre o *grid* até o final e, não encontrando células de código “0”, continua percorrendo do outro lado até encontrar a célula verde-escura, que se encontra também no limite das células correspondentes ao corpo. No entanto, como não há condições de contorno horizontais, não há difusão na face esquerda da célula com o outro lado da região onde ela se localiza, apenas a difusão normal com o vizinho contíguo à direita. Imagem produzida pelo autor.

---

**Algoritmo 1** Busca Vizinho para Condição de Contorno Circular à Esquerda do Limite
 

---

**Input:** Array bidimensional (matriz)  $M$  de dimensões  $N \times N$ , onde cada elemento corresponde a uma célula do sistema e possui um valor  $p$  tal que  $0 \leq p \leq 7$ , o qual é o código de cores (conforme a Tabela 3.1) para aquela célula; além disso, este procedimento recebe como entrada o par ordenado  $(x, y)$ , que é a posição da célula cujo vizinho se deseja descobrir.

**Output:** Tupla  $(i, j)$  de inteiros tais que  $0 \leq i \leq N - 1$  e  $0 \leq j \leq N - 1$ , representando as coordenadas do vizinho encontrado para a célula de coordenadas  $(x, y)$

```

1:
2: procedure ACHAVIZINHOFRONTEIRAESQUERDA( $M_{N \times N}, (x, y)$ )  $\rightarrow (i, j)$ 
3:                                      $\triangleright$  //Este é o caso da célula 2 da Fig. 3.3
4:   if ( $M_{x,y} = 2 \vee M_{x,y} = 5$ )  $\wedge$  ( $M_{x,y-1} = 0$ ) then
5:      $i \leftarrow x$ 
6:      $j \leftarrow y$ 
7:     while  $j \leq N - 2$  do
8:       if  $M_{i,j+1} = 0$  then return  $(i, j)$ 
9:       end if
10:       $j \leftarrow j + 1$ 
11:    end while
12:    if  $j = N - 1 \wedge M_{i,0} = 0$  then return  $(i, j)$ 
13:                                      $\triangleright$  //Chegou à última coluna
14:    end if
15:     $j \leftarrow 0$                                       $\triangleright$  //Busca do outro lado do sistema
16:    while  $j \leq y - 1$  do
17:      if  $M_{i,j+1} = 0$  then return  $(i, j)$ 
18:       $\triangleright$  // $M_{x,y-1} = 0$ , logo no máximo retorna  $(x, y - 2)$ 
19:      end if
20:    end while
21:  end if
22: end procedure

```

---

dade que carrega novos mapas durante o processo, em intervalos definidos pelo usuário, a partir de uma lista de mapas definida ao iniciar a simulação. Com isso, é possível alterar a forma da imagem ao mudar quais células serão considerados como “0” (fora do corpo do animal). Ao passar do código “0” para qualquer outro código de cor, a célula inicialmente adota valores de  $b$  e  $a$  iguais ao valor inicial padrão definido no início das simulações (após as alterações que realizamos no programa, este valor pode ser definido pelo usuário). No entanto, o  $\beta$  de cada uma das células é calculado no início do programa não importando o código de cor dela, então as células que passaram a fazer parte do corpo possuem seu valor  $\beta$  determinado aleatoriamente. O crescimento é simulado se as imagens de mapa que são lidas pelo sistema representarem diferentes estados sucessivos do desenvolvimento embrionário do animal.

Para podermos analisar características dos resultados, desenvolvemos um programa independente, na linguagem Python 2.7 (PYTHON PROGRAMMING LANGUAGE, 1991). Este programa recebe como entrada um arquivo de imagem PGM gerado pelo programa *Simple Reaction-Diffusion*, na funcionalidade de salvar estado do sistema, e calcula o tamanho de cada pinta da imagem, obtendo ao fim estatísticas que incluem o número de pintas, a área média (em pixels), o desvio-padrão dessas áreas, e o raio das pintas (se cada pinta fosse aproximada como um círculo). Para discernir que células correspondem ou não a pintas, o programa converte a imagem em tons de cinza para preto (pintas) e branco (fundo). Utilizamos três algoritmos de binarização de imagens (conversão de tons de cinzas para preto e branco), sendo cada um uma versão diferente do programa (ver Fig. 3.4 para uma comparação dos resultados): primeiro, um método baseado na cor média do sistema, calculada para cada ponto do sistema que faça parte de um corpo (não possui código “0”), e que considera cores acima de zero como “branco” e abaixo como “preto”; em segundo, uma implementação do Método de Otsu (ver (OTSU’S METHOD, 2014) para mais detalhes), que calcula o limiar ótimo de forma a minimizar a variância intraclasse de cada uma das duas classes de pixels (preto e branco); e por fim o método de interpretação das cores correspondentes aos morfógenos usado por (BARD, 1981), (BARD; LAUDER, 1974) e (MURRAY, 1981a), que considera células cujo valor de  $b$  esteja abaixo do ponto fixo ( $b = 4$ ), o correspondente a valores padrão dos parâmetros, como pixels pretos, e as outras como pixels brancos. A imagem binarizada é salva no formato PBM<sup>5</sup>. Note-se que esta codificação é independente do código de cores que determina células do corpo do animal (embora todo pixel que não venha de dentro do corpo é marcado como “0” neste programa).

Após obter uma imagem binarizada, o programa vai calcular o tamanho de cada pinta, isto é, de cada conjunto de pontos contíguos cuja cor seja preta. O algoritmo está descrito abaixo (Algoritmo 2), e basicamente o que ele faz é ler sequencialmente o valor de cada pixel marcado como “1” e buscar recursivamente pelos seus vizinhos marcados igualmente como “1” (nos quatro sentidos), calculando a quantidade de pixels encontrados. Para evitar que pixels já lidos sejam somados a essa quantidade, os pixels de valor “1” encontrados são convertidos para o valor “-1” (que significa “pixel preto já lido”). A recursão em cada direção termina ao encontrar o limite da pinta (pixel marcado como “0” ou “-1” na imagem binarizada). Os tamanhos de pintas são marcados em uma estrutura do tipo dicionário (uma coleção em que cada membro possui uma chave que o referencia e um valor), para salvar quantas pintas de cada tamanho foram encontradas. Por fim, o programa executa cálculos de quantidade total de pintas, média e desvio-padrão das áreas

<sup>5</sup> *Portable bitmap format*, formato de imagem Netpbm em preto e branco, no qual cada pixel é representado apenas por um bit, 1 (preto) ou 0 (branco).

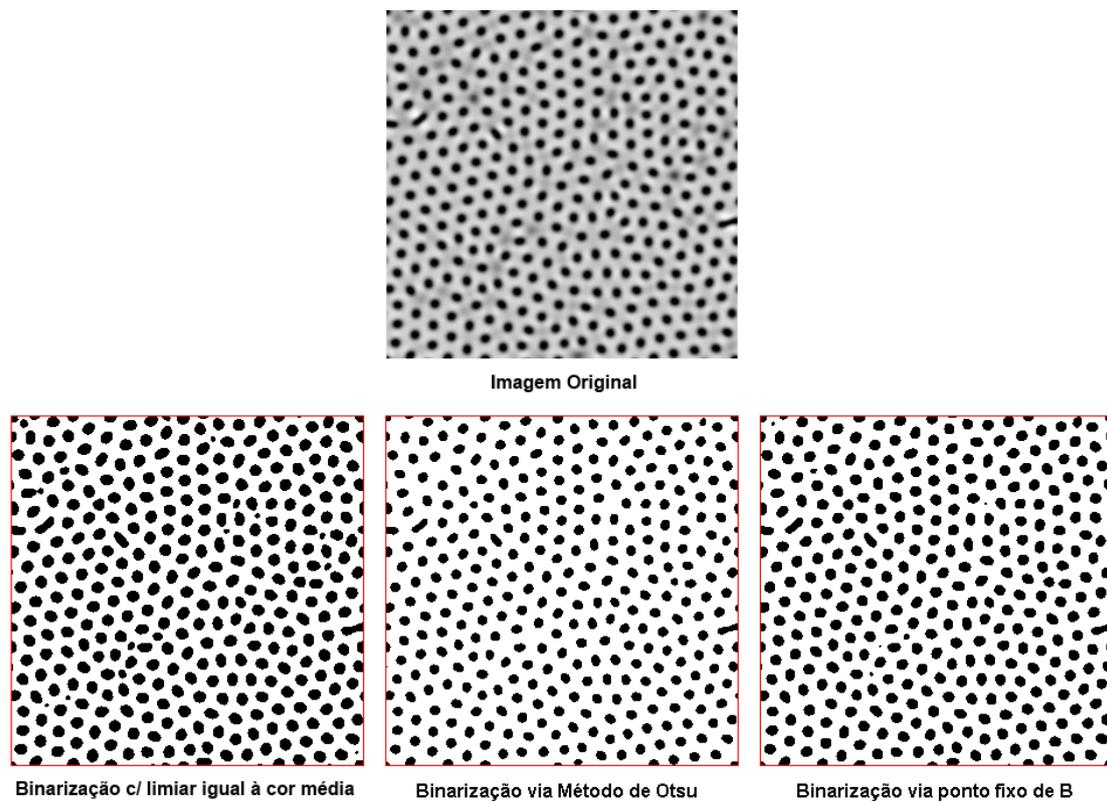


Figura 3.4: Exemplo de binarização de imagem utilizando os três algoritmos descritos no texto. A imagem original é o resultado de uma simulação utilizando os valores padrão para os parâmetros. Imagens produzidas pelo autor.

das mesmas, raio médio (aproximação da pinta como um círculo) e a porcentagem de pixels pretos dentre o total, e estes valores, junto com todas as entradas do dicionário de quantidade de pintas por tamanho, são salvos em um arquivo de texto.

### 3.2 Simulações Realizadas

Utilizando o programa descrito na seção anterior, realizamos uma série de simulações, variando parâmetros e características do sistema. Primeiro, estudamos o efeito de diferentes taxas de difusão  $D_a$  e  $D_b$  e velocidade  $s$  das reações, executando simulações sobre todo o *grid* de 300 x 300 células variando estes parâmetros. Realizamos uma análise sobre as imagens obtidas na variação de  $s$  para averiguar a relação entre este parâmetro e o tamanho das pintas.

Após isso, executamos simulações usando a funcionalidade de carregar imagens de mapa para estudar os efeitos da forma. Primeiro, utilizamos apenas os códigos de cores “0” e “1”, separando células de fora e de dentro do corpo; neste caso, não havia condições de fronteira ou contorno circulares (isto é, uma célula que fique no limite do corpo não sofre difusão com células que não estejam adjacentes a ela). Depois utilizamos os outros códigos de cores para adicionar condições de contorno, de forma a aumentar a plausibilidade biológica da simulação. Utilizamos o mesmo modelo de corpo (Fig. 3.5) de animal planejado usado por Murray (MURRAY, 1981a), ressaltando que este formato não é o mesmo que existe em um embrião normal, mas serve para ilustrar as propriedades dos sistemas de reação-difusão que desejamos estudar. Também realizamos uma comparação entre os resultados de triângulos (interpretados como cones planejados) de diferentes larguras, para estudar o efeito de superfícies finas (cilindros) na conversão de pintas a listras.

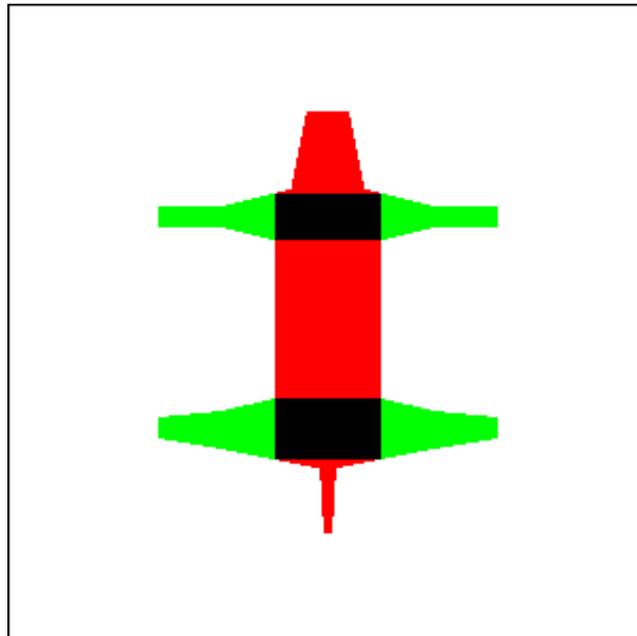


Figura 3.5: Imagem (modelo de corpo) utilizada nas simulações. Foi usado o mesmo modelo de corpo que (MURRAY, 1981a). As regiões brancas indicam áreas que não pertencem ao corpo, ao passo que as regiões coloridas ou pretas correspondem ao animal, possuindo condições de fronteira circulares conforme o código de cores da tabela 3.1. Imagem produzida pelo autor.

---

**Algoritmo 2** Calcula Número de Pintas
 

---

**Input:** Array bidimensional (matriz)  $M$  de dimensões  $N \times N$ , onde cada elemento corresponde a um pixel da imagem, e pode assumir os valores inteiros 1 para pixel preto e 0 para pixel branco.

**Output:** Dicionário  $D$ , onde cada chave é um tamanho de pintas e o valor acessado por esta chave é a quantidade de pintas que apresenta este tamanho.

```

1:
2: procedure CALCULAPINTAS( $M_{N \times N}$ )  $\rightarrow D$ 
3:    $D \leftarrow \{\}$  ▷ //Dicionário Vazio
4:   for  $i = 0, \dots, N - 1$  do
5:     for  $j = 0, \dots, N - 1$  do
6:        $p \leftarrow M_{i,j}$ 
7:       if  $p = 1$  then
8:          $t \leftarrow buscaPintaNoMapa(M, i, j)$ 
9:         if  $D$  possui chave  $t$  then
10:           $D_t \leftarrow D_t + 1$  ▷ //Adiciona +1 ao valor acessado pela chave t
11:        else
12:           $D_t \leftarrow 1$  ▷ //Cria nova entrada com chave t e valor 1
13:        end if
14:      end if
15:    end for
16:  end for
17:  return  $D$ 
18: end procedure
19:
20: function BUSCAPINTANOMAPA( $M_{N \times N}, i, j$ )  $\rightarrow t$ 
21:  if  $M_{i,j} = 1$  then
22:     $M_{i,j} \leftarrow -1$ 
23:     $iprev \leftarrow (i + N - 1) \bmod N$  //Para que o  $iprev$  de 0 seja  $N - 1$ 
24:     $inext \leftarrow (i + 1) \bmod N$ 
25:     $jprev \leftarrow (j + N - 1) \bmod N$ 
26:     $jnext \leftarrow (j + 1) \bmod N$ 
27:     $t \leftarrow 1$ 
28:     $t \leftarrow t + buscaPintaNoMapa(M, iprev, j)$ 
29:     $t \leftarrow t + buscaPintaNoMapa(M, inext, j)$ 
30:     $t \leftarrow t + buscaPintaNoMapa(M, i, jprev)$ 
31:     $t \leftarrow t + buscaPintaNoMapa(M, i, jnext)$ 
32:    return  $t$ 
33:  else
34:    return 0
35:  end if
36: end function

```

---

Realizamos também algumas simulações utilizando diferentes concentrações iniciais dos morfógenos na área correspondente à crista neural (usando para tanto as cores de código “4” e “7”). Nestas simulações, alteramos o valor inicial de  $b$  ou de ambos os morfógenos. Como são células do interior do corpo do animal e não da borda da imagem, não há necessidade de condições de contorno circulares, portanto elas podem ser redesignadas como “1” pelo programa sem perda da plausibilidade.

Quanto ao efeito do tamanho do corpo em relação ao padrão, realizamos simulações com *grids* quadrangulares de diferentes tamanhos estáticos; estes resultados foram analisados com o programa desenvolvido em Python. Também realizamos simulações utilizando uma versão menor do molde de animal que desenvolvemos.

Finalmente, testamos o efeito do crescimento no nosso sistema de reação-difusão. Para simular a mudança de tamanho, criamos uma sequência de 16 imagens representando o modelo de animal utilizado por Murray em diferentes tamanhos, permitindo uma sequência linear de crescimento (Fig. 3.6). Visando uma maior plausibilidade biológica, escolhemos um intervalo de tempo correspondente aos períodos nos quais há o possível desenvolvimento do pré-padrão de acordo com (KAELIN et al., 2012) para o gato doméstico (escolhido como modelo de estudo devido à presença dos padrões *tabby*), isto é, de cerca de três semanas e meio (24 dias) até sete semanas (42 dias). As medidas de tamanho correspondentes foram retiradas de (KNOSPE, 2002) (ver Tabela 3.2), e supomos um crescimento linear (o que, para este intervalo, está de acordo com os dados empíricos - Fig. 3.7); considerando o maior tamanho dentre as 16 imagens como o tamanho final deste intervalo, a proporção de tamanho da imagem inicial é a encontrada na imagem de número 6 (que possui 37,5% ou 6/16 do tamanho da imagem de número 16).

Idade (dias)	Comprimento (mm)	Notas
23-25	17-34	-
25-28	21-40	-
28-32	25-50	-
32-38	35-60	Sem desenvolvimento de pelos e folículos
38-44	50-80	Surgimento dos folículos
44-48	59-94	Surgimento dos pelos
48-60	65-125	Coloração dos pelos
58-66	90-186	-

Tabela 3.2: Medidas de comprimento dos estágios de desenvolvimento embrionário do gato (*Felis catus*). Cada medida é para o comprimento medido da cabeça à base da cauda. Fonte: (KNOSPE, 2002)

Para todas as simulações, a menos que seja dito em contrário, os valores padrão para os parâmetros e opções foram de  $s = 0.005$ ,  $D_a = 0.125$ ,  $D_b = 0.031$ ,  $\bar{\beta} = 12$  (i.e.,  $\beta$  médio), limites da variação aleatória de  $\beta$  de  $\pm 0.05$ , valores iniciais para os morfógenos em cada célula  $a = 4$  e  $b = 4$ , e número de passos igual a 16.000.

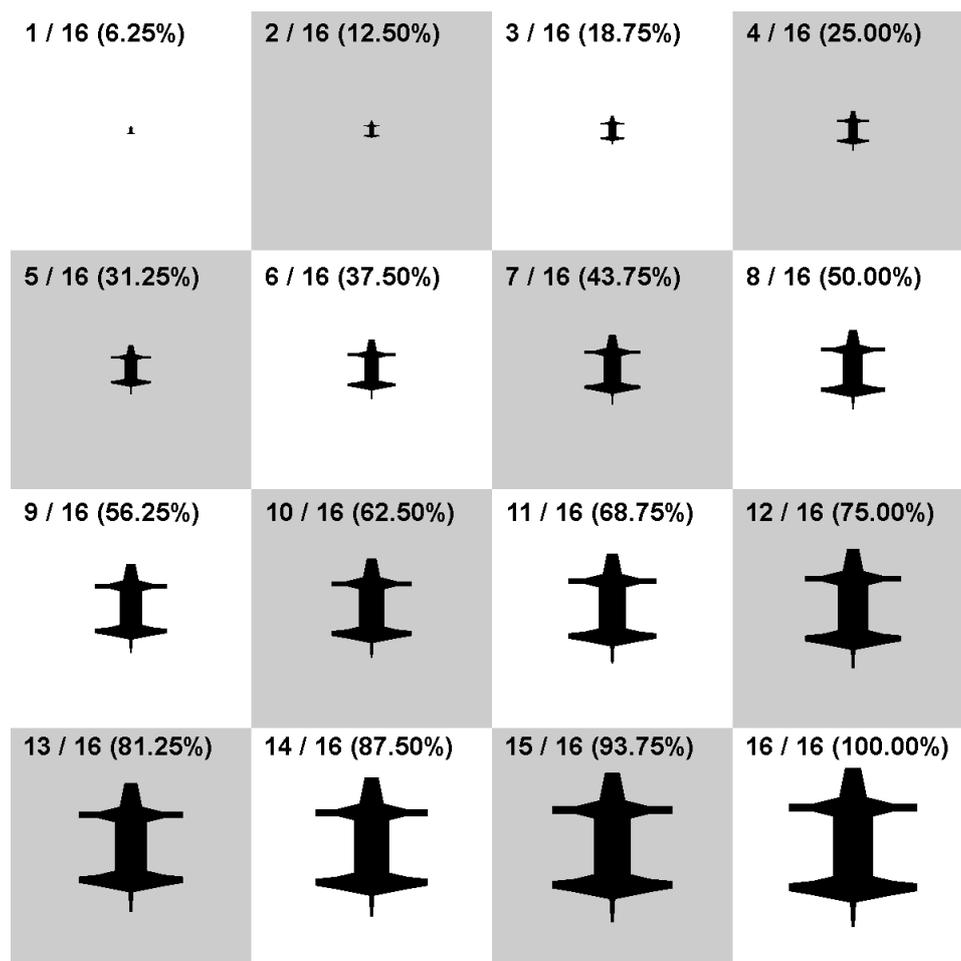


Figura 3.6: Sequência de imagens representando 16 estágios de crescimento linear do modelo de animal utilizado em nossas simulações. Cada imagem representa uma porcentagem do modelo crescido final (a imagem de número 16), e consiste desta última imagem em diferentes escalas. Imagem produzida pelo autor.

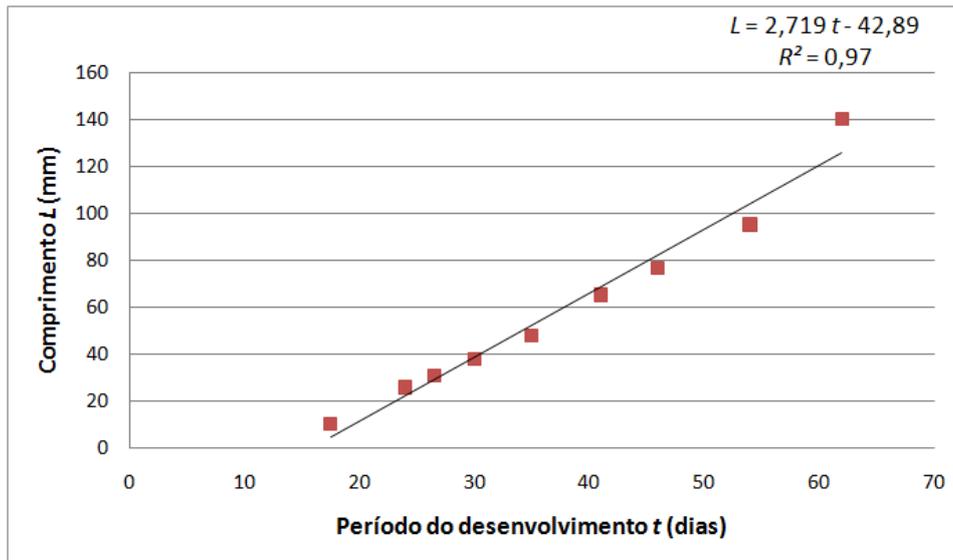


Figura 3.7: Relação entre o comprimento do corpo  $L$ , em milímetros, e o período do desenvolvimento  $t$ , em dias, para o gato doméstico (*Felis catus*), de acordo com (KNOSPE, 2002). Os pontos no gráfico são os valores médios de tempo e tamanho para cada um dos períodos da tabela 3.2, e a relação obtida foi a reta  $L = 2.719t - 42.89$ . Ressaltamos que esta relação só é válida para o intervalo de tempo mostrado na Tabela 3.2, não sendo aplicável a períodos anteriores. Gráfico produzido pelo autor.

### 3.3 Conclusão

Neste capítulo apresentamos os programas que desenvolvemos para realizar nossas simulações, detalhando as funcionalidades implementadas, e listamos quais as simulações que executamos. Os resultados dessas simulações serão vistos no próximo capítulo.

## 4 RESULTADOS

Neste capítulo, apresentaremos os resultados de nossas simulações e aquilo que se pode concluir diretamente das imagens ou dados produzidos (a discussão do significado destes resultados está no Cap. 5).

### 4.1 Variação dos Parâmetros

Nossas primeiras simulações foram com a variação dos parâmetros  $D_a$  e  $D_b$  (difusão) e  $s$  (reação). A Fig. 4.1 mostra um mapa de parâmetros com os resultados de várias simulações nas quais foram variados apenas os coeficientes de difusão dos morfógenos. Observa-se que não há a formação de um padrão coerente quando  $D_a/D_b$  é baixa (isto é,  $D_a \gg D_b$  é condição necessária para haver a formação do padrão). Além disso, quando esta relação é alta o bastante, há a junção das pintas para estruturas similares a um “labirinto”.

A Figura 4.2 mostra os resultados obtidos através da variação de  $s$ . Pode se observar claramente uma relação entre  $s$  e o tamanho das pintas - quanto maior o valor de  $s$ , menores são as pintas. Além disso, quanto menor for  $s$ , maior é o número de passos necessários para que o sistema atinja um estado estável do ponto de vista da forma (isto é, um estado no qual não há nenhuma alteração significativa no padrão resultante ainda que possa haver uma pequena variação numérica nos valores dos morfógenos). Valores de  $s$  acima de 0,2 levam o sistema a divergir para valores infinitos de  $b$ ; valores muito baixos de  $s$  mantém um padrão “nublado” mesmo após um considerável número de passos (não há mais variação significativa nos valores e na forma, mas o sistema não possui formas definidas como nos valores intermediários).

Analizamos os resultados destas simulações para encontrar a relação entre  $s$  e tamanho das pintas, utilizando o programa em Python que desenvolvemos. Os resultados desta análise estão na Tabela 4.1 para os três algoritmos de binarização de imagem. Notamos que, apesar dos algoritmos terem produzidos diferentes áreas médias das pintas para cada valor de  $s$ , a relação entre tamanho e  $s$  é basicamente a mesma para os três. Na Fig. 4.3, mostramos a lei de potência calculada para a relação entre a área média  $\bar{A}$  e  $s$  para os três algoritmos. Esta relação sugere a possibilidade de uma relação linear entre  $\bar{A}$  e  $1/s$ , de forma que  $\bar{A} \propto 1/s$ ; a Figura 4.4 mostra a reta obtida entre  $1/\bar{A}$  e  $s$  para os três algoritmos, e os valores de  $R^2$  para cada um deles. O  $R^2$  elevado sugere que esta relação linear se ajusta bem aos dados, com a possível exceção do obtido pelo método de Otsu. Este nosso resultado está de acordo com a análise de Bard da relação entre  $s$  e o comprimento de onda químico (BARD; LAUDER, 1974), como veremos no capítulo 5.

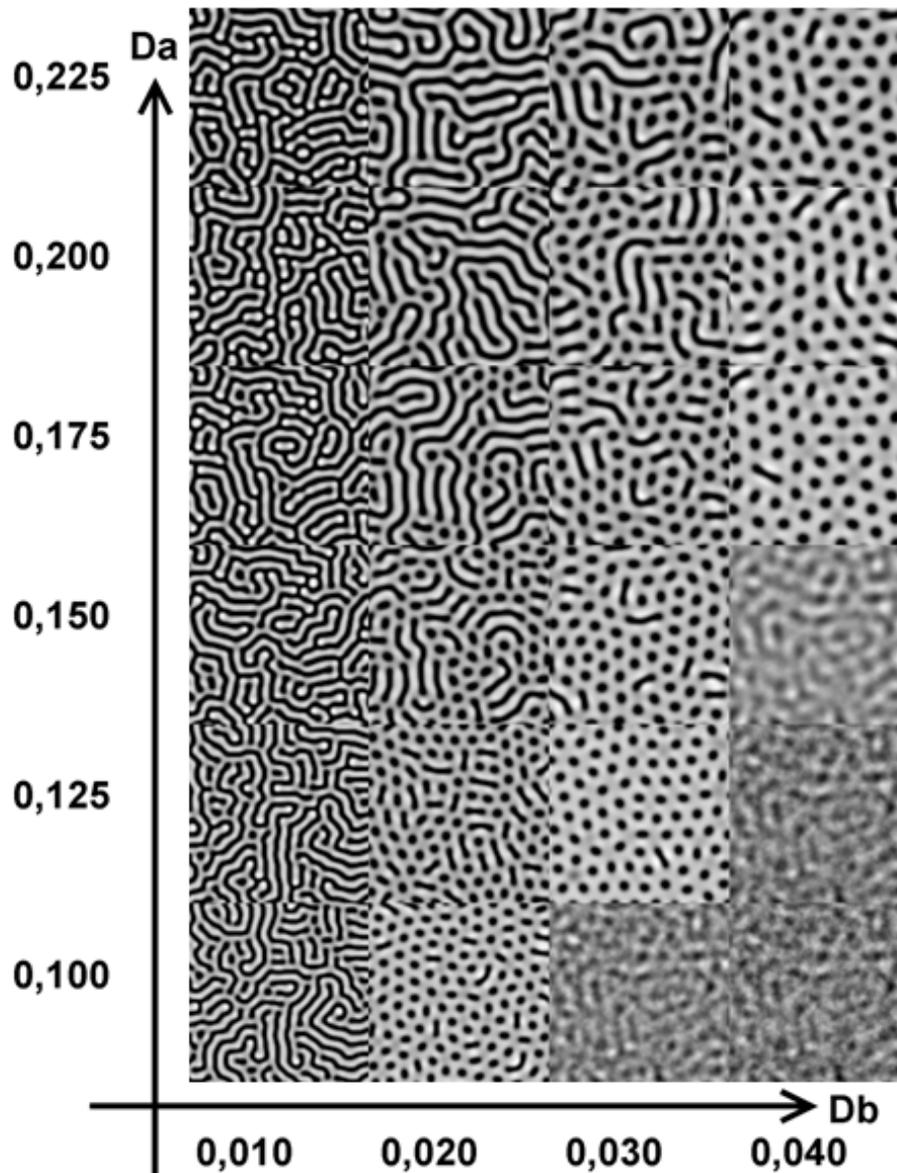


Figura 4.1: Resultados para diferentes valores dos coeficientes de difusão  $D_a$  e  $D_b$ . A figura mostra recortes das imagens inteiras resultantes das simulações, para aumentar a resolução dos detalhes. Imagem produzida pelo autor.

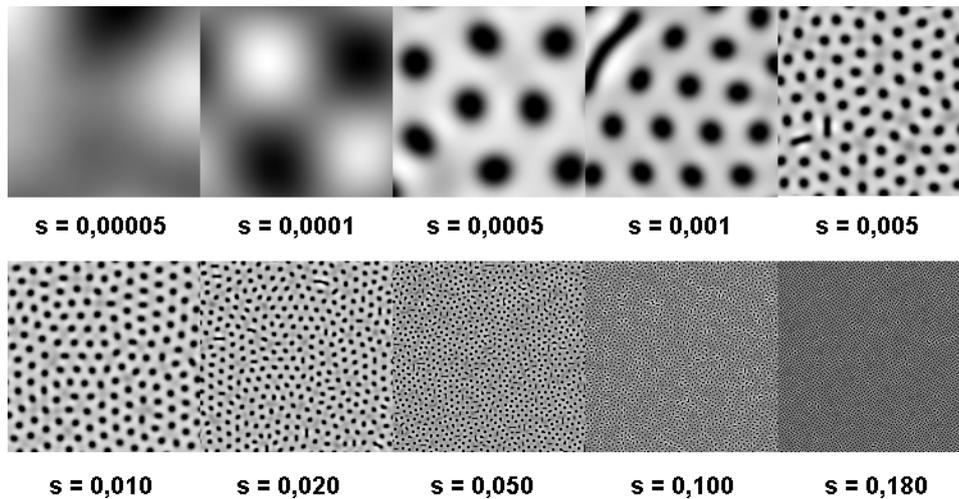


Figura 4.2: Resultados para diferentes valores do parâmetro  $s$ . A figura mostra recortes das imagens inteiras resultantes das simulações, para aumentar a resolução dos detalhes. Valores baixos de  $s$  (abaixo de 0,05) levaram mais que o número padrão de passos (16.000) para chegar a um resultado estável. Os tempos para as imagens são de 15 vezes este número padrão de passos para  $s = 0,001$ , 20 vezes para  $s = 0,0005$ , 70 para  $s = 0,0001$ , e 80 para  $s = 0,00005$ . Imagem produzida pelo autor.

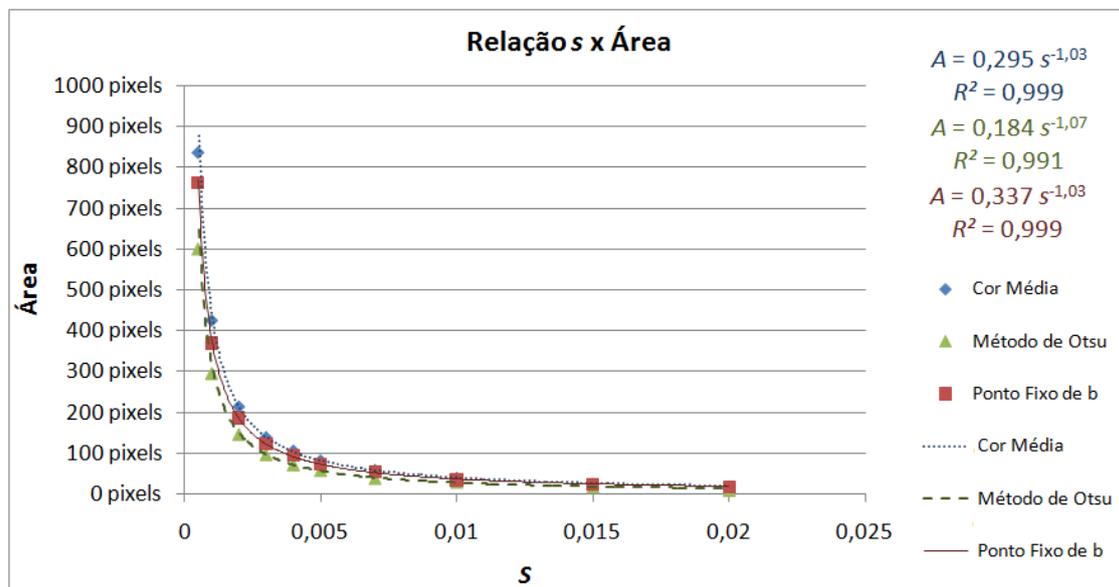


Figura 4.3: Relação encontrada entre  $s$  e a área média  $\bar{A}$  das pintas para os três algoritmos de binarização (cor média cinza dos pixels, método de Otsu, e limiar igual ao valor do ponto fixo de  $b$ ). As funções encontradas para cada relação estão mostradas no gráfico, na mesma cor que a relação correspondente. Gráfico produzido pelo autor.

$s$	Área média (Média)	Área média (Otsu)	Área média ( $b$ )
0,0005	835,3	601,0	760,0
0,0010	425,0	296,3	367,6
0,0020	214,4	147,1	185,2
0,0030	139,2	97,3	121,1
0,0040	106,6	72,5	92,6
0,0050	82,6	58,4	71,4
0,0070	58,9	38,8	52,5
0,0100	39,8	29,5	33,3
0,0150	25,2	18,4	22,8
0,0200	18,4	9,3	16,6

Tabela 4.1: Relação entre tamanho médio da pinta e  $s$ , para cada um dos três algoritmos de binarização de imagem (via cor cinza média dos pixels, método de Otsu e limiar igual ao valor de ponto de fixo de  $b$ ). A área média de cada uma das pintas encontradas é medida pela quantidade de pixels que compõem, em média, cada pinta.

Por fim, a figura 4.5 mostra algumas simulações nas quais tanto o valor de  $s$  quanto o da constante de difusão  $D_b$  foram variados ao mesmo tempo. Estes resultados mostram que as “listras” labirínticas para valores baixos de  $D_b$  também tem suas larguras aumentadas e diminuídas quanto  $s$  varia.

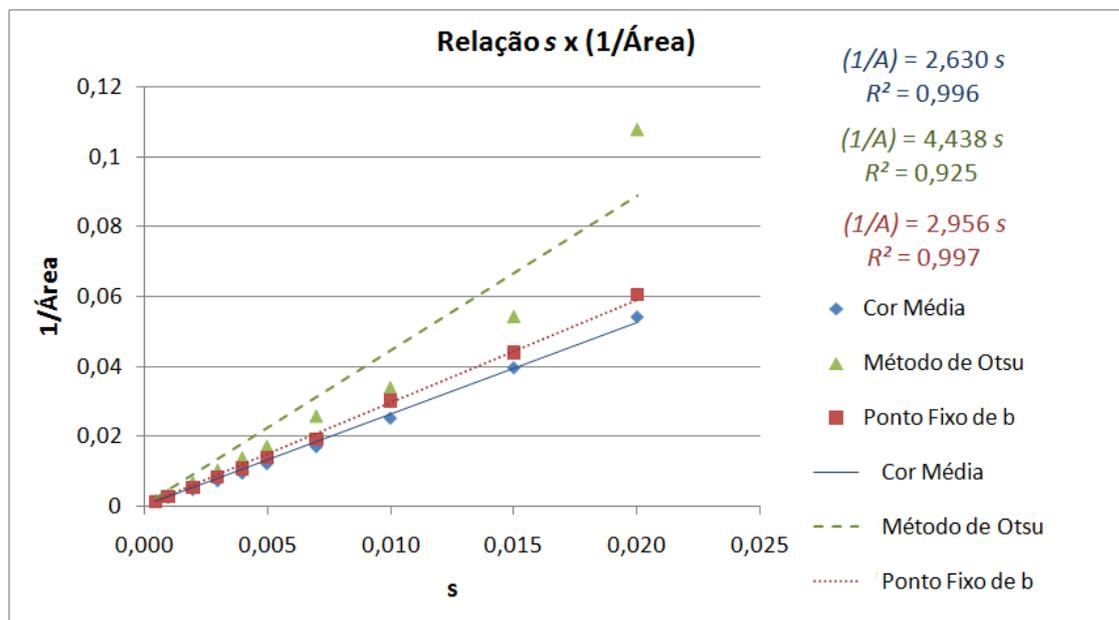


Figura 4.4: Relação linear encontrada entre  $s$  e o inverso da área média  $1/\bar{A}$  das pintas para os três algoritmos de binarização (cor média cinza dos pixels, método de Otsu, e limiar igual ao valor de ponto fixo de  $b$ ), forçando a intersecção no zero (i.e., se  $s = 0$  então  $1/\bar{A} \rightarrow 0$ ). As retas encontradas para cada relação estão mostradas no gráfico, na mesma cor que a relação correspondente. Gráfico produzido pelo autor.

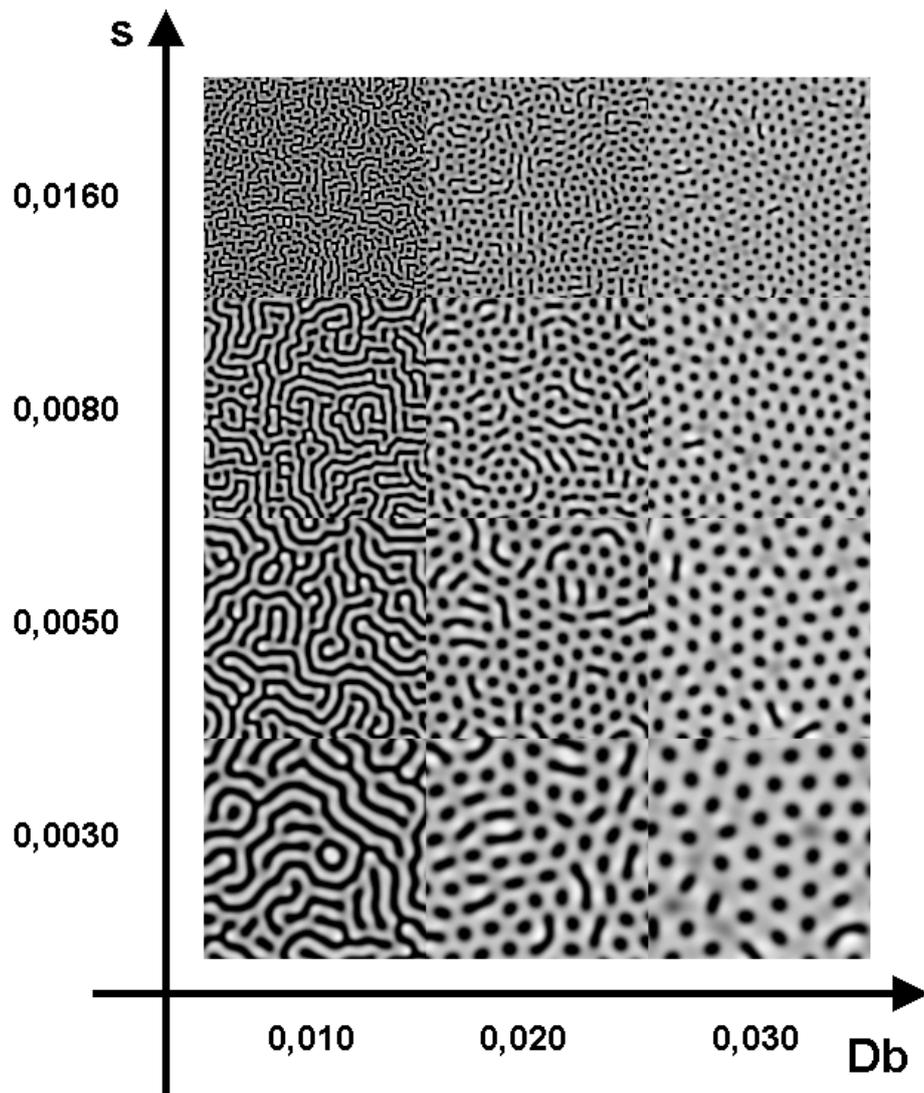


Figura 4.5: Resultados para diferentes valores tanto do coeficiente de difusão  $D_b$  quanto do parâmetro  $s$ . A figura mostra recortes das imagens inteiras resultantes das simulações, para aumentar a resolução dos detalhes. Imagem produzida pelo autor.

## 4.2 Efeito da Forma

Nossos próximos resultados levaram em conta o efeito da forma. A Fig. 4.6b apresenta as simulações que realizamos utilizando o modelo animal similar ao de Murray, sem condições de contorno circulares (isto é, com *zero-flux boundary conditions*), comparada com um recorte da simulação normal (sem forma). Observa-se a formação de listras apenas na ponta da cauda, a estrutura mais fina do corpo do modelo de animal, o que está de acordo com as simulações de Bard sobre condições de contorno em superfícies 2D (ver seção 2.6). Estudamos este caso variando o parâmetro  $s$  (Fig. 4.7), e foi observado que para valores de  $s$  menores que o padrão de  $s = 0.005$  (e conseqüentemente com maiores pintas que o resultado deste último) as listras começam a aparecer em regiões menos estreitas, como as patas. Além disso, tal como nas simulações para todo o *grid*, sistemas com  $s$  menor levam mais tempo até atingir um estado estável.

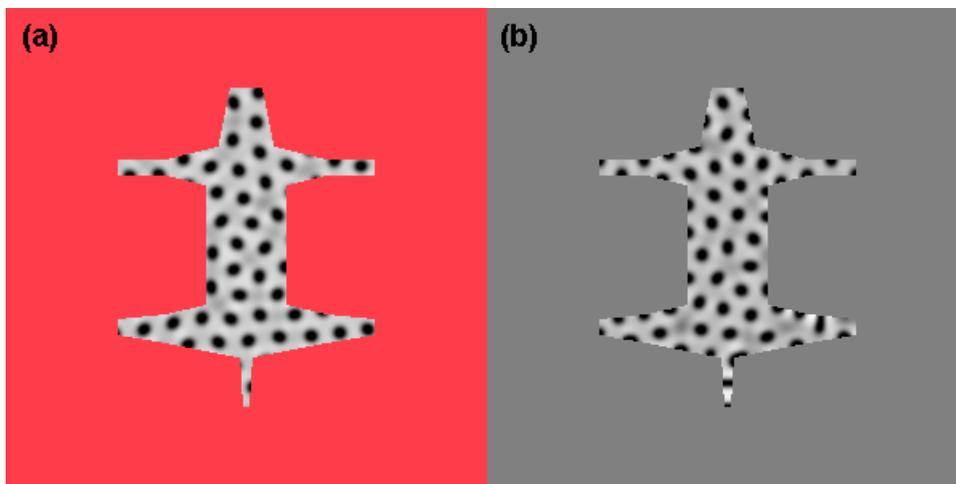


Figura 4.6: Comparação do resultado da simulação utilizando a forma de animal sem condições de fronteira circulares (b) com um recorte na mesma forma de uma simulação normal, executada sobre todo o *grid* (a). O resultado utilizando a forma de animal foi obtido após 32.000 passos (duas vezes o valor padrão). Imagem produzida pelo autor.

Utilizando a mesma forma básica, mas com condições de fronteira circulares e o algoritmo de obtenção de vizinhos, obtivemos os resultados mostrados na Figura 4.8b. É possível observar que com as condições de fronteira circulares o sistema demonstrou uma maior facilidade para converter pintas em listras. Variando o parâmetro  $s$  (Fig. 4.9), novamente observamos uma maior facilidade para a formação de listras para cada modelo em comparação com seu correspondente com *zero-flux boundary conditions*.

Na Fig. 4.10, mostramos alguns resultados de simulações para diferentes valores de  $s$  e com condições de contorno circulares, mas com o coeficiente de difusão  $D_b$  igual a 0,010, obtendo animais com listras labirínticas. Mais uma vez,  $s$  afeta tanto o tamanho das estruturas formadas quanto o tempo de estabilização do padrão.

Por fim, para analisar o efeito de formação de listras no lugar de pintas separadamente do resto da forma, simulamos reação-difusão em triângulos de diferentes ângulos de abertura, significando diferentes larguras de estruturas cônicas ou cilíndricas planificadas (Fig. 4.11), que podem representar uma cauda, uma pata ou outro tipo de apêndice. Corroborando nossos resultados anteriores, a presença de condições de fronteira circulares facilitou o surgimento de listras em superfícies de maior largura. Além disso, um resultado interessante foi a existência de um ponto cuja cor (ou seja, a concentração de

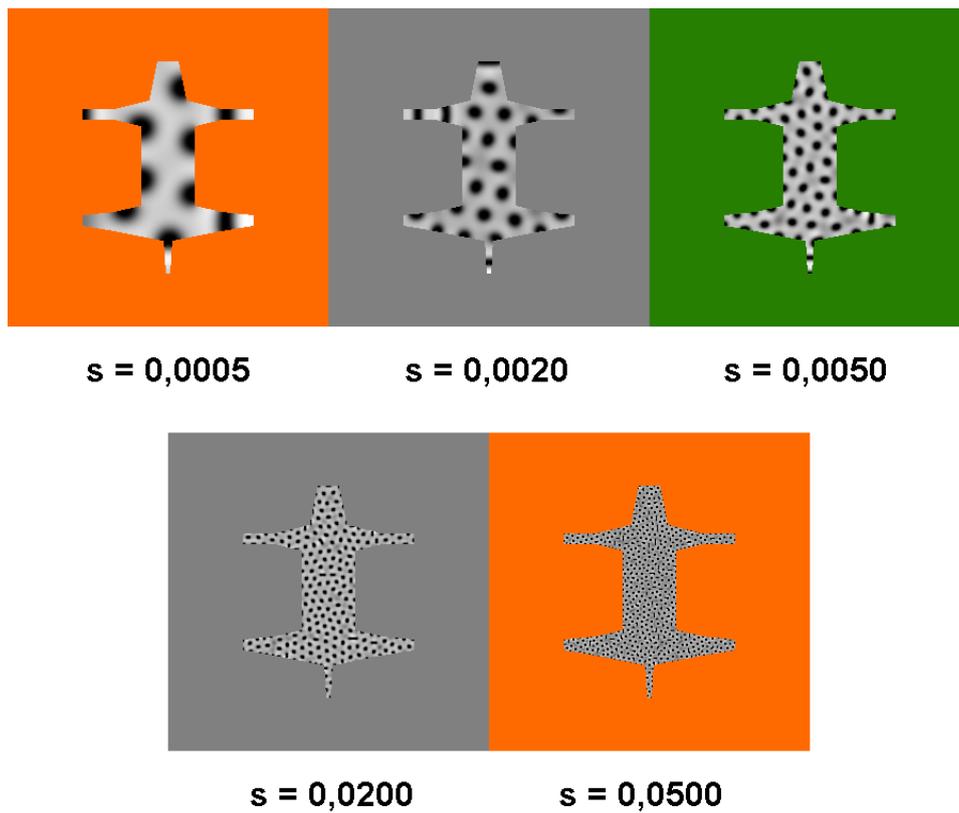


Figura 4.7: Simulações utilizando a forma de animal sem condições de fronteira circulares para diferentes valores de  $s$ . Foram utilizados 16.000 passos com exceção do resultado para  $s = 0.0005$  (40 vezes esse número de passos),  $s = 0.002$  (cinco vezes) e  $s = 0.005$  (duas vezes). Imagem produzida pelo autor.

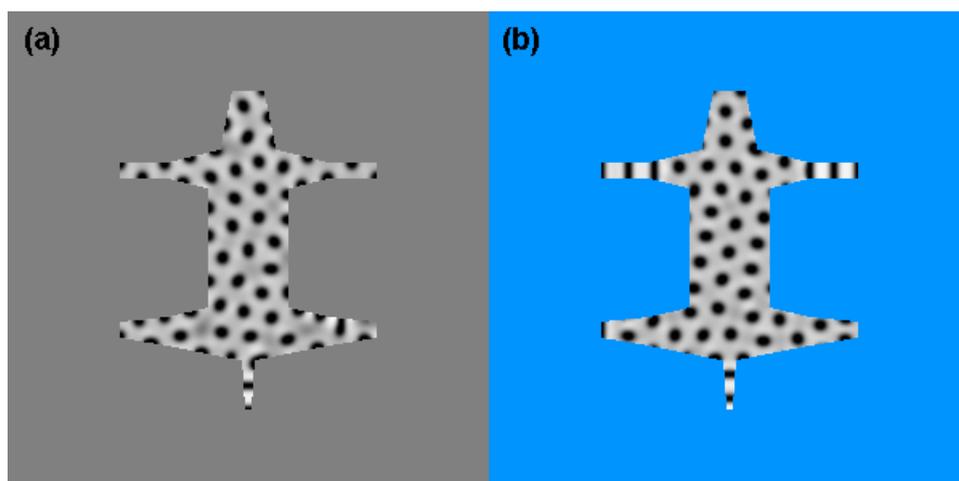


Figura 4.8: Comparação do resultado da simulação utilizando a forma de animal com condições de fronteira circulares (b) com o resultado sem as condições de fronteira (a), que foi mostrado anteriormente na Fig. 4.6. Os resultados utilizando a forma de animal foram obtidos após 32.000 passos (duas vezes o valor padrão). Imagem produzida pelo autor.

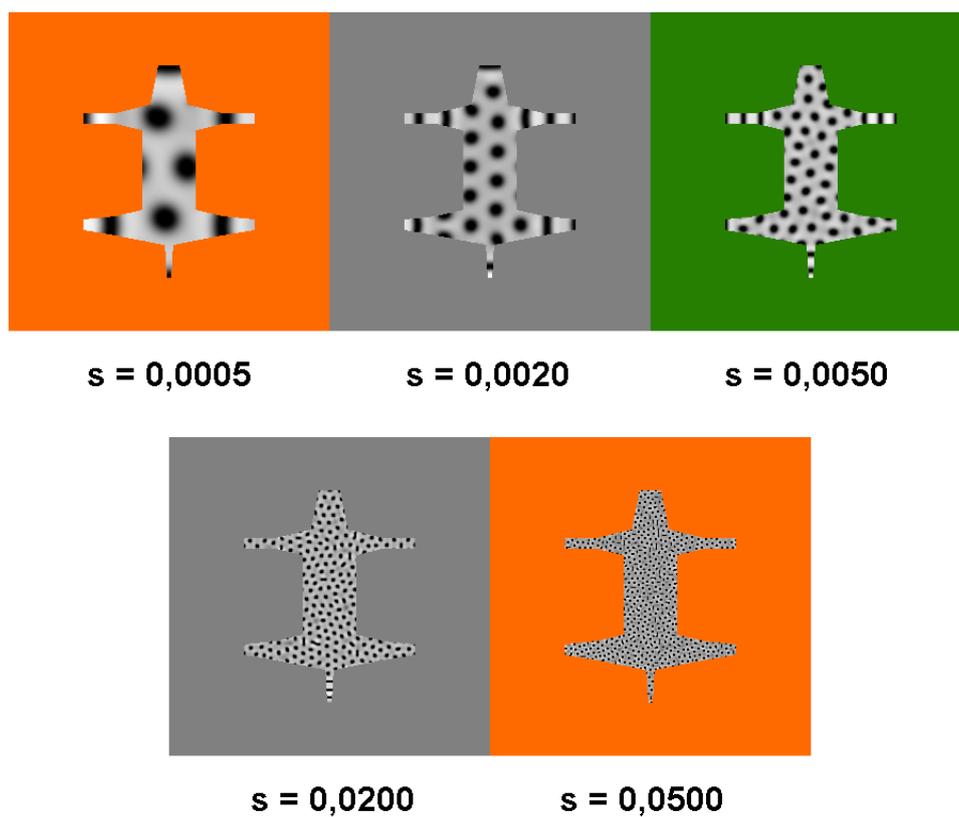


Figura 4.9: Simulações utilizando a forma de animal com condições de fronteira circulares para diferentes valores de  $s$ . Foram utilizados 16.000 passos com exceção dos resultados para  $s = 0.0005$  (40 vezes esse número de passos),  $s = 0.002$  (cinco vezes) e  $s = 0.005$  (duas vezes). Imagem produzida pelo autor.

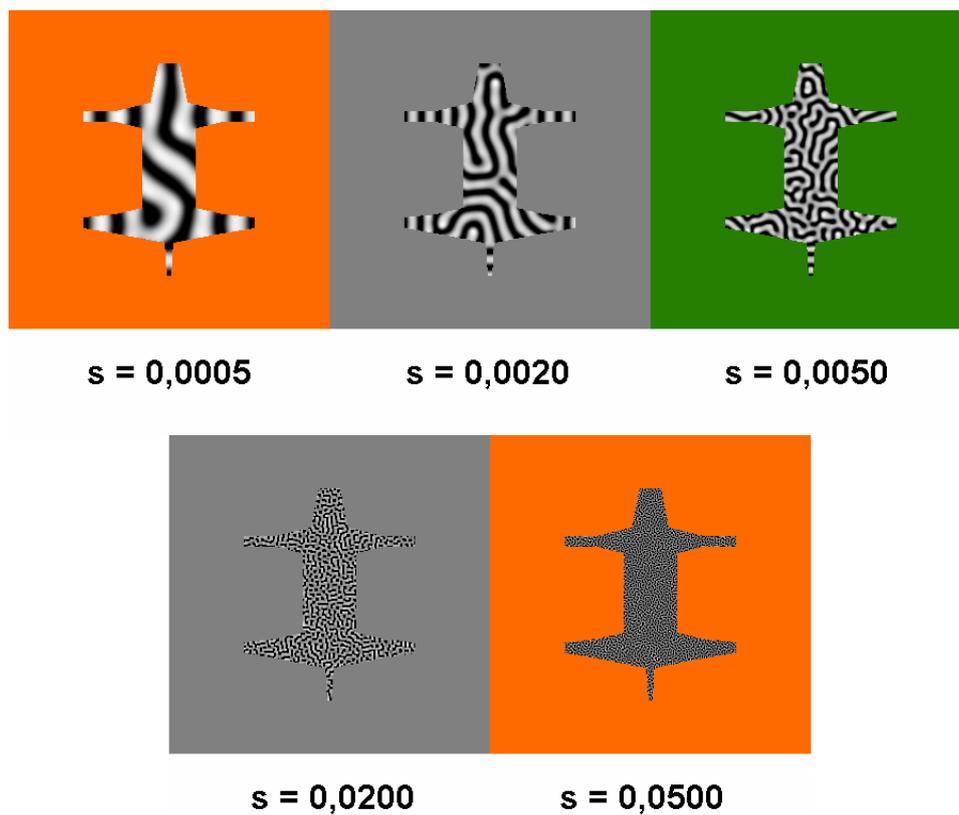


Figura 4.10: Simulações utilizando a forma de animal com condições de fronteira circulares para diferentes valores de  $s$  e  $D_b = 0.010$ . Foram utilizados 16.000 passos com exceção dos resultados para  $s = 0.0005$  (20 vezes esse número de passos) e  $s = 0.002$  (cinco vezes). Imagem produzida pelo autor.

*b*) apresenta oscilação na ponta de uma das “caudas” quando na presença de condições de fronteira circulares (Fig. 4.11), persistindo muito após o resto do sistema alcançar a estabilidade. Testamos para até 40 vezes o número padrão de passos (16.000 vezes 40, isto é, 640.000 passos) e este ponto continuou oscilando.

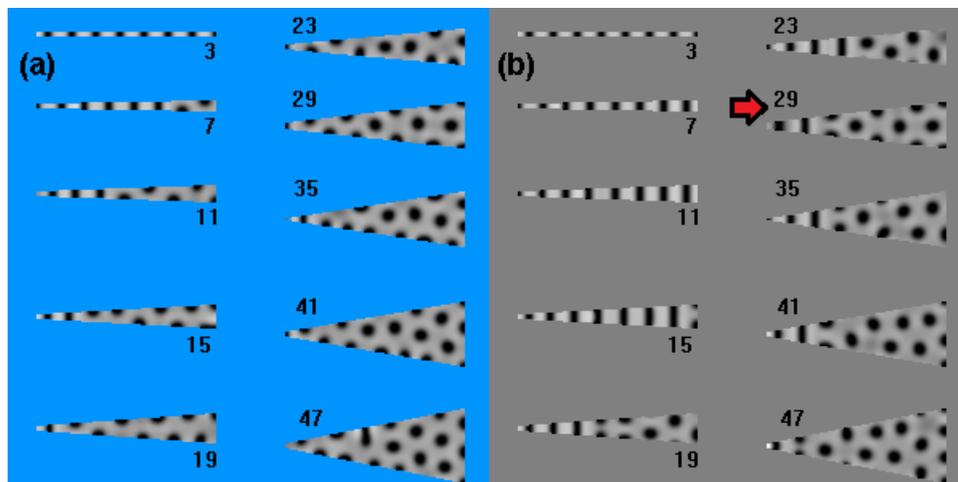


Figura 4.11: Simulação de reação-difusão em superfícies triangulares. Em (a), os triângulos não possuem condições de fronteira circulares; já em (b), essas superfícies possuem condições de fronteira circulares no sentido vertical. As simulações mostram o resultado para 96.000 passos (isto é, seis vezes o valor padrão de 16.000). Os números ao lado de cada triângulo representam a largura em pixels da aresta do lado direito, que é o mais largo (a aresta do lado esquerdo mede sempre três pixels). A seta apontando para a ponta do triângulo cujo lado mais largo mede 29 pixels indica um ponto cujas cores permanecem oscilando após todo o resto do sistema tornar-se estável. Imagem produzida pelo autor.

### 4.3 Efeito da Concentração Inicial na Crista Neural

Utilizando a funcionalidade que altera a concentração inicial de regiões selecionadas, conseguimos obter listras horizontais paralelas em um sistema quadrado que possui faixas com diferentes concentrações iniciais de  $b$  (Fig. 4.12).

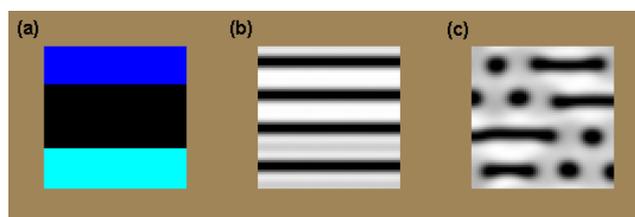


Figura 4.12: Simulação de reação-difusão em um quadrado de tamanho 60 x 60 com regiões possuindo valores distintos para a concentração inicial do morfógeno  $b$ . Em (a), o modelo utilizado com os códigos de cores indicando as diferentes concentrações iniciais de cada região (azul-escuro com  $b_0 = 8.0$ , preto com  $b_0 = 4.0$ , e ciano com  $b_0 = 0.0$ ). Em (b) e (c), dois resultados de simulação, apresentando listras horizontais completas (b) e parciais (c). Em (b), foi utilizado  $D_b = 0.020$ ; Já em (c),  $D_b = 0.031$ . Em ambos os casos, foram executados 16.000 passos. Imagem produzida pelo autor.

Unindo esta funcionalidade com o modelo de corpo de animal e as condições de contorno circulares, simulamos uma possível maior concentração inicial dos morfógenos na região correspondente ao dorso do animal, onde se localiza no embrião a crista neural (região de origem dos melanócitos). Modelamos a crista neural de duas formas: como um retângulo que se estende ao longo do tronco (Fig. 4.13a) e como uma listra fina se estendendo pela região correspondente à coluna vertebral (Fig. 4.13b). Supomos neste experimento que a concentração inicial de todos os morfógenos fora das regiões de crista neural é igual a zero, existindo inicialmente apenas na crista. Nossos resultados (Fig. 4.14) mostraram que a presença dessas condições permite ao sistema se organizar de forma a alinhar as pintas paralelamente à crista neural. Conseguimos através desse mecanismo obter alguns padrões bem interessantes (Fig. 4.15). O segundo padrão apresenta mais um aspecto curioso: ele é praticamente independente das condições iniciais; mesmo ao variar o componente aleatório do sistema (a concentração de  $\beta$  em cada célula), o mesmo padrão foi gerado. Como veremos na discussão, estes resultados seguem na linha do que foi encontrado por Bard (seção 2.7) com difusão anisotrópica, mostrando que é possível a sistemas de reação-difusão gerarem formas geométricas regulares e organizadas.

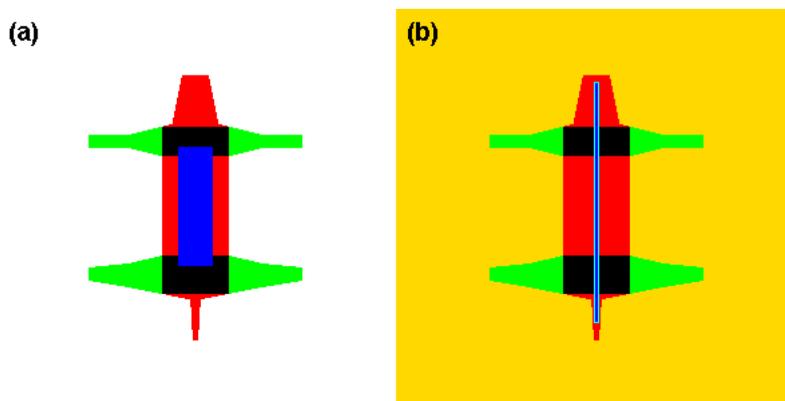


Figura 4.13: Modelos de animais com regiões de diferentes concentrações representando a crista neural. Em (a), a crista neural é modelada de forma simples, como um retângulo. Em (b), a crista neural é modelada como uma listra fina, que possui uma região interna e outra externa, permitindo um gradiente de concentrações iniciais a partir dela. Imagem produzida pelo autor.

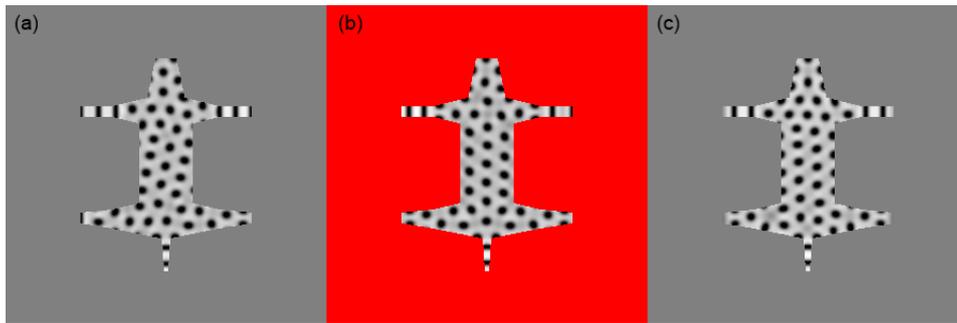


Figura 4.14: Resultados de reação-difusão utilizando os modelos que simulam crista neural. Em (a), o resultado padrão com condições de contorno; em (b), o resultado com a crista neural simulada via um retângulo que apresenta concentração inicial de 8.0 para ambos os morfógenos; e em (c), o resultado com a crista neural simulada via uma listra fina cuja concentração inicial dos dois morfógenos é de 8.0 no interior e 4.0 no contorno externo da listra. Em (b) e (c), a concentração inicial dos morfógenos é de 0.0 para o resto do corpo e o modelo apresenta condições de contorno circulares. Imagem produzida pelo autor.

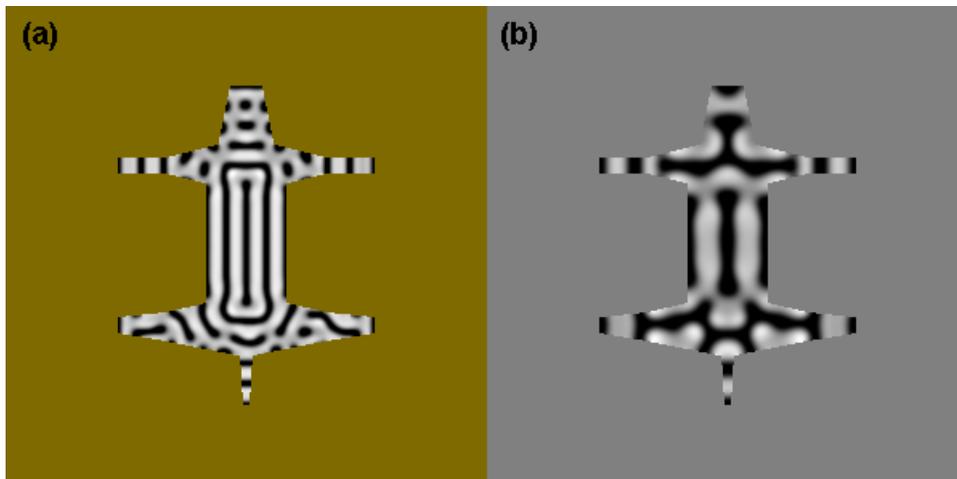


Figura 4.15: Dois resultados que apresentam padrões bastante interessantes para os sistemas com crista neural. Em (a), foi utilizado o modelo no qual a crista neural é simulada como um retângulo, com concentração inicial igual a 0.0 no corpo e 8.0 no retângulo para ambos os morfógenos,  $D_b = 0.020$ , e condições de contorno circulares. Já em (b), usamos o modelo no qual a crista neural é simulada como uma linha, com concentração inicial igual a 0.0 no corpo e 8.0 na crista para ambos os morfógenos,  $D_b = 0.010$ ,  $s = 0.001$  e condições de contorno circulares. O segundo modelo apresenta um aspecto interessante: ao realizarmos simulações com os mesmos parâmetros mas recalculando o valor de  $\beta$  para cada célula, o mesmo padrão foi obtido, indicando independência deste sistema em relação às condições iniciais. Imagem produzida pelo autor.

#### 4.4 Efeito do Tamanho

A seguir, estudamos o efeito do tamanho sobre o padrão resultante. Primeiro, criamos uma versão menor do modelo de animal utilizado nos capítulos anteriores, com 25% do tamanho daquele e condições de contorno circulares, e executamos o processo de reação-difusão sobre ele (Fig. 4.16). Nossos resultados mostram um menor número de estruturas geradas, e, para valores menores de  $s$ , todo o corpo do animal apresenta listras ao invés de pintas. Para valores muito baixos de  $s$  ( $s = 0.0001$ ), ao invés da formação de pintas há a concentração do morfógeno  $b$  em um lado do animal, produzindo resultados similares aos de (MURRAY, 1981a) para animais cuja escala representa um tamanho menor. No entanto, não há uma invariância em relação à concentração inicial de qual parte do corpo possuirá a concentração de  $b$  aumentada, uma vez que, ao variarmos a distribuição do evocador  $\beta$  entre as células do corpo, o padrão final apresentou uma mudança significativa, como pode ser visto na figura.

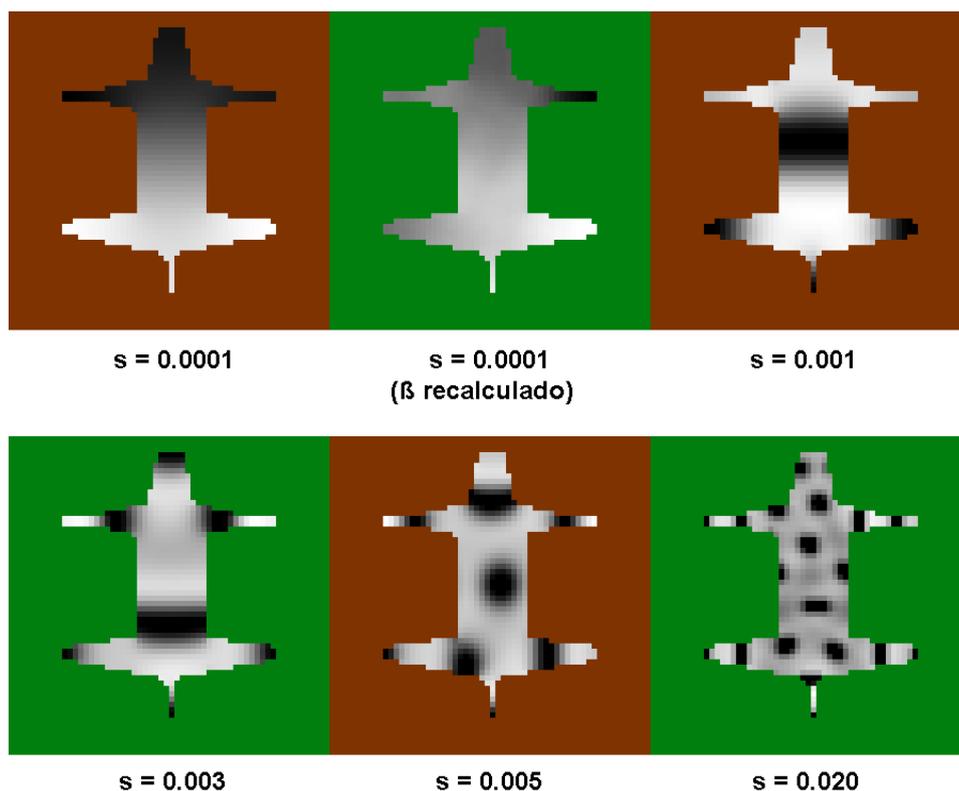


Figura 4.16: Simulações utilizando a forma de animal com 25% do tamanho normal e condições de fronteira circulares para diferentes valores de  $s$ . A figura mostra dois valores para  $s = 0.0001$ , cada um com uma diferente distribuição inicial do evocador  $\beta$ . Os números de passos necessários foram 640.000 passos (40 vezes o padrão de 16.000) para  $s = 0.0001$ , 160.000 (10 vezes) para  $s = 0.001$ , 96.000 (6 vezes) para  $s = 0.003$ , 48.000 (3 vezes) para  $s = 0.005$ , e 16.000 para  $s = 0.020$ . Imagem produzida pelo autor.

Estudamos com o programa escrito em Python a relação entre o tamanho do *grid* (representado pela dimensão lateral  $N$  dos *grids* quadrados  $N \times N$ ), e o tamanho das pintas; os resultados (Fig. 4.17 mostram que, ao contrário do que é afirmado por (BARD; LAUDER, 1974), há uma relação entre o tamanho do domínio no qual se desenrola o processo e o padrão resultante - um aumento no tamanho do sistema tende a aumentar o tamanho (área) das pintas. No entanto, esta relação é sutil, como pode ser observado pelo valor não tão elevado de  $R^2$  e pelas inclinações suaves das retas que representam a relação entre a área média das pintas e tamanho do *grid*. Portanto, o efeito predominante para o aumento do tamanho do domínio ainda será o aumento da quantidade de estruturas e não do tamanho destas. Para cada algoritmo de binarização, a Tabela 4.2 mede quantas células o lado do *grid* precisa aumentar para haver o aumento em 1 pixel na área média  $\bar{A}$  das pintas. Esse número de células é igual ao inverso da inclinação das retas correspondentes às relações entre o lado do *grid* e a área média das pintas na Fig. 4.17.

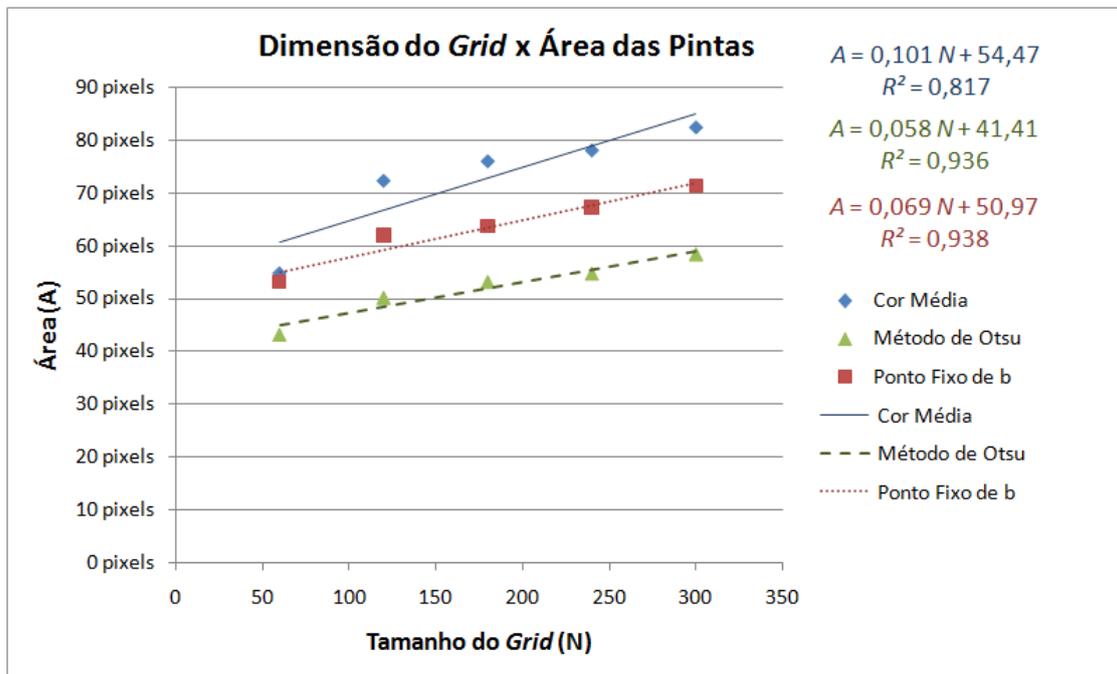


Figura 4.17: Relação encontrada entre a área média  $\bar{A}$  das pintas (em quantidade de pixels) e o número de células ou pixels  $N$  de cada lado do *grid* quadrado  $N \times N$  no qual ocorre a reação-difusão para os três algoritmos de binarização de imagem (cor média cinza dos pixels, método de Otsu, e valor do ponto fixo de  $b$ ). As retas encontradas para cada relação estão mostradas no gráfico, na mesma cor que a relação correspondente. Gráfico produzido pelo autor.

Algoritmo de Binarização	$\Delta N$
Cor média	9,9
Método de Otsu	17,2
Ponto fixo de $b$	14,5

Tabela 4.2: Variação média  $\Delta N$  do lado do *grid* (medida em células ou pixels) necessária para haver o aumento em 1 pixel na área média  $\bar{A}$  das pintas (em pixels), para os três algoritmos de binarização de imagem utilizados (via cor cinza média dos pixels, método de Otsu e limiar igual ao valor de ponto de fixo de  $b$ ).  $\Delta N$  é igual ao inverso da inclinação das retas correspondentes às relações entre o lado do *grid* e a área média das pintas (Fig. 4.17).

## 4.5 Efeito do Crescimento

Por fim, executamos o processo de reação-difusão em uma superfície cujo tamanho muda durante a execução, ou seja, uma superfície em crescimento. Utilizamos uma série de modelos de animais, todos com o mesmo formato do usado em outras simulações, mas com diferentes escalas, sendo carregados pelo programa a cada 2.000 passos. Como usamos 11 modelos, correspondentes aos estágios do desenvolvimento do gato doméstico nos quais poderia haver a formação do padrão, conforme mostramos no Cap. 3), a simulação total durante o crescimento levou 22.000 passos. A Figura 4.18 ilustra diferentes tamanhos intermediários do modelo e o estado do sistema durante o processo.

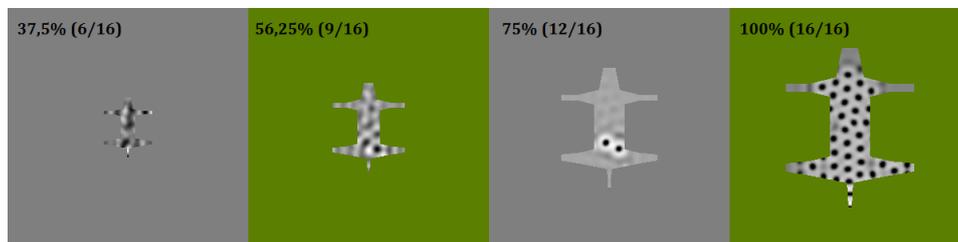


Figura 4.18: Quatro estados selecionados do sistema durante o crescimento, utilizando 11 modelos de tamanhos diferentes com crescimento linear, iniciando com um modelo que possui 37,5% do tamanho final e indo até o resultado obtido após o término do processo. A figura mostra também o tamanho de cada modelo em relação ao final. O tempo de simulação foi de 22.000 passos (2.000 passos para cada modelo carregado). Imagem produzida pelo autor.

As Figs. 4.19 a 4.21 mostram um comparativo dos resultados de crescimento sem e com condições de fronteira circulares e as simulações convencionais (isto é, aquelas nas quais se usa desde o início do processo o modelo com o tamanho final do crescimento), para alguns valores de parâmetros selecionados. Para  $s = 0.005$  e  $D_b = 0.031$ , quando ocorre o término da simulação durante o crescimento, o padrão final ainda não está totalmente assentado, portanto para estes casos rodamos mais 10.000 passos com o tamanho final para obter o padrão.

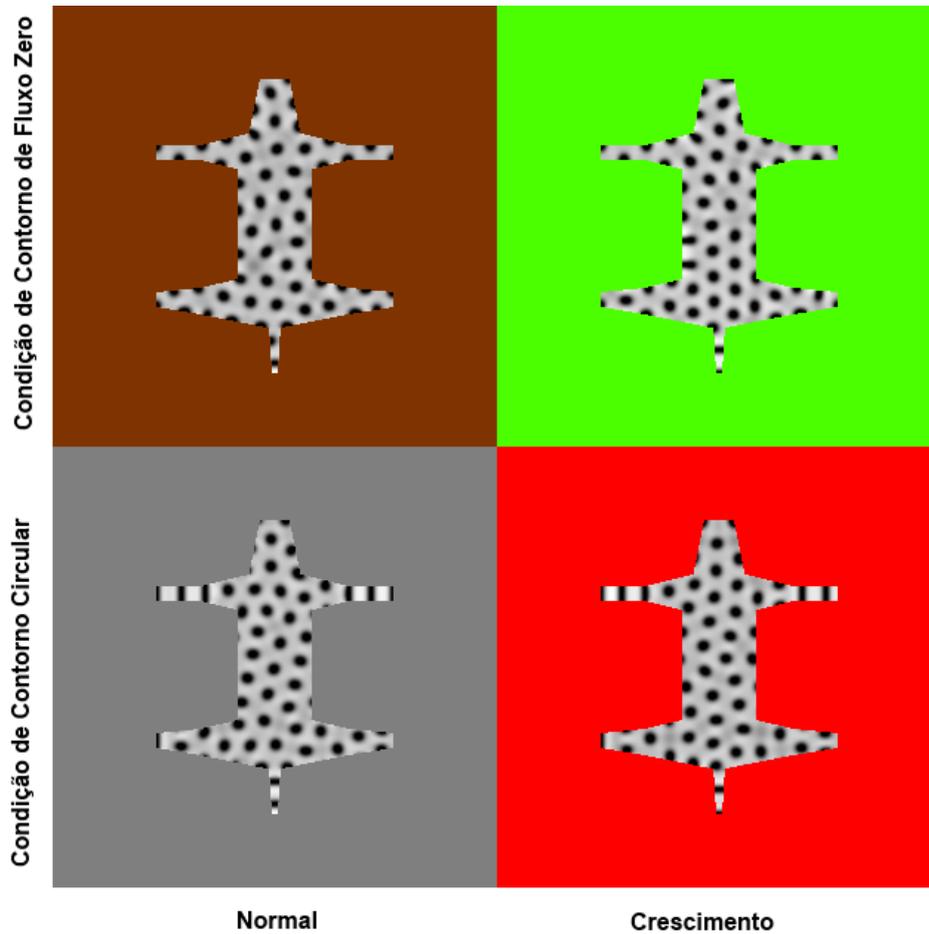


Figura 4.19: Resultados de reação-difusão utilizando o mecanismo de crescimento conforme descrito no texto para  $s = 0.005$ ,  $D_b = 0.031$ . Os resultados da primeira linha não apresentam condições de contorno circulares (isto é, eles possuem *zero-flux boundary condition*); os da segunda possuem condições de contorno circulares. A primeira coluna apresenta os resultados da simulação padrão, sem crescimento; já a segunda mostra os resultados utilizando o mecanismo de crescimento. Para este caso, após os 22.000 passos de simulação, foram necessários mais 10.000 passos para que ocorresse a estabilização do padrão final. Imagem produzida pelo autor.

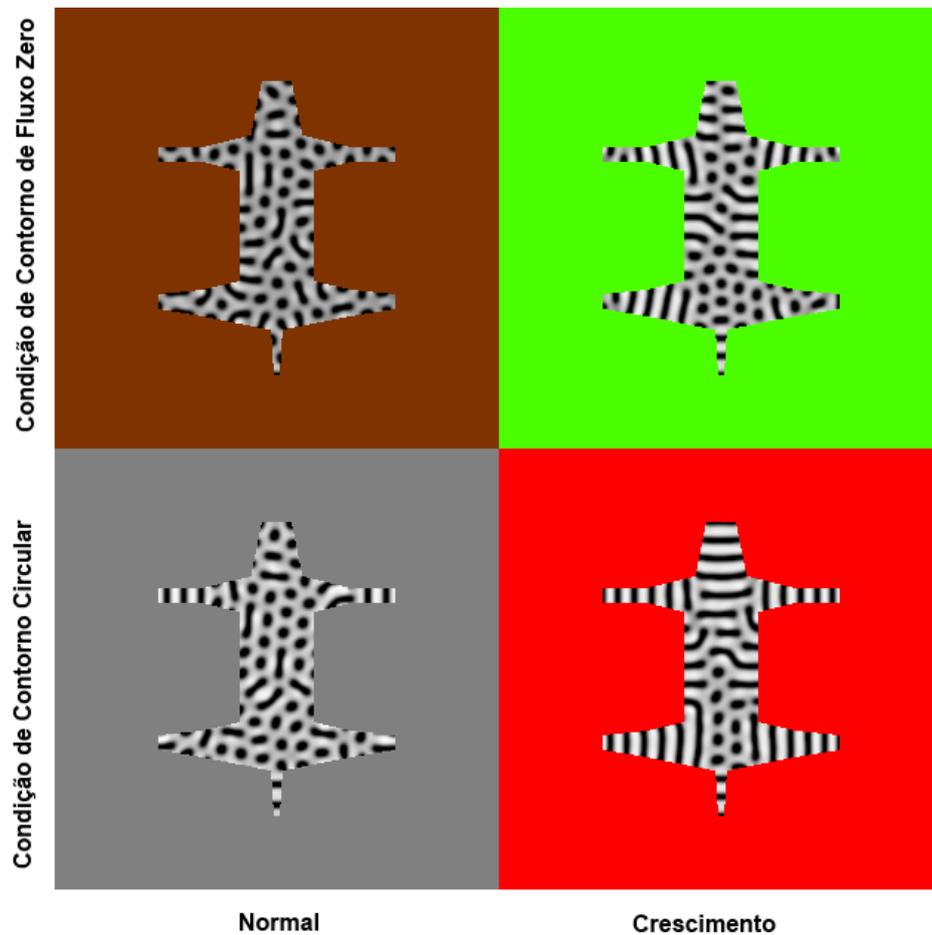


Figura 4.20: Resultados de reação-difusão utilizando o mecanismo de crescimento conforme descrito no texto para  $s = 0.005$ ,  $D_b = 0.020$ . Os resultados da primeira linha não apresentam condições de contorno circulares (isto é, eles possuem *zero-flux boundary condition*); os da segunda possuem condições de contorno circulares. A primeira coluna apresenta os resultados da simulação padrão, sem crescimento; já a segunda mostra os resultados utilizando o mecanismo de crescimento. O programa utilizou 22.000 passos de simulação. Imagem produzida pelo autor.

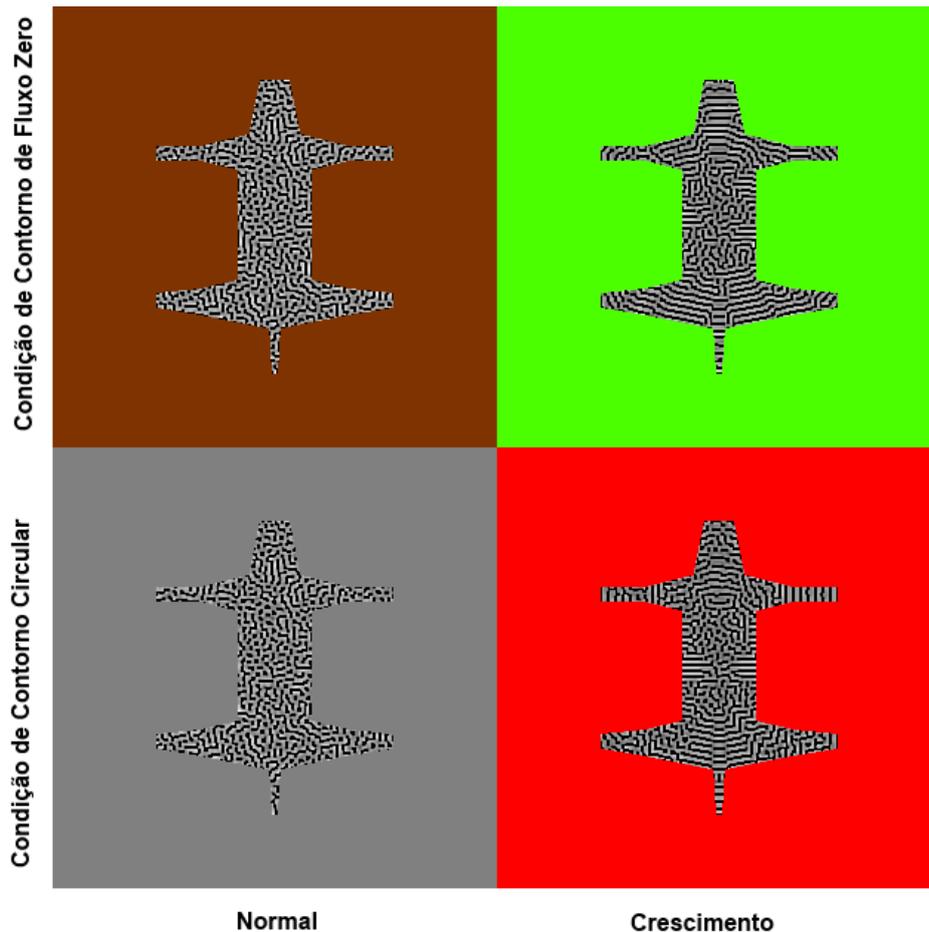


Figura 4.21: Resultados de reação-difusão utilizando o mecanismo de crescimento conforme descrito no texto para  $s = 0.020$ ,  $D_b = 0.010$ . Os resultados da primeira linha não apresentam condições de contorno circulares (isto é, eles possuem *zero-flux boundary condition*); os da segunda possuem condições de contorno circulares. A primeira coluna apresenta os resultados da simulação padrão, sem crescimento; já a segunda mostra os resultados utilizando o mecanismo de crescimento. O programa utilizou 22.000 passos de simulação. Imagem produzida pelo autor.

Os resultados mostram, antes de mais nada, que o processo de crescimento afeta o padrão resultante. O quanto o crescimento pode afetar o resultado final depende de  $D_b$ : nos nossos resultados com  $D_b = 0.031$ , como o observado na Figura 4.19, o crescimento produziu imagens bastante similares àquelas obtidas pelas simulações anteriores. Contudo, as simulações para valores menores de  $D_b$  demonstraram uma facilidade maior para produzir listras ao invés de pintas, (Figura 4.20), mesmo na ausência de condições de contorno periódicas, além de apresentarem listras parciais na “barriga” do modelo mas não no dorso. Outro resultado que observamos (Fig. 4.21) foi um efeito de organização das listras, tornando as mesmas paralelas umas as outras e com maior comprimento alcançado por trechos retilíneos, o que forma figuras bastante interessantes.

## 4.6 Conclusão

Uma breve análise dos resultados já nos mostra que efeitos de forma, crescimento, tamanho e concentrações iniciais desiguais são capazes de afetar o resultado final, podendo ser mecanismos para modular o padrão desejado. No entanto, como isso pode ser útil, tanto do ponto de vista da evolução e da formação de padrões que adequem o seu portador ao meio, quanto do ponto de vista da computação gráfica, como processo para geração algorítmica de texturas similares às naturais? Estas questões serão respondidas no próximo capítulo.

## 5 DISCUSSÃO

Neste capítulo, iremos discutir o que pode ser concluído a partir dos resultados, e de que forma estes podem ser relevantes tanto para o problema biológico dos padrões de pelagem quanto para o conhecimento sobre o funcionamento de sistemas de reação-difusão e para os métodos computacionais de formação de padrões visuais.

### 5.1 Variação dos Parâmetros

Os primeiros de nossos resultados, que estudaram o efeito da relação entre  $D_a$  e  $D_b$ , corroboram o conceito de que os morfógenos precisam de determinadas proporções entre as taxas de difusão para haver a formação de padrões, como no caso do fenômeno de inibição de longo alcance e ativação a curto alcance para o modelo de ativador-inibidor. O modelo utilizado por Turing, Bard e Turk, que foi o que usamos neste trabalho, apresenta maior similaridade com sistemas como o modelo de ativador e depleção de substrato de Meinhardt, visto que seu mecanismo molecular (eq. 2.3) não aparenta possuir um efeito de inibição (tipicamente representado nas equações cinéticas via uma divisão de um morfógeno pelo seu inibidor).

Uma análise matemática simples pode nos ajudar a compreender o efeito de cada morfógeno sobre as concentrações dos mesmos. Levando em conta apenas o efeito da reação, temos que:

$$\frac{\partial a}{\partial t} = s(16 - ab) = F(a, b) \quad (5.1a)$$

$$\frac{\partial b}{\partial t} = s(ab - b - \beta) = G(a, b) \quad (5.1b)$$

Para encontrar o efeito dos morfógenos sobre suas concentrações, calculamos:

$$\frac{\partial F}{\partial a} = -sb \quad (5.2a)$$

$$\frac{\partial F}{\partial b} = -sa \quad (5.2b)$$

$$\frac{\partial G}{\partial a} = sb \quad (5.2c)$$

$$\frac{\partial G}{\partial b} = s(a - 1) \quad (5.2d)$$

Temos, então, para um dado ponto, que:

$$\frac{\partial F}{\partial a} \leq 0 \quad (5.3a)$$

$$\frac{\partial F}{\partial b} \leq \quad (5.3b)$$

$$\frac{\partial G}{\partial a} \geq 0 \quad (5.3c)$$

$$\frac{\partial G}{\partial b} \geq 0 \Leftrightarrow a \geq 1 \quad (5.3d)$$

$$a \geq 0, b \geq 0, s \geq 0, \beta \geq 0$$

Esta análise matemática mostra que a concentração de  $a$  possui um *feedback* negativo (isto é, um aumento na concentração de  $a$  reduz a taxa de variação da mesma);  $b$  também afeta negativamente a variação de  $a$ . Em outras palavras, o morfógeno  $a$  tende a se formar nas regiões “vazias”, carentes de ambas as substâncias, visto que a união de ambas converte  $a$  em  $b$  e a taxa de produção independe delas. Quanto à variação da concentração de  $b$ , uma maior concentração de  $a$  aumenta a sua produção, uma vez que o morfógeno  $b$  é gerado pela transformação de  $a$  em  $b$ ; já o efeito do próprio morfógeno  $b$  sobre sua concentração depende da concentração de  $a$ : se  $a > 1$ , então, o efeito de  $b$  sobre a produção (o termo  $ab$ ) supera a sua taxa de “auto-degradação” e a concentração aumenta, criando um mecanismo de auto-reforço; se, contudo,  $a$  estiver em níveis muito baixos, a degradação de  $b$  através de sua própria concentração e de  $\beta$  criará um efeito de *feedback* negativo. O efeito da difusão, ou seja, quanto de cada morfógeno tende a “vazar” para a célula vizinha, ajuda a balancear os morfógenos entre as células próximas, visto que a difusão se dá no sentido da maior para a menor concentração.

Esta análise revela um problema deste modelo em específico do ponto de vista físico-químico: a necessidade de restrições sobre os valores de  $a$  e  $b$  para impedir valores negativos, visto haver um termo constante de valor negativo em  $G(a, b)$ ; além disso, existe a possibilidade (observada em nossas simulações no caso de  $s \geq 0.200$ ) das concentrações divergirem em direção ao infinito (devido aos efeitos de  $a$  e  $b$  sobre  $G(a, b)$ ).

Sistemas com baixas taxas de difusão de  $b$  em relação a  $a$  apresentam listras ao invés de pintas, caso no qual os pontos de maior concentração de  $b$  (que está se difundindo mais lentamente) acabam por se ligar uns aos outros. A ideia de um “contínuo” entre pintas e listras está presente nos resultados experimentais de Eizirik com gatos *tabby* (Fig. 5.1); caso o mecanismo que gere o padrão dos gatos seja similar ao estudado neste trabalho, pode-se especular um efeito redutor da difusão do morfógeno ou ligante correspondente a  $b$ . Como o padrão pintado é dominante<sup>1</sup> em relação aos padrões listrado e manchado, talvez o gene para os gatos *spotted* “quebre” as listras em pintas ao catalisar a conversão da substância correspondente a  $b$  em uma molécula menor mas ainda funcional como ativadora das regiões escuras. Entretanto, a simples variação dos coeficientes de difusão não gera listras relativamente retilíneas como as vistas nos mamíferos listrados, e sim um “labirinto” mais próximo ao observado em certas espécies de peixes, anfíbios e outros animais cujo padrão visível de pigmentação dá-se diretamente na pele e não em pelos, penas ou outra forma de “cobertura”. A aparência das listras encontradas em felinos

<sup>1</sup>Gatos que possuem, para o hipotético gene responsável pelo padrão pintado, uma ou duas cópias funcionais dentre as duas possíveis em cada um dos seus cromossomos irão ter pintas, independentemente de quais variantes possuam do gene *tabby* primário para listras e manchas irregulares.

parece sugerir um mecanismo de processamento pós-padrão que “estique” as mesmas, via alteração da forma e do tamanho do corpo, ao invés de algum mecanismo interno ao processo de reação-difusão (o que estaria de acordo com a sugestão de Murray para as listras do tigre (MURRAY, 1981a); consulte a Fig. 2.31).

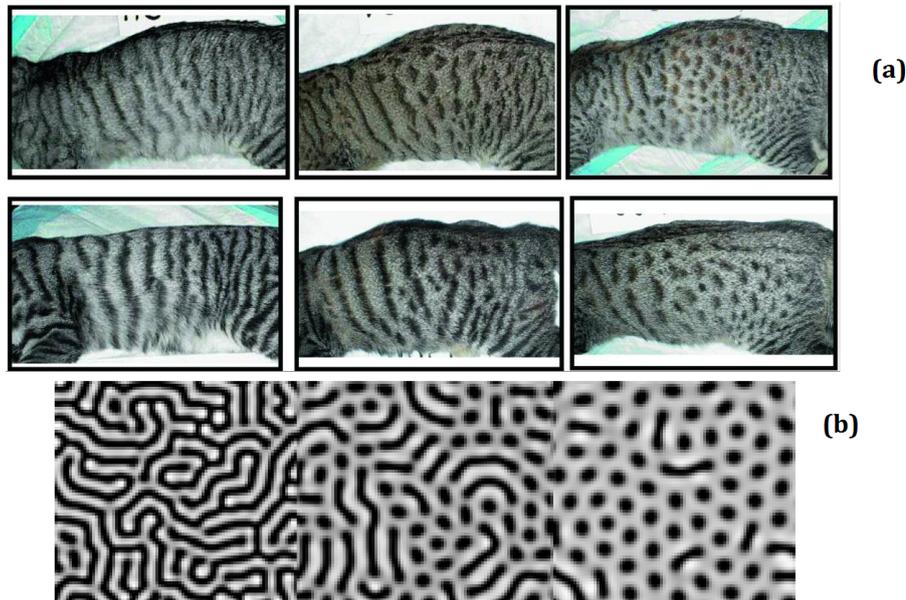


Figura 5.1: Comparação dos resultados experimentais de cruzamentos de gatos *tabby* obtidos por (EIZIRIK et al., 2010), em (a), com os resultados de simulações variando o coeficiente de difusão  $D_b$  mostradas anteriormente na Fig. 4.1, em (b). Imagem dos resultados de cruzamento (a) extraída de (EIZIRIK et al., 2010), e imagem dos resultados de reação-difusão (b) produzida pelo autor.

Nos nossos resultados, situações nas quais não há a formação de um padrão coerente apresentam “névoas” ao invés de uma coloração homogênea. Acreditamos que isso se deva ao efeito do evocador  $\beta$ , aleatoriamente distribuído pelo sistema no início do processo, uma vez que este afeta diretamente a concentração de  $b$ .

Também percebemos que o momento no qual as estruturas começam a se formar é aquele no qual algumas células chegam a  $b = 0$ . Nos casos em que observamos um padrão “nublado”, seja devido a uma alta relação  $D_b/D_a$  ou a um baixo valor de  $s$ , nenhuma célula alcançou  $b = 0$ , e o valor mínimo de  $b$  permaneceu quase inalterado por milhares de passos; embora isso possa significar que a ausência de um padrão definido seja um estado estável neste caso, também é possível que o sistema esteja em um estado de dinâmica caótica, e algum padrão possa ser formado após um tempo muito elevado, ou mesmo que seja um artefato do sistema devido à restrição de  $b \geq 0$ .

Para realizar as análises relacionando valores de  $s$  (e o tamanho do sistema) com o tamanho das pintas, transformamos o resultado em tons de cinza das simulações em imagens preto-e-brancas através dos três métodos de binarização de imagem que descrevemos (descoberta do limiar via cor média dos pixels, método de Otsu e ponto fixo de  $b$ ). Para julgarmos qual dos três métodos é o mais apropriado para nosso trabalho, consideramos os argumentos baseados no conhecimento biológico sobre o problema apresentados no parágrafo a seguir.

O padrão de pelagem observado em mamíferos é composto por regiões cujos pelos possuem um mesmo pigmento ou, no caso do aguti, uma predominância do mesmo pig-

mento nas faixas dos pelos. O estabelecimento da pelagem dá-se numa etapa final do crescimento embrionário, quando o embrião já possui um corpo com um tamanho relativamente grande, e acredita-se (ver (BARD, 1977) e (KAELIN et al., 2012)) que o padrão em si se forma em uma etapa anterior, na qual a difusão ou outros mecanismos de sinalização podem mais facilmente percorrer o corpo do animal. Portanto, do ponto de vista biológico, o resultado de processos de reação-difusão não é o padrão de pigmentação final, e sim um pré-padrão que irá sinalizar posteriormente que pigmento deve ser majoritariamente produzido. Conclui-se desta observação que um método que se baseie menos na informação visual e, ao invés disso, utilize o valor da concentração de um dos morfógenos parece mais biologicamente realista, visto que a cor observada no programa é uma normalização do valor de  $b$  dentro do máximo e do mínimo  $b$  presentes em um dado ponto do sistema. Além disso, não parece plausível que as células do embrião sejam capazes de achar o limiar através de um “cálculo” mais complexo, como o necessário para a obtenção do valor médio de cores ou no Método de Otsu. Levando em consideração estes aspectos, o método mais apropriado para dissociar pintas do fundo nos nossos resultados é o que utiliza como limiar um valor fixo de  $b$ , assim como foi usado por Bard e Murray. No entanto, não se deve descartar a possibilidade de que o limiar que indicará à região do corpo para ser escura ou clara possa variar em função de algum outro fator, embora não acreditamos que este seja tão complexo como os utilizados nos dois primeiros métodos de binarização.

Os resultados obtidos pela variação de  $s$  e analisados através das imagens produzidas por estes mecanismos de binarização corroboram a relação encontrada por Bard entre o comprimento de onda químico  $\gamma$  e este parâmetro ( $\gamma \propto 1/\sqrt{s}$ ). Encontramos uma relação linear entre a área média das pintas e  $1/s$  ( $\bar{A} \propto 1/s$ ) - o que está de acordo com as dimensões dessas variáveis, visto que medidas de área são proporcionais ao quadrado das medidas de comprimento. Estes resultados sugerem que o tamanho médio das pintas é proporcional ao quadrado do comprimento de onda, o que permite estabelecer uma relação entre o resultado desejado em sistemas bidimensionais e a análise matemática dos sistemas unidimensionais, a qual é mais fácil de se realizar e compreender. Obter uma relação linear entre um parâmetro do sistema e um aspecto do resultado visual (no caso, o tamanho das pintas) facilita a obtenção de um determinado padrão para texturas obtidas algoritmicamente, permitindo uma “customização” de acordo com uma entrada fornecida pelo usuário. Deve-se ressaltar que, embora as imagens obtidas pelos três métodos apontam para a existência da relação, o valor de  $R^2$  da reta obtida pelo método de Otsu é consideravelmente menor, provavelmente devido a um *outlier* (um ponto “fora da curva”) em  $s = 0.020$ . No entanto, como vimos, o método mais biologicamente significativo é o baseado no valor de  $b$ , que produziu o mais elevado valor de  $R^2$  dentre os três ( $R^2 = 0.997$ ). Os três métodos diferiram também no tamanho das pintas (regiões pretas) produzidas, como vimos na Fig. 3.4 - o método de Otsu gerou pintas menores, a binarização via cor média pintas maiores, e o método usando o ponto de fixo de  $b$  um tamanho intermediário.

## 5.2 Efeito da Forma

Os resultados de simulações de reação-difusão dentro de um sistema com um formato específico demonstra, antes de mais nada, que a forma afeta o padrão final. O aspecto mais notável foi a transformação de pintas em listras nas superfícies de menor largura, o que está de acordo com os estudos de Bard e de Murray já citados, assim como o

fato de condições de fronteira circulares facilitarem essa conversão. A inclusão da forma permite ao sistema gerar diferentes respostas em cada parte, o que observa-se em várias espécies animais (Fig. 5.2), aumentando o grau de similaridade da simulação com a situação real. As simulações envolvendo triângulos (representando a cauda ou uma pata de um animal) permitiram uma comparação de ambas as condições de fronteira e de diferentes tamanhos nos quais pode haver ou não a passagem de pintas para listras. Um aspecto curioso destas últimas simulações foi a presença de um ponto de oscilação (Fig. 4.11), ou seja, determinadas formas podem afetar o comportamento do sistema ou de parte dele quanto à sua estabilidade. Observa-se também que diferentes valores de  $s$  afetam não apenas o tamanho das pintas como também a facilidade do sistema em convertê-las em listras. Um sistema com menor  $s$  apresenta pintas/listras de maior tamanho, e apresenta listras em partes consideravelmente mais largas que sistemas de alto  $s$  e pintas pequenas. Isso indica que a largura máxima na qual uma região é capaz de produzir listras é proporcional ao tamanho básico das pintas.



Figura 5.2: Comparação entre o padrão de pelagem observado em gatos de padrão *tabby* pintado, em (a), e os resultados da simulação sobre o modelo de animal com condições de contorno circulares, como mostrado na Fig. 4.9, para  $s = 0.005$ , em (b). Imagem (a) obtida em [http://en.wikipedia.org/wiki/Tabby\\_cat](http://en.wikipedia.org/wiki/Tabby_cat), e imagem dos resultados de reação-difusão (b) produzida pelo autor.

Uma questão relacionada a estes resultados é se a natureza dessas listras de fato representa uma estrutura qualitativamente diferente das pintas ou se são tão-somente apenas uma parte de uma pinta, cujo resto não aparece por estar fora do trecho de pequena largura que corresponde à cauda ou à pata do animal. Ao analisar as imagens, pode-se observar que há em certos casos mais de uma listra presente na cauda, e que estas listras possuem uma largura muito pequena em comparação com as pintas obtidas na mesma simulação. Portanto, nossos resultados sugerem que há de fato uma mudança qualitativa ocorrida nessas superfícies.

Como uma superfície fina é capaz dessa conversão, pode-se especular se, assim como na teoria de Bard para as zebras, o período no qual ocorre o processo no embrião definirá se o animal possuirá listras ou pintas. Diferentes valores de  $s$  também facilitam a formação de listras, e podemos nos perguntar se este parâmetro também poderia estar envolvido, representado talvez por mutações que reduzam ou aumentem a eficiência de uma enzima em catalisar as reações envolvendo os morfógenos. No entanto, acreditamos que o fenômeno é explicado mais adequadamente pelas próprias propriedades do sistema de reação-difusão, pois um menor valor de  $s$  aumenta o tamanho das pintas e, consequentemente, a largura máxima na qual listras ainda podem ser formadas.

### 5.3 Efeito da Concentração Inicial na Crista Neural

Utilizando diferentes concentrações iniciais para os morfógenos, conseguimos modificar os padrões obtidos, aumentando consideravelmente o grau de regularidade dos mesmos. Obtivemos listras perfeitamente retilíneas paralelas à divisão das zonas em termos de concentração inicial, ou seja, perpendiculares ao gradiente desta (Fig. 4.12), e um padrão de listras “quebradas” que lembra o observado nos filhotes de javali (Fig. 5.3) e tapir, além do gato pescador (mostrado anteriormente na Fig. 2.27). O efeito obtido é similar aos que Bard obteve via anisotropia combinada com o efeito de condições iniciais (Fig. 2.27), pois em seu trabalho só havia morfógenos inicialmente nas células do topo do *grid*, representando a crista neural existente no dorso. Alguns resultados bastante curiosos, que lembram animais manchados (incluindo o gato *tabby* de padrão *blotched*), foram obtidos através da manipulação conjunta das condições iniciais, dos valores dos parâmetros, da forma e das condições de contorno. Estes sistemas também foram capazes de organizar as pintas, alinhando-as em fileiras.

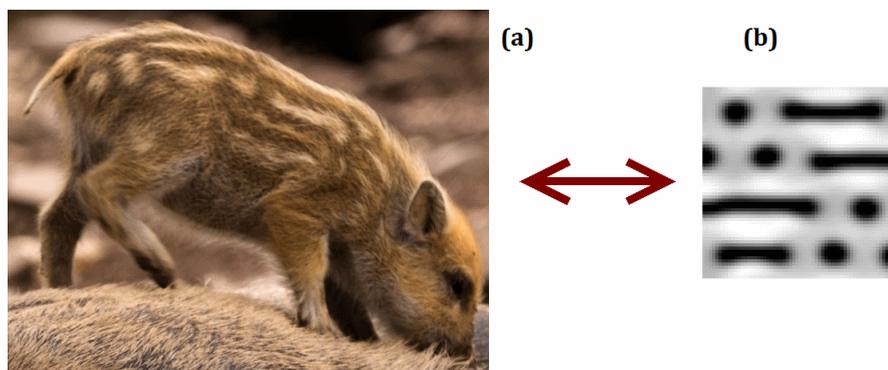


Figura 5.3: Comparação entre o padrão de pelagem observado em filhotes de javali, em (a), e os resultados da simulação sobre um *grid* quadrado utilizando diferentes concentrações iniciais de  $b$  formando listras “quebradas”, mostrados anteriormente na Fig. 4.12, em (b). Imagem (a) obtida em <http://wallpaperscraft.com/image/72030/1920x1080.jpg>, e imagem dos resultados de reação-difusão (b) produzida pelo autor.

Alterando-se a constante de difusão, e conseqüentemente tornando o sistema mais propenso à formação de listras do que de pintas, foram obtidas listras alinhadas, consistindo em um retângulo que circunda a área de diferente concentração inicial. Tais resultados mostram a capacidade de auto-organização de sistemas baseados em reação-difusão e que estes podem ser usados não apenas para padrões de distribuição menos ordenada como as pintas, mas também para estruturas de geometria mais regular. Tal efeito pode ser explicado se considerarmos que uma região que possua uma concentração inicial uniforme interna a ela, mas esteja em contato com regiões com diferentes concentrações iniciais, tende a apresentar um comportamento químico similar em suas células. O efeito do contato com regiões de diferentes concentrações iniciais pode estar organizando a difusão, estabelecendo um sentido para ela (isto é, uma anisotropia na prática), e sobrepujando o efeito de pequenas variações aleatórias do evocador  $\beta$  (que é o responsável por tirar o sistema do estado inicial e dar dinâmica a ele nas simulações anteriores). Podemos considerar que neste caso o padrão é obtido principalmente pela força da difusão, que cria um deslocamento dos químicos na presença dessas desigualdades de concentração entre células próximas.

Outro aspecto importante foi a robustez de alguns dos resultados destas simulações, mantendo o mesmo padrão mesmo na presença de diferentes distribuições de  $\beta$ . Tal efeito pode ajudar a compreender como é possível a várias espécies de animais obter padrões fortemente organizados no espaço e quase invariantes nos diferentes indivíduos.

Além disso, considerar diferentes concentrações iniciais para cada parte do domínio aumenta o realismo da simulação do ponto de vista da biologia, visto que existem vários casos nos quais os morfógenos não se encontram distribuídos igualmente por todo o corpo do embrião no ponto do desenvolvimento no qual inicia-se a formação de algum padrão baseado na distribuição destas moléculas. Além das células produtoras de pigmento derivadas da crista neural (caso no qual o que é distribuído de forma desigual no início do processo é a célula, e não a molécula), este fenômeno pode ser observado nos embriões das drosófilas ou moscas-das-frutas, nas quais alguns dos fatores que futuramente determinarão a organização da larva em anéis encontram-se concentrados em apenas um lado do ovo fecundado, posteriormente se distribuindo pelo corpo através de difusão (WOLPERT, 2008).

## 5.4 Efeito do Tamanho

Nas simulações utilizando o modelo animal em uma escala pequena, conjuntamente com um baixo valor de  $s$ , encontramos um padrão similar ao de animais bicolors como a cabra *Valais blackneck* (Fig. 5.4), assim como previsto por Murray para sistemas de tamanho pequeno. No entanto, este resultado não é robusto quanto às condições iniciais, podendo obter o lado preto e o branco não necessariamente como o anterior e o posterior, ao contrário do observado nestes animais. Neste caso, o modelo da bandeira francesa de Wolpert parece ser uma resposta mais apropriada, ou algum modelo similar aos descritos por Meinhardt (GIERER; MEINHARDT, 1972), que são capazes de produzir um gradiente de morfógenos de uma ponta a outra do domínio.

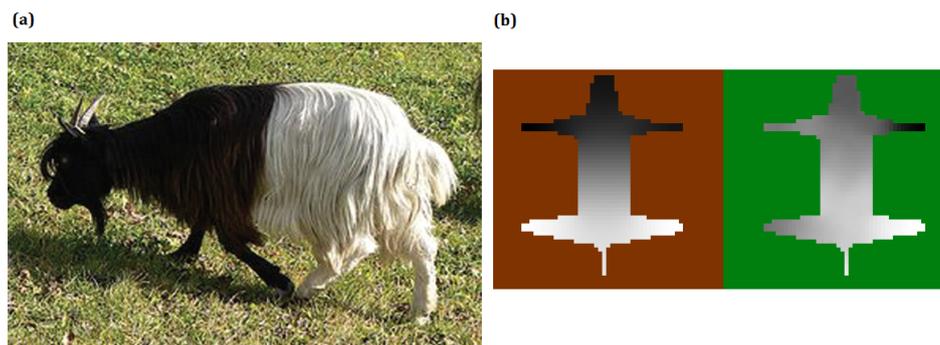


Figura 5.4: Comparação entre a pelagem bicolor da cabra *Valais blackneck*, em (a), e os resultados da simulação sobre o modelo de animal com condições de contorno circulares e 25% do tamanho, mostrados anteriormente na Fig. 4.16, em (b). Imagem (a) extraída de (MURRAY, 2012), e imagem dos resultados de reação-difusão (b) produzida pelo autor.

Quanto à análise do efeito do tamanho do *grid* sobre o tamanho das pintas, pode-se observar que o sistema de reação-difusão não-linear de Turing não possui total independência do tamanho das estruturas em relação ao tamanho. No entanto, este sistema ainda não apresenta proporção invariante em relação ao tamanho, pois mudanças na dimensão

do domínio afetam de forma sutil o tamanho das pintas, não havendo manutenção da quantidade de estruturas presentes. Na hipótese de Bard para as diferentes larguras das listras de cada espécie de zebra (ver seção 2.3), esta questão pode afetar qual o ponto exato do desenvolvimento no qual se dá a formação do padrão (ou melhor, do pré-padrão), mas não modifica as conclusões qualitativas do estudo.

## 5.5 Efeito do Crescimento

Nossos últimos resultados, envolvendo o crescimento da superfície, mostram que há um efeito deste sobre o padrão final. O crescimento permite a formação de algumas figuras com padrões organizados bem interessantes, como listras retilíneas no sentido horizontal ou paralelas aos limites das patas, novamente mostrando a capacidade de auto-organização dos sistemas de reação-difusão. Um outro aspecto interessante é que o crescimento, assim como as condições de contorno circulares, também facilita a formação de listras, e em alguns casos (como o da Fig. 4.20), a facilidade de formação de listras é maior com o crescimento do que com as condições de contorno. Além disso, as listras em certos casos apareceram também nas partes mais externas do tronco (isto é, a barriga), enquanto as pintas permaneciam na região dorsal.

No entanto, como o crescimento em nossos modelos procedeu de uma forma diferente à biológica (com novas células simplesmente adquirindo os valores de concentração de ponto fixo ao invés de herdar as características de suas “mães” via divisão celular, e as células já existentes herdando a concentração do estado anterior baseada na sua posição em relação a todo o *grid* de 300 x 300 pixels e não ao tamanho relativo do corpo do modelo), os resultados dessas simulações devem ser interpretados com cautela como explicação para os padrões de pelagem. Para que o crescimento do modelo possa ocorrer de forma biologicamente plausível, é necessário que haja alguma forma de mapeamento entre as células de dois estágios sucessivos, para que a informação sobre a concentração dos morfógenos e a posição relativa de cada célula seja transmitida de maneira adequada ao próximo estágio, o que não ocorre com uma simples sobreposição de imagens. No capítulo 6, de conclusões e trabalhos futuros, iremos apresentar possíveis caminhos de pesquisa que podem aumentar a plausibilidade deste mecanismo de crescimento. Afirmamos contudo que nossos resultados com sistemas em crescimento são interessantes do ponto de vista do estudo teórico do comportamento de sistemas de reação-difusão e da geração de texturas em computação gráfica.

## 5.6 Possíveis Aplicações nas Áreas Computacionais e Biológicas

Por fim, iremos discutir brevemente possíveis aplicações provenientes do estudo de como a reação-difusão pode ser afetada por diferentes condições (parâmetros, forma, concentrações iniciais desiguais, tamanho e crescimento), tanto como funcionalidades de produtos computacionais quanto como explicação e técnica de alteração de padrões biológicos.

Dentro da área computacional, uma possível aplicação para os métodos de controle via parâmetro dos resultados da formação de padrões são jogos nos quais é possível ao jogador personalizar a aparência de personagens, gerando uma textura pintada realística, com uma distribuição de tamanho das pintas centrada no ponto definido por  $s$ , um valor fornecido direta ou indiretamente pelo usuário. O efeito da forma também pode estar presente, para aumentar o realismo da textura ao criar listras na cauda ou nos membros

do personagem, por exemplo. Jogos nos quais há alguma distribuição espacial aleatória de algum tipo de recurso também podem aproveitar esta técnica (por exemplo, um jogo de simulação de civilizações ou administração de nações poderia utilizar um sistema de reação-difusão para definir pontos onde há petróleo, carvão ou outros minerais). Neste caso, os parâmetros também poderão ser definidos pelo usuário nas opções de criação de mapa (recursos mais concentrados ou espalhados). A diferente natureza destes recursos ou aspectos pode ser simulada via coeficientes de difusão (cordilheiras de montanhas que tendem a se enfileirar no mapa como as listras “labirínticas”) ou da forma (as listras poderiam corresponder a recursos ou padrões geográficos típicos de uma península, que é o equivalente continental de um rabo ou membro fino).

Do ponto de vista biológico, várias possibilidades especulativas foram mencionadas neste capítulo como possíveis ligações entre os efeitos das condições estudadas sobre o mecanismo de reação-difusão e o padrão final observado na pelagem de mamíferos ou na pigmentação de outros animais. Uma especulação adicional a respeito dos resultados de Kaelin e Eizirik a respeito da tabulina e da endotelina-3 e seus papéis na formação dos padrões *tabby*, como vimos na seção 2.4, é sobre as características dessas moléculas aplicadas dentro de um sistema de reação-difusão. A endotelina-3 foi proposta por Kaelin como a responsável por estabelecer a identidade de uma região como clara ou escura, devido à correlação do pigmento predominante com os níveis de expressão deste gene. É possível que algum ligante corresponda ao morfógeno *b* se associe com um receptor na membrana celular que desencadeie a cascata de sinalização interna à célula que acabará por aumentar ou diminuir a expressão da endotelina-3 (supondo um mecanismo similar ao de nossas simulações, este ligante deverá inibir a expressão da endotelina-3, visto que as pintas escuras possuem baixa concentração de *b*). Dependendo da natureza deste ligante, processos distintos da difusão, como o transporte via corrente sanguínea, podem ser mais adequados para explicar o movimento do morfógeno pelo corpo do embrião. Quanto à tabulina, seu aspecto de conversão de um padrão de listras *spotted* em manchas desordenadas *blotched* parece similar ao efeito da variação dos coeficientes de difusão. Visto ser esta proteína uma protease, ela pode ser capaz de degradar de alguma forma algum peptídeo<sup>2</sup> ou proteína, permitindo ou dificultando a difusão deste último ou de um produto de sua quebra.

O modelo de Turing não é o mais biologicamente adequado devido às restrições adicionais necessárias ao mesmo para estabelecer o padrão, e não é implausível supor sistemas com três ou mais morfógenos (Turk (TURK, 1991) utiliza em algumas de suas simulações um modelo com cinco morfógenos, criado por Meinhardt), portanto devemos ter alguma cautela quanto a conclusões derivadas diretamente deste modelo específico de reação-difusão. No entanto, visto que várias das propriedades que encontramos neste foram obtidas anteriormente na literatura (como por exemplo em (MURRAY, 1981a)) com modelos moleculares diferentes, acreditamos que nossas conclusões qualitativas podem ser aproveitadas por sistemas que utilizem outras equações, tanto como descrição de características similares quanto como comparativo para sistemas que se comportem de uma maneira distinta.

---

<sup>2</sup>Cadeia de aminoácidos pequena, em oposição às proteínas, que são cadeias com um grande número de aminoácidos

## 5.7 Conclusão

Neste capítulo discutimos os resultados que obtivemos, e podemos afirmar que há um efeito significativo da forma e do crescimento sobre os padrões gerados pelo mecanismo de reação-difusão. Um aspecto que nota-se em vários de nossos resultados é que eles são capazes de produzir padrões com diferentes aspectos em cada região da figura, algo observado em várias espécies de animais. Também especulamos sobre possíveis aplicações de nossos métodos de simulação para a geração de texturas em computação gráfica e para a explicação de como se formam diferentes padrões de pelagem em mamíferos.

## 6 CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS

Este trabalho apresentou vários efeitos que podem alterar os padrões resultantes de simulações de formação do padrão de pelagem em mamíferos através de reação-difusão. Estudamos o efeito de diferentes parâmetros, da forma da superfície na qual ocorre o processo de formação de padrão, de diferentes regiões dessa superfície possuírem concentrações iniciais distintas, do tamanho total da superfície, e do crescimento da mesma. O que podemos concluir, antes de mais nada, é que estes aspectos alteram significativamente o resultado do processo, podendo levar a uma nova gama de padrões, principalmente aqueles nos quais partes distintas da superfície apresentam características diferentes umas das outras. Confirmamos vários resultados encontrados na literatura sobre o assunto, e obtivemos alguns resultados novos, incluindo a possibilidade de resultados invariantes às condições iniciais via regiões de diferentes concentrações iniciais dos morfógenos (Fig. 4.15), a obtenção de listras via crescimento do modelo (Fig. 4.20), e a presença de um efeito do tamanho total do domínio sobre o padrão resultante (Fig. 4.17), os quais ampliam a gama de respostas que podem ser obtidas através de reação-difusão.

Para dar prosseguimento aos nossos estudos, pretendemos implementar novas funcionalidades em nossos programas e realizar novas simulações a partir destas. Uma possível implementação para tornar o mecanismo de crescimento mais realista é permitir às novas células, ao invés de simplesmente adotarem um mesmo valor inicial, herdar as concentrações de seus vizinhos já existentes, podendo considerar isso como uma repartição dos morfógenos já existentes entre as duas células “filhas” provenientes da divisão celular (neste caso, ambas receberão metade das concentrações originais) ou como uma preservação do estado celular que indica qual a quantidade de cada morfógeno que deverá ser produzido, representando mecanismos de silenciamento ou de ativação da expressão de genes envolvidos na produção dessas substâncias (neste caso, ambas as células “filhas” herdarão o valor de concentração originário da sua antecessora). Realizar o crescimento algoritmicamente, ao invés de via sobreposição de imagens, pode tornar mais fácil a tarefa de mapear corretamente as células entre dois estágios sucessivos, além de permitir um desenvolvimento mais suave do modelo.

Nas nossas simulações, além do modelo possuir uma forma mais similar à pele de um animal adulto, utilizamos um crescimento linear para todas as partes do corpo, desconsiderando que estas crescem a diferentes taxas durante o desenvolvimento embrionário; utilizar imagens com diferentes formatos para cada estágio, e com formatos mais próximos ao presente em embriões, permitirá a nossas simulações se aproximar mais da situação real.

Seguindo a ideia de herança de concentrações, pretendemos também investigar que padrões podem ser formados através do processamento pós-reação-difusão, o qual foi postulado por Bard na explicação da origem das listras de zebras. Para tanto, podemos

dividir a simulação em dois períodos: um primeiro no qual ocorre reação-difusão junto com crescimento, e um segundo no qual as células mantêm a concentração de seus morfógenos, sem reação ou difusão, e há apenas o crescimento do modelo, mas utilizando a herança de concentrações para simular o “espichamento” de áreas de coloração já definida (ou melhor, já marcadas para receberem a pigmentação no pelo nas etapas mais avançadas do desenvolvimento). Neste caso, o tempo no qual o padrão se torna estável é mais relevante e, portanto, devemos investigar em mais detalhes o comportamento do sistema durante o processo, e talvez substituir um número fixo de passos por algum mecanismo que encerre o processo após uma condição ser alcançada. Um mecanismo para vincular o tempo de simulação às condições de encerramento usadas por Bard e Lauder (BARD; LAUDER, 1974) foi implementado, mas ainda não conseguimos que este mecanismo encerre o processo em um ponto válido (ou ele é interrompido nos primeiros passos da simulação, ou a condição de encerramento nunca é alcançada, mesmo que o padrão e os valores máximos e mínimos de  $b$  não estejam apresentando variação).

O uso de outros modelos de reação-difusão, tal como o de Murray ou o de Meinhardt, não está descartado; contudo, não obtivemos sucesso na tentativa de implementar o modelo de Murray, tanto em sistemas bidimensionais quanto unidimensionais. Já o modelo de ativador-inibidor de Meinhardt foi implementado com sucesso em um sistema unidimensional, em um script simples escrito em Python. Suas características, permitindo a um sistema de reação-difusão apresentar proporção invariante ao tamanho, podem fornecer padrões interessantes e diferentes dos que obtivemos. Outros modelos, talvez mais adequados a um possível mecanismo de interação que envolva o efeito dos genes dos padrões *tabby*, também podem ser utilizados.

Uma integração entre as diferentes concentrações iniciais para cada região e o mecanismo de crescimento, visando uma maior plausibilidade biológica ao nosso modelo, também deve ser tentada, embora acreditamos que juntar estes dois aspectos de uma maneira biologicamente significativa não seja trivial. Também pensamos na possibilidade de diferentes regiões do sistema apresentarem diferentes valores para os parâmetros: regiões nas quais não há a produção de um morfógeno, ou nas quais a difusão seja mais lenta ou apenas em um determinado sentido (anisotropia), são biologicamente plausíveis e podem aumentar a gama de padrões que podemos obter.

A infinidade de padrões encontrados nas formas vivas - e não apenas nelas - certamente continuará a impressionar a mente humana, e demandará explicações de como e porque eles ocorrem. Esperamos que nosso trabalho aumente o conhecimento não apenas sobre os mecanismos de formação de padrões, como também sobre como utilizar estes mecanismos, seja através de métodos computacionais de geração de textura, ou através de ideias que possam ser aplicadas experimentalmente.

## REFERÊNCIAS

- ALLEN, W. et al. Why the leopard got its spots: relating pattern development to ecology in felids. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, [S.l.], v.278, n.1710, p.1373–1380, 2011.
- ANTTWEAKBAR. Acessado em 2014-11-10, <http://anttweakbar.sourceforge.net/doc/>.
- ARCURI, P.; MURRAY, J. Pattern sensitivity to boundary and initial conditions in reaction-diffusion models. **Journal of Mathematical Biology**, [S.l.], v.24, n.2, p.141–165, 1986.
- ARNEY, K. **How the zebra got its stripes, with Alan Turing**. Acessado em 2014-10-28, Disponível em, <http://mosaicscience.com/story/how-zebra-got-its-stripes-alan-turing/>.
- BARD, J. A unity underlying the different zebra striping patterns. **Journal of Zoology**, London, v.183, n.4, p.527–539, 1977.
- BARD, J. A model for generating aspects of zebra and other mammalian coat patterns. **Journal of Theoretical Biology**, [S.l.], v.93, n.2, p.363–385, 1981.
- BARD, J.; LAUDER, I. How well does Turing's Theory of Morphogenesis work? **Journal of Theoretical Biology**, [S.l.], v.45, n.2, p.501–531, 1974.
- C Programming Language. Wikipedia - Acessado em 2014-11-10, [http://en.wikipedia.org/wiki/C\\_%28programming\\_language%29](http://en.wikipedia.org/wiki/C_%28programming_language%29).
- CRAMPIN, E. J.; GAFFNEY, E. A.; MAINI, P. K. Reaction and Diffusion on Growing Domains: scenarios for robust pattern formation. **Bulletin of Mathematical Biology**, [S.l.], v.61, n.6, p.1093–1120, 1999.
- CRAMPIN, E. J.; GAFFNEY, E. A.; MAINI, P. K. Mode-doubling and tripling in reaction-diffusion patterns on growing domains: a piecewise linear model. **Journal of Mathematical Biology**, [S.l.], v.44, n.2, p.107–128, 2002.
- EIZIRIK, E. et al. Defining and Mapping Mammalian Coat Pattern Genes: multiple genomic regions implicated in domestic cat stripes and spots. **Genetics**, [S.l.], v.184, n.1, p.267–275, 2010.
- GIERER, A.; MEINHARDT, H. A theory of biological pattern formation. **Kybernetik**, [S.l.], v.12, n.2, p.30–39, 1972.

- HELD, L. **Models for Embryonic Periodicity**. [S.l.]: Karger, 1994. (Monographs in Development Biology, v.24).
- ISHIHARA, S.; KANEKO, K. Turing pattern with proportion preservation. **Journal of Theoretical Biology**, [S.l.], v.238, n.3, p.683–693, 2006.
- JACKSON, I. J. Mouse coat colour mutations: a molecular genetic resource which spans the centuries. **BioEssays**, [S.l.], v.13, n.9, p.439–446, 1991.
- JUNG, H. et al. Local Inhibitory Action of {BMPs} and Their Relationships with Activators in Feather Formation: implications for periodic patterning. **Developmental Biology**, [S.l.], v.196, n.1, p.11 – 23, 1998.
- KAELIN, C. B. et al. Specifying and Sustaining Pigmentation Patterns in Domestic and Wild Cats. **Science**, [S.l.], v.337, n.6101, p.1536–1541, 2012.
- KNOSPE, C. Periods and Stages of the Prenatal Development of the Domestic Cat. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, [S.l.], v.31, n.1, p.37–51, 2002.
- KONDO, S.; MIURA, T. Reaction-Diffusion Model as a Framework for Understanding Biological Pattern Formation. **Science**, [S.l.], v.329, n.5999, p.1616–1620, 2010.
- KONDO, S.; SHIROTA, H. Theoretical analysis of mechanisms that generate the pigmentation pattern of animals. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, [S.l.], v.20, n.1, p.82 – 89, 2009.
- LEFÈVRE, J.; MANGIN, J. A Reaction-Diffusion Model of Human Brain Development. **PLOS Computational Biology**, [S.l.], v.6, n.4, p.e1000749, 2010.
- LO, K. et al. Interactive Reaction-Diffusion on Surface Tiles. **Pacific Graphics 2007**, [S.l.], p.65–74, 2007.
- MADZVAMUSE, A.; GAFFNEY, E.; MAINI, P. Stability analysis of non-autonomous reaction-diffusion systems: the effects of growing domains. **Journal of Mathematical Biology**, [S.l.], v.61, n.1, p.133–164, 2010.
- MAINI, P. Turing’s Mathematical Theory of Morphogenesis. **Asia Pacific Mathematics Newsletter**, [S.l.], v.2, n.1, p.7–8, 2012.
- MAINI, P.; BAKER, R.; CHUONG, C. The Turing Model Comes of Molecular Age. **Science**, [S.l.], v.314, n.5804, p.1397–1398, 2006.
- MAINI, P. K. et al. Turing’s model for biological pattern formation and the robustness problem. **Interface Focus**, [S.l.], v.2, n.4, p.487–496, 2012.
- MEINHARDT, H. Turing’s theory of morphogenesis of 1952 and the subsequent discovery of the crucial role of local self-enhancement and long-range inhibition. **Interface Focus**, [S.l.], v.2, n.4, p.407–416, 2012.
- MIURA, T.; MAINI, P. Periodic pattern formation in reaction—diffusion systems: an introduction for numerical simulation. **Anatomical Science International**, [S.l.], v.79, n.3, p.112–123, 2004.

- MORELLI, L. et al. Computational approaches to developmental patterning. **Science**, [S.l.], v.336, n.6078, p.187–191, 2012.
- MUNAFO, R. **Reaction-Diffusion by the Gray-Scott Model, Pearson's Parameterization**. Acessado em 2014-10-24, <http://mrob.com/pub/comp/xmorphism/>.
- MURRAY, J. A Pre-pattern Formation Mechanism for Animal Coat Markings. **Journal of Theoretical Biology**, [S.l.], v.88, n.1, p.161–199, 1981.
- MURRAY, J. On pattern formation mechanisms for lepidopteran wing patterns and mammalian coat markings. **Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.**, [S.l.], v.295, n.1078, p.473–496, 1981.
- MURRAY, J. **Mathematical Biology**. Berlin: Springer, 1993.
- MURRAY, J. Why Are There No 3-Headed Monsters? Mathematical Modeling in Biology. **Notices of the AMS**, [S.l.], v.59, n.6, p.785–795, 2012.
- NETPBM format. Wikipedia - Acessado em 2014-11-10, [http://en.wikipedia.org/wiki/Netpbm\\_format](http://en.wikipedia.org/wiki/Netpbm_format).
- NICOLIS, G.; WIT, A. **Reaction-diffusion systems - Scholarpedia**. Acessado em 2014-10-23, Disponível no site da Scholarpedia.
- OPENGL. Acessado em 2014-11-10, <http://www.opengl.org/>.
- OTSU'S method. Wikipedia - Acessado em 2014-11-09, [http://en.wikipedia.org/wiki/Otsu%27s\\_method](http://en.wikipedia.org/wiki/Otsu%27s_method).
- PYTHON Programming Language. Acessado em 2014-11-10, <https://www.python.org/>.
- QUEIROZ, F.; WALTER, M. Texture Synthesis of Contrasting Natural Patterns. **Graphics, Patterns and Images (SIBGRAPI), 2012 25th SIBGRAPI Conference on**, [S.l.], p.283–290, 2012.
- SANDERSON, A. R.; JOHNSON, C. R.; KIRBY, R. M. Display of Vector Fields Using a Reaction-Diffusion Model. **Proceedings of the Conference on Visualization '04**, Washington, DC, USA, p.115–122, 2004.
- SHORT, M. et al. Dissipation and displacements of hotspots in reaction-diffusion models of crime. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S.l.], v.107, n.9, p.3961–3965, 2010.
- SICK, S. et al. WNT and DKK Determine Hair Follicle Spacing Through a Reaction-Diffusion Mechanism. **Science**, [S.l.], v.314, n.5804, p.1447–1450, 2006.
- SWINDALE, N. A Model for the Formation of Ocular Dominance Stripes. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences**, [S.l.], v.208, n.1171, p.243–264, 1980.
- TURING, A. The Chemical Basis of Morphogenesis. **Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.**, [S.l.], v.237, n.641, p.37–72, 1952.

- TURK, G. Generating Textures on Arbitrary Surfaces Using Reaction-diffusion. **SIGGRAPH Comput. Graph.**, [S.l.], v.25, n.4, p.289–298, 1991.
- WALTER, M.; FOURNIER, A.; MENEVAUX, D. Integrating Shape and Pattern in Mammalian Models. **Proceedings of the 28th Annual Conference on Computer Graphics and Interactive Techniques, SIGGRAPH '01**, New York, NY, USA, p.317–326, 2001.
- WALTER, M.; FOURNIER, A.; REIMERS, M. Clonal Mosaic Model for the Synthesis of Mammalian Coat Patterns. **Proceedings of Graphics Interface**, Vancouver, BC, Canada, p.82–91, 1998.
- WATANABE, M.; KONDO, S. Changing clothes easily: connexin41.8 regulates skin pattern variation. **Pigment Cell Melanoma Res.**, [S.l.], v.25, n.3, p.326–330, 2012.
- WOLPERT, L. **Princípios de Biologia do Desenvolvimento**. Porto Alegre: Artmed, 2008.
- YONG, E. **One way to skin a cat – same genes behind blotches of tabbies and king cheetahs**. Discover Magazine Online, Acessado em 2014-11-04, Disponível em, <http://blogs.discovermagazine.com/notrocketscience/2012/09/20/tabby-cat-blotches-king-cheetah-stripes-spots-taqpep/>.
- ZHABOTINSKY, A. **Belousov-Zhabotinsky reaction** - Scholarpedia. Acessado em 2014-10-23, Disponível no site da Scholarpedia.