UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Matemática

Tesis de Licenciatura

Multiestacionariedad en Redes de reacciones bioquímicas

Ana Legaspi

Directora: Dra. Alicia Dickenstein

Diciembre de 2020

Gracias a la vida... Gracias familia, por ser voluntaria o involuntariamente testigxs incansables de cada momento. Soporte y sostén fundamental durante todo el recorrido.

Gracias al amor... y la compañía de Guido. Tus abrazos y las reflexiones conjuntas fueron y son de gran ayuda en momentos siempre importantes.

Gracias amigxs! compañerxs de estudio y de la vida. Ustedes fueron, son y serán indispensables para seguir remando en momentos de agotamiento, para celebrar nuestros pequeños grandes logros, dar y recibir palabras de aliento y celebrar cada encuentro. Seguiremos aprendiendo, construyendo y transitando el camino juntxs.

Gracias Alicia por orientarme y contenerme en este tránsito desconocido, novedoso y transformador. Siempre dispuesta, incentivando consultas. Aprendí mucho de vos, incluso más allá de los contenidos académicos. Tu compromiso y dedicación. Generadora de puentes, explorando y compartiendo lo que estudian (y cómo estudian) en otras partes del mundo. Gracias al jurado, Gabriela y Juan, por aceptar la invitación a leer, comentar y formar parte.

Gracias a la vocación docente, por permitirme reconocer y poner en perspectiva la complejidad que contiene el aprendizaje, que no es lineal y es una construcción colectiva. Gracias a mis profes, de cada unx de ustedes seguro algo llevo conmigo.

Gracias a la Universidad Pública.

Gracias matemática por haberme atraído con tu belleza, por permitirme conocer algunos destellos luminosos encantadores que aún me sorprenden y me provocan alegría.

Yo te sigo y te llevo a todos lados conmigo, para siempre.

Índice general

Introducción **5**

1. Redes bioquímicas **9**
1.1. Introducción a redes 9
1.2. Cinéticas y Sistemas dinámicos 10
1.2.1. Redes modeladas bajo cinética de acción de masas 11
1.3. Subespacio estequiométrico y Subespacio cinético 14
1.4. Leyes de conservación 16
1.4.1. Clases de compatibilidad estequiométrica (S-Clases) 21
1.5. El concepto de multiestacionariedad 23
1.5.1. Variedad de estados estacionarios 23
1.6. Sistemas lineales 27
1.6.1. Algunas definiciones de Teoría de grafos 28
1.6.2. Un resultado de monoestacionariedad 30

2. Subredes **35**
2.1. Definición de subred 35
2.2. Estabilidad de las soluciones 36
2.3. Estados estacionarios no degenerados 37
2.4. Extrapolación desde subredes 41
2.4.1. Definiciones y resultados de Homotopía 42
2.5. Demostración del Teorema de subredes 46

3. Redes MESSI **51**
3.1. Definición de los sistemas MESSI 51
3.2. Leyes de conservación en sistemas MESSI 54
3.3. Grafos asociados a una red con estructura MESSI 55
3.4. Parametrización de los estados estacionarios 57
3.5. Hacia el algoritmo 60
3.5.1. Notación 60
3.5.2. ¿Cómo determinar los ortantes que corta un subespacio? 65
3.5.3. Algoritmo para decidir si una red MESSI admite múltiples estados estacionarios positivos 69

4. Regiones de multiestacionariedad **73**
4.1. Soluciones positivas de sistemas de ecuaciones polinomiales 74
4.2. Cascada enzimática con *n* niveles 81
4.2.1. Notación general 82
4.2.2. Teoremas que garantizan multiestacionariedad en la cascada enzimática 84

5. Cascada con 3 niveles **87**
5.1. Cascadas de fosforilación y desfosforilación 87
5.2. Primera aproximación 91
5.2.1. Versión 1: 91
5.3. Levantando multiestacionariedad desde subredes 95
5.3.1. Subred que comparte el subespacio estequiométrico con la red original 95
5.4. Estructura MESSI de la red 98
5.4.1. Versión 1: misma enzima fosfatasa actuando en los tres niveles . . 98
5.4.2. Versión 2: dos enzimas fosfatasa iguales actuando en niveles consecutivos 102
5.4.3. Versión 3: dos enzimas fosfatasa iguales actuando en niveles no consecutivos 105
5.4.4. Versión 4: tres enzimas fosfatasa distintas actuando, una en cada nivel 108
5.5. Regiones de Multiestacionariedad 110
5.5.1. Analizamos la Versión 2: misma F actuando en niveles consecutivos (1er y 2do nivel) 110
5.5.2. Analizamos la Versión 3: misma F actuando en niveles no consecutivos (1er y 3er nivel) 117

Bibliografía **123**

Introducción

La teoría de Redes de Reacciones Químicas ha sido desarrollada a lo largo de los últimos 50 años a partir de los trabajos seminales de Feinberg [Fei72, Fei77, FH77, Fei79, Fei89, Fei95a, Fei95b], Horn y Jackson [Hor72, HJ72, Hor73, Hor74] y Vol'pert (en ruso) [VK75]. Los resultados clásicos principales de las redes de reacciones químicas pueden encontrarse en el reciente libro de Feinberg [Fei19]. Estos sistemas tienen un amplio rango de aplicaciones en las ciencias físicas y juegan un rol importante en la biología de sistemas.

La introducción de métodos algebraicos es relativamente nueva. Gatermann introdujo la conexión entre cinética de acción de masas y el álgebra computacional por medio de varios trabajos entre 2001 y 2005 [Gat01, GH02, GW05]. Gunawardena y coautores también comenzaron a abordar estos resultados de Teoría de Redes de Reacciones Químicas con herramientas algebraicas ([Gun03, Gun07, Gun12, MG08, TG09a, TG09b]). Desde ese entonces, se han introducido herramientas algebraicas en trabajos de diferentes autores como por ejemplo Craciun, Dickenstein, Peréz Millán, Shiu, Sturmfels, Feliu, Wiuf y coautores. Algunos de los primeros trabajos en esta dirección son [CDSS09, PMDSC12, KPMD$^+$12, DPM11, CNP13, PGRC14, FW12a, FW12b, FW13b, FKLW12, HFWS13, KFW12]. Más recientemente podemos citar [FS19, DPMSX19, DGRPM19, CAT19, CEMC17, CFW20a, AF, FKdWY20, SF19b, SWF19, SF19a, OSTT19, NGA$^+$20, BG19]. Referimos a los surveys [Dic16, Dic19] y al Capítulo 5 del libro reciente [Cox20] que contienen una introducción al tema, así como resultados recientes y una extensa bibliografía.

Las no linealidades presentes en las redes moleculares han conducido tradicionalmente a estudiar su comportamiento por medio de simulaciones numéricas, con lo cual es difícil (o imposible) estimar los parámetros. Sin embargo, las redes moleculares con cinética de acción de masas dan lugar a sistemas dinámicos polinomiales que dependen de parámetros. Los estados estacionarios de estas redes son por lo tanto los ceros de un sistema polinomial, es decir, variedades algebraicas afines. El abordaje por métodos algebraicos permite tratar los (muchos) parámetros como variables y predecir el comportamiento cualitativo de las soluciones en regiones del espacio de parámetros. Este estudio es especialmente posible para las redes biológicas enzimáticas y en general para las redes con estructura MESSI, introducida por Dickenstein y Pérez Millán en [MD18].

Una manera de abordar la complejidad de las redes bioquímicas es restringir el estudio a subredes de las que se espera extrapolar el comportamiento dinámico de la red total. En este sentido, U. Alon y colaboradores introdujeron la noción de "motif", que corresponde a subredes que se observan en redes reales con mucha mayor probabilidad

que en redes aleatorias [SOMMU02]. Esta idea fue también desarrollada por ejemplo en [FW12a] donde determinan condiciones para la existencia de multiestacionariedad en pequeños motifs sin feedback que ocurren recurrentemente en redes enzimáticas, como paso previo al estudio de la multiestacionariedad en redes generales. Un concepto similar es el de "átomos de multiestacionariedad" introducido en [JS13]. En todos los casos, se espera extrapolar a la red total las características cualitativas fundamentales que son posibles de ser estudiadas en subredes más pequeñas (ver también [CFRS07]), en particular la posible ocurrencia de multiestacionariedad.

En esta tesis nos proponemos introducir y mostrar (algunos de los) diversos métodos algebraicos que se utilizan para estudiar el tema de Redes de Reacciones Químicas, en particular Redes de Reacciones Químicas utilizadas en Bioquímica y generar interés en estudiantes con nuevas ideas y aportes para desarrollar técnicas y estrategias que permitan seguir profundizando el estudio en este tema. Presentamos diferentes métodos algebraicos que fueron desarrollados para estudiar el comportamiento de este tipo de redes y, en particular, para intentar determinar cuándo una red resulta multiestacionaria, es decir, para qué valores de los parámetros que aparecen en el modelo, la red tiene más de un estado estacionario positivo en alguna clase de compatibilidad estequiométrica. Quedan afuera muchos resultados y estrategias de estudio de interés como son: el estudio de inyectividad ([DF21] Capítulo 4), la noción de grafo DSR [FW15], la matriz jacobiana reducida ([CC18, Capítulo 9]), resultados sobre multiestabilidad [CFW20b, FRW20], etc.

Resumimos el contenido de esta tesis:

En el Capítulo 1 introducimos la notación y los principales conceptos de Redes de Reacciones Químicas, mostramos diferentes formas de representarlas y la noción de multiestacionariedad.

En el Capítulo 2 damos una demostración completa del Teorema 2.4.1 que muestra que si una subred resulta multiestacionaria, entonces la red más grande que la contiene también lo es, bajo ciertas hipótesis. Usamos los resultados y definiciones que figuran en [JS13]. Para la demostración usamos algunas herramientas de Homotopía [CHW08].

En el Capítulo 3, presentamos las Redes con estructura MESSI. Esta estructura se repite en gran cantidad de redes de interés biológico. Presentamos algunos resultados generales y un algoritmo presente en el mismo trabajo e implementado por G. Mosse [Mos20], que decide si una red consistente y tórica admite múltiples estados estacionarios o resulta monoestacionaria. Explicamos los pasos del algoritmo y los fundamentos en los cuales se basa.

En el Capítulo 4 presentamos los resultados presentes en [GBD19], donde se muestran estrategias para encontrar regiones de parámetros que garantizan la multiestacionariedad de una red. En particular, se presenta el caso de la cascada enzimática con n niveles y usamos este resultado en el capítulo siguiente para encontrar regiones de parámetros para los que la cascada enzimática con 3 niveles resulta multiestacionaria.

En el Capítulo 5, analizamos un ejemplo: cascada enzimática con 3 niveles de fosforilación / desfosforilación. La cantidad de variables y de parámetros hacen imposible actualmente que el problema pueda abordarse con métodos simbólicos que detecten todas las componentes conexas del complemento del discriminante del sistema. Asimismo, una simulación numérica que recorra el espacio de parámetros con una malla suficien-

temente fina requeriría un poder enorme de cómputo. En cambio, usamos los resultados presentados en los capítulos anteriores para mostrar las diversas estrategias presentadas en la tesis y aplicamos el algoritmo presentado en el Capítulo 3 para obtener testigos de multiestacionariedad.

Capítulo 1

Redes de reacciones bioquímicas

En este capítulo haremos una introducción al tema de redes para especificar los nombres de las componentes que las conforman y las notaciones que usaremos de aquí en adelante. Mostraremos diferentes maneras de modelar una red: el sistema de ecuaciones diferenciales asociado, un grafo dirigido, diferentes formas matriciales para representarla. Además vamos a definir qué son los estados estacionarios de una red y el concepto de *red multiestacionaria*, ya que el objetivo de este trabajo es mostrar algunos de los distintos métodos que existen para determinar si una red admite (o no) múltiples estados estacionarios.

1.1. Introducción a redes

Empezaremos mostrando un ejemplo de una reacción química clásica:

Ejemplo 1.1.1.

$$2H + O \xrightarrow{\kappa} A \tag{1.1}$$

Este esquema muestra que cuando reaccionan 2 moléculas de Hidrógeno (H) con 1 molécula de Oxígeno (O) dan lugar a un nuevo compuesto llamado A(gua). A los elementos químicos $\{H, O, A\}$ se los denomina *especies* de la reacción, y a la *fuente* $2H + O$ y al *producto* A se los denomina *complejos*, que son elementos formados por combinaciones lineales con coeficientes naturales de las especies. La flecha indica el sentido de la reacción y, en general, aparecerá una *etiqueta* o *parámetro*, en este caso κ, que identifica a la reacción e involucra alguna información (por ejemplo, velocidad de la reacción o probabilidad de que la reacción ocurra).

Una red de reacciones químicas será un conjunto de reacciones que suceden en simultáneo y dan lugar a un sistema dinámico.

Entonces, para definir una red de reacciones químicas necesitamos la siguiente información:

- Un conjunto finito de especies, que notaremos $\mathcal{X} = \{X_1, X_2, \ldots, X_n\}$.

- Un conjunto finito de vectores $\mathcal{Y} = \{y_1, y_2, \ldots, y_m\}$, con $y_i \in \mathbb{Z}^n_{\geq 0}$, que representan a los complejos de la red. Para cada especie $X_i \in \mathcal{X}$, existe algún complejo $y \in \mathcal{Y}$ que la contiene.
- Un conjunto de reacciones $\mathcal{R} \subset \mathcal{Y} \times \mathcal{Y}$, que cumplen:
  - $(y, y) \notin \mathcal{R}$ para todo $y \in \mathcal{Y}$, o sea, ningún complejo reacciona con sí mismo.
  - Para cada complejo $y \in \mathcal{Y}$ existe $y' \in \mathcal{Y}$ tal que $(y, y') \in \mathcal{R}$ o $(y', y) \in \mathcal{R}$, es decir, existe una reacción en $\mathcal{R}$ para la cual y es el complejo fuente o el complejo producto.

  $(y, y') \in \mathcal{R}$ es un par ordenado que indica que el complejo y reacciona al complejo y'; en general escribiremos $y \to y'$.

Definición 1.1.2. Una red de reacciones químicas sobre $\mathcal{X}$ es un grafo dirigido sin bucles, $G = (\mathcal{V}(G), \mathcal{E}(G))$ donde los nodos o vértices del grafo representan al conjunto de complejos $\mathcal{V}(G) = \mathcal{Y}$, y las flechas o ejes representan las reacciones $\mathcal{E}(G) = \mathcal{R}$. En general consideraremos que los cardinales de los conjuntos son $\#\mathcal{X} = n, \#\mathcal{Y} = m, \#\mathcal{R} = r$.

A una red G con un conjunto de especies $\mathcal{X}$, con un conjunto de complejos $\mathcal{Y}$ y con un conjunto de reacciones $\mathcal{R}$ la notamos $G = \{\mathcal{X}, \mathcal{Y}, \mathcal{R}\}$.

Veamos ahora un ejemplo de una red:

Ejemplo 1.1.3.

$$A + B \underset{\kappa_{21}}{\overset{\kappa_{12}}{\rightleftarrows}} 2\,B + C \overset{\kappa_{23}}{\to} A + 2\,C \tag{1.2}$$

En este ejemplo,

- el conjunto de especies es $\mathcal{X} = \{A, B, C\}$ y las asumimos ordenadas para representar los complejos como vectores,
- el conjunto de complejos es $\mathcal{Y} = \{y_1 : A + B,\ y_2 : 2\,B + C,\ y_3 : A + 2\,C\} = \{(1, 1, 0); (0, 2, 1); (1, 0, 2)\}$,
- las reacciones son $\mathcal{R} = \{y_1 \to y_2,\ y_2 \to y_1,\ y_2 \to y_3\} = \{(y_1, y_2); (y_2, y_1); (y_2, y_3)\}$.

Al vector de parámetros lo notaremos $\kappa \in \mathbb{R}^r$, en este caso $\kappa = (\kappa_{12}, \kappa_{21}, \kappa_{23})$.

En una red podría aparecer la reacción $0 \to A$ o $A \to 0$ lo que indica respectivamente la creación o degradación de un elemento químico. Comúnmente son llamadas reacciones *inflow/outflow*. El complejo 0 será representado con el vector nulo.

1.2. Cinéticas y Sistemas dinámicos

Las redes de reacciones químicas definen sistemas dinámicos, que evolucionan en el tiempo. El vector de concentraciones:

$$x(t) = (x_1(t), x_2(t), \ldots, x_n(t))$$

representa la concentración molar[1] $x_i(t)$ de la especie X_i en el instante t. A cada reacción $y_k \to y'_k$ se le asigna una *función de velocidad* que determinará el modelo del sistema. La función de velocidad, que notaremos

$$R_k(\cdot) = R_{y_k \to y'_k}(\cdot) : \mathbb{R}^n_{\geq 0} \to \mathbb{R}$$

es una función *suave* (continua y diferenciable, con derivadas parciales también continuas), que debe satisfacer las siguientes propiedades:

1. $R_{y_k \to y'_k}(\cdot)$ depende explícitamente de x_i sólo si $(y_k)_i \neq 0$.
2. $\frac{\partial}{\partial x_i} R_{y_k \to y'_k}(x) \geq 0$ para los x_i con $(y_k)_i \neq 0$, y la igualdad puede valer sólo si al menos una coordenada de x es cero.
3. $R_{y_k \to y'_k}(x) = 0$ si $x_i = 0$ para algún i con $(y_k)_i \neq 0$.
4. Si $1 \leq (y_k)_i < (y_\ell)_i$, entonces $\lim\limits_{x_i \to 0} \dfrac{R_\ell(x)}{R_k(x)} = 0$, donde todas las demás $x_j > 0$ están fijas en el límite.

El punto 4. señala que si la reacción ℓ demanda más moléculas de la especie X_i como fuente que la reacción k, entonces la velocidad de la reacción ℓ decrece a 0 más rápido que la reacción k cuando $x_i \to 0$.

Definición 1.2.1. Una **cinética** K para una red de reacciones químicas $G = \{\mathcal{X}, \mathcal{Y}, \mathcal{R}\}$ es la asignación a cada reacción $y_k \to y'_k \in \mathcal{R}$ de una función de velocidad $R_k(\cdot) = R_{y_k \to y'_k}(\cdot)$, que satisface las propiedades numeradas anteriormente.

En este trabajo estudiaremos las redes modeladas bajo la hipótesis de *cinética de acción de masas*, que es estándar en el modelado matemático de eventos biológicos: asumimos que las especies involucradas en el complejo fuente están homogéneamente distribuidas, que participa una cantidad abundante de ellas, y que reaccionan a una velocidad proporcional al producto de sus concentraciones. La constante de proporcionalidad está representada en la etiqueta de cada reacción.

En general notaremos x_i en vez de $x_i(t)$ a la concentración molar de la especie X_i, obviando que es una variable que depende del tiempo.

1.2.1. Redes modeladas bajo cinética de acción de masas

Partimos del grafo dirigido $G = \{\mathcal{X}, \mathcal{Y}, \mathcal{R}\}$. Asumimos que los elementos de $\mathcal{X}$ y de $\mathcal{Y}$ están numerados. Notamos por $x = (x_1, x_2, \ldots, x_n)$ al vector de concentraciones de las especies. Cada complejo y_k da lugar a un monomio en las concentraciones:

$$x^{y_k} := x_1^{y_{1k}} x_2^{y_{2k}} \ldots x_n^{y_{nk}} = \prod_{\ell=1}^{n} \left(x_\ell^{y_{\ell k}}\right) \tag{1.3}$$

[1] La concentración molar, digamos x_A, especifica el número de moléculas A por unidad de volumen de mezcla. Más precisamente, x_A es el número de moléculas A por unidad de volumen, dividido por el número de Avogadro, $6,023 \times 10^{23}$.

con la convención de que $0^0 = 1$.

Definición 1.2.2. Decimos que un sistema de reacciones químicas tiene cinética de acción de masas si todas las funciones de velocidad asociadas a cada reacción tienen la forma:

$$R_k(x) = \kappa_k \, x_1^{y_{1k}} x_2^{y_{2k}} \dots x_n^{y_{nk}} =: \kappa_k \, x^{y_k}$$

para algún vector positivo de constantes de reacción $(\kappa_1, \kappa_2, \dots, \kappa_r) \in \mathbb{R}^r_{>0}$.

Es fácil chequear que dichas funciones R_k cumplen las propiedades de las funciones de velocidad enunciadas anteriormente.

En general notaremos κ_{ij} a la etiqueta de la reacción $y_i \to y_j$.

Un modelo bajo cinética de acción de masas es un sistema autónomo de n ecuaciones diferenciales ordinarias en las concentraciones de las especies $x_1, x_2, \dots, x_n$ como funciones en el tiempo y tiene la forma:

$$\frac{dx}{dt} = \dot{x}(t) = \sum_{y_i \to y_j \in \mathcal{R}} \kappa_{ij} \, x^{y_i} \, (y_j - y_i), \quad x \in \mathbb{R}^n_{>0}. \tag{1.4}$$

Podemos escribir la formulación (1.4) para cada especie:

$$\dot{x}_\ell = \sum_{y_i \to y_j \in \mathcal{R}} (y_{\ell_j} - y_{\ell_i}) \, \kappa_{ij} \, x^{y_i}, \quad \ell = 1, \dots, n. \tag{1.5}$$

Observamos que el término

$$(y_{\ell_j} - y_{\ell_i}) \, \kappa_{ij} \, x^{y_i}$$

representa la producción neta de la especie X_ℓ en la reacción $y_i \to y_j$ que se genera a una velocidad $\kappa_{ij} \, x^{y_i}$ que, bajo esta hipótesis, es proporcional al producto de las concentraciones de las especies en la fuente de la reacción, y donde la constante de porporcionalidad es κ_{ij}. En (1.5) calculamos la creación total (o degradación) de la especie X_ℓ cuando las reacciones en las que participa esta especie ocurren.

Cada derivada $\dot{x}_\ell$ es una combinación lineal de monomios con coeficientes reales, es decir, una ecuación polinomial en $\mathbb{R}[x_1, \dots, x_n]$. Notaremos entonces $\dot{x}_\ell = f_\ell(x)$ a cada ecuación y abreviaremos al sistema de ecuaciones asociado a una red de reacciones químicas como $\dot{x} = f(x)$, luego la *función de velocidad de formación de especies* para esta cinética es:

$$f(x) = \sum_{y_i \to y_j \in \mathcal{R}} \kappa_{ij} \, x^{y_i} \, (y_j - y_i), \quad x \in \mathbb{R}^n_{>0}. \tag{1.6}$$

Introducimos otra notación que será utilizada más adelante. Asumimos que las reacciones del conjunto $\mathcal{R}$ están numeradas para considerarlas en algún orden $\{\mathcal{R}_1, \mathcal{R}_2, \dots, \mathcal{R}_r\}$. Para cada complejo y_i notamos $c_i^\ell(\kappa)$ al coeficiente del monomio x^{y_i} en el polinomio f_ℓ. Esto es, mirando la ecuación (1.5) el coeficiente correspondiente al monomio x^{y_i} es

$$c_i^\ell(\kappa) = \sum_{y_i \to y_j \in \mathcal{R}} (y_{\ell_j} - y_{\ell_i}) \, \kappa_{ij} \tag{1.7}$$

y entonces podemos escribir de manera más compacta

$$\dot{x}_\ell = f_\ell(x) = \sum_{i=1}^{m} c_i^\ell(\kappa)\, x^{y_i}, \quad \ell = 1, \ldots, n.$$

Si el complejo y_i no es la fuente de ninguna reacción, el coeficiente $c_i^\ell(\kappa) = 0$. Sin embargo, hay casos en los cuales y_i es la fuente de una reacción y el coeficiente $c_i^\ell(\kappa) = 0$, esto ocurre cuando la reacción $y_i \to y_j$ tiene la misma cantidad de moléculas de la especie X_ℓ en la fuente y en el producto, es decir, $y_{\ell_j} = y_{\ell_i}$ (incluye el caso en el que la especie X_ℓ no participa de la reacción).

Si notamos $\Sigma_\kappa \in \mathbb{R}^{n\times m}$ a la matriz de coeficientes de los polinomios f_ℓ:

$$(\Sigma_\kappa)_{\ell i} = c_i^\ell(\kappa), \quad \ell = 1, \ldots, n;\ i = 1, \ldots, m. \tag{1.8}$$

podemos reescribir el sistema de ecuaciones asociado a una red modelada bajo la hipótesis de cinética de acción de masas como:

$$\dot{x} = \Sigma_\kappa\, x^Y \tag{1.9}$$

donde $Y \in \mathbb{N}_0^{n\times m}$ es la matriz que en sus columnas contiene los vectores que describen a los complejos, y se define $x^Y := (x^{y_1}, x^{y_2}, \ldots, x^{y_m})^t$ (el exponente t denota la traspuesta). Aclaramos la notación con el siguiente ejemplo.

Ejemplo 1.2.3. Continuamos con la red (1.2) del Ejemplo 1.1.3. Notaremos x_A, x_B y x_C a las concentraciones de las especies A, B, C respectivamente. Como ya dijimos, cada complejo da lugar a un monomio en las concentraciones:

$$\begin{aligned} A + B &: x^{(1,1,0)} = x_A\, x_B, \\ 2B + C &: x^{(0,2,1)} = {x_B}^2\, x_C, \\ A + 2C &: x^{(1,0,2)} = x_A\, {x_C}^2. \end{aligned}$$

La evolución en el tiempo de la concentración de todas las especies, según la fórmula (1.4), quedará determinada por el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\dot{x} = \kappa_{12}\, x_A x_B \begin{pmatrix} -1 \\ 1 \\ 1 \end{pmatrix} + \kappa_{21}\, {x_B}^2 x_C \begin{pmatrix} 1 \\ -1 \\ -1 \end{pmatrix} + \kappa_{23}\, {x_B}^2 x_C \begin{pmatrix} 1 \\ -2 \\ 1 \end{pmatrix}$$

Si lo separamos en cada componente, el sistema de ecuaciones diferenciales asociado es:

$$\begin{cases} \dot{x}_A = -\kappa_{12}\, x_A x_B + (\kappa_{21} + \kappa_{23})\, {x_B}^2 x_C, \\ \dot{x}_B = \kappa_{12}\, x_A x_B - (\kappa_{21} + 2\kappa_{23})\, {x_B}^2 x_C, \\ \dot{x}_C = \kappa_{12}\, x_A x_B + (\kappa_{23} - \kappa_{21})\, {x_B}^2 x_C. \end{cases} \tag{1.10}$$

En este caso, $\Sigma_\kappa \in \mathbb{R}^{3\times 3}$ tiene una columna de ceros porque el complejo $x_A\, {x_C}^2$ no es la fuente de ninguna reacción, $Y \in \mathbb{N}_0^{3\times 3}$

$$\Sigma_\kappa = \begin{pmatrix} -\kappa_{12} & \kappa_{21} + \kappa_{23} & 0 \\ \kappa_{12} & -\kappa_{21} - 2\kappa_{23} & 0 \\ \kappa_{12} & \kappa_{23} - \kappa_{21} & 0 \end{pmatrix} \quad Y = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 1 \\ 1 & 2 & 0 \\ 0 & 1 & 2 \end{pmatrix}$$

Entonces el sistema se puede describir con el producto entre matrices como en (1.9):

$$\dot{x} = \begin{pmatrix} -\kappa_{12} & \kappa_{21} + \kappa_{23} & 0 \\ \kappa_{12} & -\kappa_{21} - 2\kappa_{23} & 0 \\ \kappa_{12} & \kappa_{23} - \kappa_{21} & 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x_A\, x_B \\ x_B^2\, x_C \\ x_A\, x_C^2 \end{pmatrix}$$

1.3. Subespacio estequiométrico y Subespacio cinético

Consideramos las reacciones de la red numeradas para poder ordenarlas $\{\mathcal{R}_1, \ldots, \mathcal{R}_r\}$ y asociamos a cada reacción $y_i \to y_j$ el vector $y_j - y_i \in \mathbb{Z}^n$ que representa la *producción neta* de cada especie que participa en la reacción una vez que ocurre.

Se llama **subespacio estequiométrico** de la red, $S \subseteq \mathbb{R}^n$, al subespacio vectorial generado por los vectores asociados a cada reacción:

$$S = \langle y_j - y_i : y_i \to y_j \in \mathcal{R} \rangle. \tag{1.11}$$

Con esta información podemos construir una matriz, llamada *matriz estequiométrica* o *de estequiometría* $N \in \mathbb{Z}^{n \times r}$ en cuya ℓ-ésima columna aparece el vector asociado a la reacción $\mathcal{R}_\ell$. Observamos que en las columnas de N aparecen los generadores de S y, por lo tanto, $S = Img(N)$, $rango(N) = dim(S) = s$.

Llamamos **subespacio cinético** de la red, que notamos S_κ, al menor subespacio lineal que contiene a la imagen de la función de velocidad de formación de especies f. Si usamos la forma de escritura matricial del sistema dada en (1.9),

$$S_\kappa = \langle \Sigma_\kappa\, x^Y, x \in \mathbb{R}^n_{\geq 0} \rangle \subseteq \mathbb{R}^n.$$

Observamos que S_κ está generado por las columnas de Σ_κ, también podemos escribir al subespacio cinético como la imagen de la transformación matricial definida por Σ_κ.

$$S_\kappa = \langle Img(\Sigma_\kappa) \rangle.$$

A diferencia del subespacio estequiométrico, el subespacio cinético depende de los valores que toman los parámetros. Por la definición de S y por la forma que tiene un sistema modelado bajo cinética de acción de masas (1.6), es claro que S contiene a la imagen de f. Al ser S_κ el subespacio *más chico* que contiene la imagen de f, siempre se verifica $S_\kappa \subseteq S$.

Ejemplo 1.3.1. Si analizamos la red (1.2) del Ejemplo 1.1.3, el subespacio estequiométrico asociado es

$$S = \langle (-1, 1, 1); (1, -2, 1) \rangle,$$

y la matriz de estequiometría

$$N = \begin{pmatrix} -1 & 1 & 1 \\ 1 & -1 & -2 \\ 1 & -1 & 1 \end{pmatrix}$$

Notemos que el subespacio estequiométrico es independiente de los parámetros de las reacciones.

El subespacio cinético está dado por:

$$S_\kappa = \langle(-\kappa_{12}, \kappa_{12}, \kappa_{12}); (\kappa_{21} + \kappa_{23}, -\kappa_{21} - 2\kappa_{23}, \kappa_{23} - \kappa_{21})\rangle$$

como estos vectores son linealmente independientes para cualquier valor que tomen los parámetros κ_{ij} que son, en principio, valores positivos, $dim(S) = dim(S_\kappa)$, el subespacio cinético y el subespacio estequiométrico coinciden para cualquier vector de parámetros κ.

Más adelante veremos qué implica la igualdad (o no) de estos subespacios.

Usando la matriz N podemos escribir el sistema de ecuaciones asociado de otra forma matricial:

$$\dot{x} = \begin{pmatrix} -1 & 1 & 1 \\ 1 & -1 & -2 \\ 1 & -1 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \kappa_{12} x_A\, x_B \\ \kappa_{21} {x_B}^2\, x_C \\ \kappa_{23} {x_B}^2\, x_C \end{pmatrix} \tag{1.12}$$

Notamos $R(x)$ al vector que contiene los monomios de las reacciones (y sus respectivos coeficientes paramétricos): con las reacciones ordenadas, si la ℓ-ésima reacción es $y_i \to y_j$ con parámetro κ_{ij}, en la ℓ-ésima entrada del vector $R(x) \in \mathbb{R}^{r\times 1}$ figura el monomio $\kappa_{ij}\, x^{y_i}$, podemos describir al sistema con el producto entre matrices como en (1.12) del ejemplo:

$$\dot{x} = NR(x). \tag{1.13}$$

Una de las preguntas que surgen naturalmente es **¿cuándo un sistema de ecuaciones diferenciales polinomiales proviene de una red de reacciones químicas modelada bajo cinética de acción de masas?** La respuesta está publicada en el trabajo de Hárs y Tóth en [HT79], el resultado es conocido como el *Lema Húngaro*:

Lema 1.3.2. *Sean $f_1, \dots, f_n \in \mathbb{R}[x_1, \dots, x_n]$ y $f = (f_1, \dots, f_n)$. Son equivalentes:*

(i) El sistema polinomial de ecuaciones diferenciales $\dot{x} = f(x)$ es un sistema asociado a una red de reacciones químicas modelada bajo cinética de acción de masas.

(ii) Para cada $1 \le \ell \le n$ existe un par de polinomios $p_\ell, q_\ell \in \mathbb{R}[x_1, \dots, x_n]$ con coeficientes no negativos, tales que $f_\ell = p_\ell - x_\ell\, q_\ell$.

(iii) Si escribimos $f_\ell = \sum_\alpha c_\alpha^\ell\, x^\alpha$ para $\ell = 1, \dots, n$, donde $\alpha \in \mathbb{N}^n$ y $c_\alpha^\ell \in \mathbb{R}$, entonces x_ℓ divide a x^α para todo α tal que $c_\alpha^\ell < 0$.

Demostración. La equivalencia entre (ii) y (iii) es inmediata y se deduce igualando las dos expresiones para f_ℓ.

Para probar que (i) implica (iii) notemos que el coeficiente de la ecuación dada por (1.5), $(y_{\ell_j} - y_{\ell_i})\,\kappa_{ij}$, es negativo sólo en caso de que $y_{\ell_j} < y_{\ell_i}$. En este caso $y_{\ell_i} \ge 1$ y entonces, x_ℓ divide al monomio $x^{y_i} = x_1^{y_{1i}}\, x_2^{y_{2i}} \dots x_\ell^{y_{\ell i}} \dots x_n^{y_{ni}}$.

Asumimos ahora que las funciones se pueden escribir como figura en (ii) y probaremos que se verifica (i), para esto definimos una red sobre las especies $\mathcal{X} = \{X_1, \dots, X_n\}$

que modelada bajo acción de masas coincida con el sistema formado por las funciones f_ℓ. Construimos una reacción (etiquetada) para cada monomio presente en f_ℓ, para cada $\ell = 1, \ldots, n$, de la siguiente manera: sea e_ℓ el ℓ-ésimo vector canónico de $\mathbb{R}^n$. Tomamos un monomio $c_\alpha\, x^\alpha$ presente en el polinomio p_ℓ ($c_\alpha > 0$). Agregamos α y $\alpha + e_\ell$ al conjunto de complejos de la red y asociamos con este monomio la siguiente reacción etiquetada:

$$\alpha \xrightarrow{c_\alpha} \alpha + e_\ell$$

Como el vector asociado a esta reacción es e_ℓ, el monomio $c_\alpha\, x^\alpha$ sólo estará presente en la función f_ℓ del sistema asociado. De manera equivalente, tomamos un monomio $c_\beta\, x^\beta$ del polinomio q_ℓ ($c_\beta > 0$) tal que la función f_ℓ involucra al monomio $-c_\beta\, x^{\beta+e_\ell}$. Agregamos β y $\beta + e_\ell$ al conjunto de complejos y agregamos a la red la reacción etiquetada:

$$\beta + e_\ell \xrightarrow{c_\beta} \beta$$

Luego, el monomio correspondiente sólo estará presente en f_ℓ. □

1.4. Leyes de conservación

Dado un sistema de ecuaciones asociado a una red de reacciones químicas, $\dot{x} = f(x)$, un subconjunto $\mathcal{P} \subset \mathbb{R}^n$ se dice *invariante* si para cualquier trayectoria $x : I \to \mathbb{R}^n$ definida por el sistema en un intervalo I que contiene al origen y cuyo valor inicial es $x(0) \in \mathcal{P}$, implica que $x(t) \in \mathcal{P}, \forall t \in I$, es decir, que la trayectoria que tiene como dato inicial $x(0) \in \mathcal{P}$ permanece dentro del conjunto $\mathcal{P}$ para todo instante t en el intervalo de definición I. Cuando $t \geq 0$ se dice que el conjunto es invariante *hacia adelante*.

Proposición 1.4.1. *Sea $\dot{x} = f(x)$ un sistema de ecuaciones proveniente de una red modelada bajo la hipótesis de cinética de acción de masas, entonces $\mathbb{R}^n_{>0}$ es invariante hacia adelante para la dinámica.*

Demostración. Sabemos por el Lema 1.3.2 que cada función f_i se escribe de la forma

$$f_i = p_i - x_i\, q_i$$

con $p_i, q_i \in \mathbb{R}[x]$ con coeficientes no negativos $\forall i = 1, \ldots, n$.

Entonces $p_i(x), q_i(x) \geq 0$ en $\mathbb{R}^n_{>0}$. Queremos probar que $x(t) \in \mathbb{R}^n_{>0}, \forall t \in I, t > 0$.

Supongamos que el enunciado no es cierto: entonces existe t_1 en el intervalo de definición de la trayectoria I y un índice $i \in \{1, \ldots, n\}$ tal que $x_i(t) > 0$, $\forall\, 0 \leq t < t_1$ y $x_i(t_1) = 0$.

Para $0 < t < t_1$

$$\dot{x}_i(t) = p_i(x(t)) - x_i(t)\, q_i(x(t)) \geq -x_i(t)\, q_i(x(t))$$

Luego

$$\frac{\dot{x}_i(t)}{x_i(t)} \geq -q_i(x(t))$$

Como $[0, t_1]$ es compacto, existe $C \in \mathbb{R}_{\geq 0}$ tal que $0 \leq q_i(x(t)) \leq C$. Entonces

$$\frac{d}{dt}(log(x_i(t))) = \frac{\dot{x}_i(t)}{x_i(t)} \geq -C$$

Integrando ambos miembros

$$log(x_i(t)) \geq -Ct + log(x_i(0))$$

$$x_i(t) \geq e^{-Ct}\, x_i(0) > 0 \text{ en } [0, t_1]$$

(vale también en t_1 por continuidad). Lo que nos lleva a una contradicción. □

Entonces, cada trayectoria que comienza en el ortante positivo de $\mathbb{R}^n$, $\mathbb{R}^n_{>0}$, donde el dato inicial representa la concentración inicial de las especies involucradas en la red, permanece en ese ortante. Lo que implica que las concentraciones de las especies podrían disminuir mucho, tender a cero, pero no se anulan (no se degradan totalmente), ni toman valores negativos, lo que es coherente con el problema que se está modelando.

Es posible ver que si un conjunto $\mathcal{P} \subset \mathbb{R}^n$ es invariante hacia adelante, su clausura $\overline{\mathcal{P}}$ también lo es [Son01]. Por lo tanto, cualquier trayectoria que sea solución de un sistema de ecuaciones diferenciales asociado a una red de reacciones químicas modelada bajo la hipótesis de cinética de acción de masas cuyo dato inicial sea positivo o cero, permanecerá en el ortante no negativo de $\mathbb{R}^n$ para todo tiempo positivo t donde la solución esté definida.

Veamos que existen variedades lineales invariantes para un sistema modelado bajo cinética de acción de masas. Para esto volvamos al ejemplo:

Ejemplo 1.4.2. (Continuación Ejemplo 1.1.3) A partir del sistema de ecuaciones (1.10), podemos comprobar que se verifica:

$$3\,\dot{x}_A + 2\,\dot{x}_B + \dot{x}_C = 0$$

O lo que es igual:

$$\frac{d}{dt}(3\,x_A + 2\,x_B + x_C) = 0$$

Y, por lo tanto, podemos afirmar que la cantidad $3\,x_A + 2\,x_B + x_C$ permanece constante a lo largo del tiempo. Entonces existe algún valor T tal que

$$3\,x_A + 2\,x_B + x_C = T \tag{1.14}$$

y el valor total T depende de la concentración inicial de las especies. Si notamos $x_i(0)$ a la concentración inicial de la especie i,

$$T = 3\,x_A(0) + 2\,x_B(0) + x_C(0)$$

En este caso, para cada T, la ecuación (1.14) define un plano en $\mathbb{R}^3$. Dadas las concentraciones iniciales de las especies, el valor de T restringe las trayectorias que define el sistema de ecuaciones al plano que ese valor de T define. A la ecuación (1.14) se la denomina *Ley de conservación* para el sistema, que definimos de manera más general a continuación.

Sean $x, y \in \mathbb{R}^n$, notaremos indistintamente con $x \cdot y$ o con $\langle\, x,\, y \,\rangle$ al producto escalar entre los vectores x e y: $\quad x \cdot y = \langle\, x,\, y \,\rangle := x_1\, y_1 + x_2\, y_2 + \cdots + x_n\, y_n$.

Definición 1.4.3. Sea $\dot{x} = f(x)$ un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias (EDO), $x \in \mathbb{R}^n$, sea $\lambda \in \mathbb{R}^n$, y L_λ una forma lineal dada por

$$L_\lambda(x) = \lambda \cdot x$$

Decimos que $L_\lambda(x)$ es una **ley de conservación** para $\dot{x} = f(x)$ si $L_\lambda(x(t))$ es constante para cada trayectoria $x(t)$ definida por el sistema en su intervalo de definición $I \subset \mathbb{R}$, es decir, si existe $T \in \mathbb{R}$ tal que $\lambda_1 x_1(t) + \lambda_2 x_2(t) + \cdots + \lambda_n x_n(t) = T, \forall t \in I$.

En este caso decimos que $L_\lambda(x(t)) = T$ es la ecuación de una ley de conservación y a la constante T la denominamos *cantidad total*. Una ley de conservación representa entonces una cantidad física que se preserva a lo largo del tiempo en el sistema.

En general, dado un sistema EDO $\dot{x} = f(x)$ en $\mathbb{R}^n$ se define el subespacio de leyes de conservación como:

$$\Lambda = \{\lambda \in \mathbb{R}^n : L_\lambda(x) \text{ es una ley de conservación del sistema } \dot{x} = f(x)\} \tag{1.15}$$

En el Ejemplo 1.4.2, el subespacio ortogonal a S, que lo notamos $S^\perp$, está generado por el vector $(3, 2, 1)$, entonces $(3, 2, 1) \cdot x = 0$, $\forall x \in S$. Luego podemos describir al subespacio estequiométrico en su forma dual:

$$S = \{x \in \mathbb{R}^3 : 3\,x_1 + 2\,x_2 + x_3 = 0\}. \tag{1.16}$$

Si llamamos $\lambda_0 = (3, 2, 1)$, la forma lineal $L_{\lambda_0}(x) = 3\,x_1 + 2\,x_2 + x_3$ se anula en S por (1.16) y a la vez, para cada $T = 3\,x_1(0) + 2\,x_2(0) + x_3(0) > 0$, $L_{\lambda_0}(x) = T$ define una ley de conservación para el sistema por lo visto en (1.14). Entonces, las leyes de conservación resultan ser *traslaciones* del subespacio estequiométrico de la red.

Es un resultado general que los vectores generadores de $S^\perp$ dan lugar a leyes de conservación para el sistema de ecuaciones diferenciales asociado a la red cuyo subespacio estequiométrico está dado por S, como lo demostraremos a continuación, y por lo tanto $S^\perp \subseteq \Lambda$.

Lema 1.4.4. *En un sistema de ecuaciones correspondiente a una red modelada bajo cinética de acción de masas con subespacio estequiométrico S, toda forma lineal $L_\lambda(x)$ con $\lambda \in S^\perp$ define una ley de conservación para el sistema.*

Demostración. Por la forma que tiene un sistema modelado bajo esta cinética, podemos ver en la ecuación (1.4) que para cualquier trayectoria $x : I \to \mathbb{R}^n$, el vector $\dot{x}(t)$ es una combinación lineal de vectores asociados a las reacciones, esto es,

$$\dot{x}(t) \in S = \langle y_j - y_i : y_i \to y_j \in \mathcal{R} \rangle, \forall t \in I.$$

Sea $\lambda \in S^\perp$, entonces $0 = \lambda \cdot \dot{x}(t) = \frac{d}{dt}(\lambda \cdot x(t)), \forall t \in I$. Luego el valor $\lambda \cdot x(t) = L_\lambda(x)$ es constante a lo largo del tiempo y, por lo tanto, define una ley de conservación. □

Por lo señalado anteriormente, si $\dot{x} = f(x)$ es el sistema de ecuaciones que modela una red de reacciones químicas bajo cinética de acción de masas, con S el subespacio estequiométrico de dimensión s, y $\{\lambda_1, \ldots, \lambda_{n-s}\}$ es una base de $S^\perp$, podemos describir a S como

$$S = \{x \in \mathbb{R}^n : L_{\lambda_1}(x) = \cdots = L_{\lambda_{n-s}}(x) = 0\}. \tag{1.17}$$

y el conjunto

$$\{L_{\lambda_i}(x) = T_i, \;\; i = 1, \ldots, n-s\}, \tag{1.18}$$

son leyes de conservación para el sistema con cantidades totales $T_i = L_{\lambda_i}(x(0)) \in \mathbb{R}_{>0}$, donde $x(0)$ denota la concentración inicial de las especies que actúan en la red.

Observación 1.4.5. Por el Lema 1.4.4 sabemos que cada vector de $S^\perp$ define una ley de conservación para el sistema, pero no necesariamente todas las leyes de conservación del sistema provienen de $S^\perp$.

Mostramos un pequeño ejemplo en el cual existen leyes de conservación del sistema que no provienen de $S^\perp$, adelantamos que esta situación está relacionada con que el subespacio cinético y el subespacio estequiométrico de la red no coinciden:

Ejemplo 1.4.6.

$$B \overset{\kappa_1}{\leftarrow} A \overset{\kappa_2}{\rightarrow} C$$

El sistema de ecuaciones asociado es:

$$\begin{cases} \dot{x}_A = -(\kappa_1 + \kappa_2)\, x_A, \\ \dot{x}_B = \kappa_1\, x_A, \\ \dot{x}_C = \kappa_2\, x_A. \end{cases}$$

El subespacio estequiométrico de la red y su complemento ortogonal son:

$$S = \langle(-1, 1, 0); (-1, 0, 1)\rangle,\ dim(S) = 2,\ S^\perp = \langle(1, 1, 1)\rangle.$$

Si llamamos $\lambda = (1, 1, 1)$, λ define una ley de conservación para el sistema ya que

$$\lambda \cdot \dot{x} = \dot{x}_A + \dot{x}_B + \dot{x}_C = 0$$

entonces, existe T tal que $x_A + x_B + x_C = T$. Pero no es la única: si miramos el sistema podemos comprobar que

$$(0, \kappa_2, -\kappa_1) \cdot \dot{x} = \kappa_2\, \dot{x}_B - \kappa_1\, \dot{x}_C = 0$$

y por lo tanto, el vector $\lambda' = (0, \kappa_2, -\kappa_1)$ también define una ley de conservación, $\lambda' \in \Lambda$. La diferencia es que λ' *depende* de los parámetros de las reacciones y no es un vector de $S^\perp$.

En este ejemplo el subespacio cinético asociado a la red es $S_\kappa = \langle(-\kappa_1 - \kappa_2, \kappa_1, \kappa_2)\rangle$, para cualquier vector de parámetros $\kappa = (\kappa_1, \kappa_2, \kappa_3) \in \mathbb{R}^3_{>0}$, $dim(S_\kappa) = 1 < dim(S)$, luego el subespacio cinético de la red está contenido propiamente en el subespacio estequiométrico asociado, lo notamos $S_\kappa \subsetneq S$.

En cambio, si agregáramos a la red una reacción adicional, haciendo que la reacción $A \to B$ sea reversible, la nueva red es:

$$B \underset{\kappa_3}{\overset{\kappa_1}{\leftrightarrows}} A \xrightarrow{\kappa_2} C$$

El sistema de ecuaciones diferenciales asociado en este caso es:

$$\begin{cases} \dot{x}_A = -(\kappa_1 + \kappa_2)\, x_A + \kappa_3\, x_B, \\ \dot{x}_B = \kappa_1\, x_A - \kappa_3\, x_B, \\ \dot{x}_C = \kappa_2\, x_A. \end{cases}$$

El subespacio estequiométrico de la red es el mismo que el de la red anterior:

$$S = \langle (-1, 1, 0); (-1, 0, 1) \rangle,\ dim(S) = 2,\ S^{\perp} = \langle (1, 1, 1) \rangle.$$

La diferencia es que el subespacio cinético ahora está generado por

$$S_\kappa = \langle (-\kappa_1 - \kappa_2, \kappa_1, \kappa_2); (\kappa_3, -\kappa_3, 0) \rangle$$

Y como para cualquier elección de parámetros $\kappa = (\kappa_1, \kappa_2, \kappa_3) \in \mathbb{R}^3_{>0}$ los vectores que generan S_κ son linealmente independientes, $dim(S_\kappa) = 2 = dim(S)$. Y, por lo tanto, el subespacio cinético y el subespacio estequiométrico de la red coinciden. En este caso, todas las leyes de conservación provienen de los vectores en $S^{\perp}$, es decir, la única ley de conservación está dada por la ecuación $x_A + x_B + x_C = T$.

En el trabajo de Feinberg y Horn [FH77] se analizan condiciones suficientes sobre características de la red para determinar que el subespacio cinético y el subespacio estequiométrico coincidan independientemente de la elección de los parámetros de las reacciones.

Como $S_\kappa \subseteq S$, pedir que $S_\kappa = S$ es equivalente a pedir que $dim(S_\kappa) = dim(S)$ para cualquier vector de parámetros κ, y en ese caso, todas las leyes de conservación provienen de $S^{\perp}$ y se verifica entonces $\Lambda = S^{\perp}$.

Observamos que las leyes de conservación definidas a partir de $S^{\perp}$ no dependen de los parámetros de las reacciones, sólo dependen de la estructura de la red, por eso es común hablar de las leyes de conservación *de la red*.

Más adelante en este capítulo probaremos que si existe $\lambda \in \Lambda \cap \mathbb{R}^n_{>0}$, entonces las trayectorias $x(t)$ que define el sistema $\dot{x} = f(x)$ son acotadas y, por lo tanto, estarán definidas $\forall t > 0$. En ese caso decimos que el sistema es *conservativo*.

Como dijimos al comienzo de esta sección, las leyes de conservación definen variedades lineales invariantes para las trayectorias. Y vimos que estas variedades corresponden a traslaciones paralelas del subespacio estequiométrico S.

Para cada dato inicial $x(0) \in \mathbb{R}^n$, $x(0) + S$ es el *subespacio afín* de S que pasa por el punto $x(0)$. Cuando miramos la intersección de las traslaciones de S con el ortante positivo, esto define las llamadas *clases de compatibilidad estequiométrica* o, de manera reducida, S-clases, las definimos a continuación con mayor precisión.

1.4.1. Clases de compatibilidad estequiométrica (S-Clases)

Bajo la hipótesis de cinética de acción de masas, la trayectoria del sistema dinámico con dato inicial $x(0)$ queda restringida a la traslación del subespacio estequiométrico que pasa por ese punto: $x(0) + S$.

Definición 1.4.7. Sea S el subespacio estequiométrico de una red de reacciones químicas y $x^0 \in \mathbb{R}^n_{\geq 0}$. La **clase de compatibilidad estequiométrica** de x^0 es el subconjunto de $\mathbb{R}^n_{\geq 0}$ dado por:

$$\mathcal{P}_{x^0} := (x^0 + S) \cap \mathbb{R}^n_{\geq 0} = \left\{ x \in \mathbb{R}^n_{\geq 0} : x - x^0 \in S \right\} \tag{1.19}$$

Para simplificar, denominamos a $\mathcal{P}_{x^0}$ la **S-Clase** de x^0.

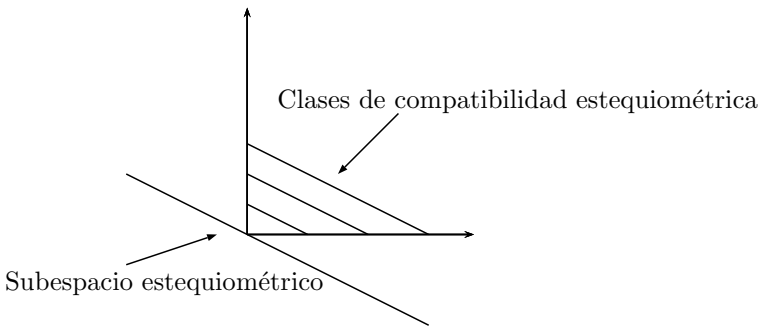
Sean x, z vectores de $\mathbb{R}^n$,

$$x, z \in x(0) + S \iff x - z \in S \iff (x - z) \cdot \lambda = 0,\ \forall \lambda \in S^\perp \tag{1.20}$$

$$\iff x \cdot \lambda = z \cdot \lambda,\ \forall \lambda \in S^\perp \iff L_\lambda(x) = L_\lambda(z),\ \forall \lambda \in S^\perp.$$

Dos vectores pertenecen a la misma clase de compatibilidad estequiométrica si y sólo si definen la misma ley de conservación para el sistema.

La siguiente figura muestra el subespacio estequiométrico de una red representado por la recta que pasa por el origen, junto a algunas S-clases que son traslaciones del subespacio estequiométrico intersecadas con el ortante positivo.



Toda S-Clase es un subconjunto cerrado: está determinado por la intersección entre una variedad lineal y el ortante no negativo, luego está definido por igualdades lineales y desigualdades no estrictas.

Por lo visto en (1.20) y teniendo en cuenta que las S-Clases están definidas en el ortante positivo, sabemos que toda S-Clase es un conjunto invariante hacia adelante y que no depende de la elección de los parámetros de las reacciones. Por lo tanto, las trayectorias que define el sistema asociado a la red quedan restringidas a una de estas clases (dependiendo del valor inicial x^0).

Ejemplo 1.4.8 (Continuación del Ejemplo 1.1.3)**.** La S-clase de x^0 está definida por:

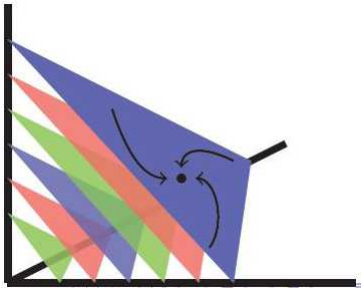
$$\mathcal{P}_{x^0} := (x^0 + \langle (-1, 1, 1); (1, -2, 1) \rangle) \cap \mathbb{R}^3_{\geq 0}$$

y también puede ser descripta por lo visto en (1.14):

$$\left\{x \in \mathbb{R}^3_{\geq 0} : 3\,x_1 + 2\,x_2 + x_3 = T\right\}, \text{ donde } T = \langle\,(3,2,1),\ x^0\,\rangle\ \in \mathbb{R}_{>0}$$

A partir de esta descripción podemos observar que, para cada valor de T, la S-Clase no sólo es un conjunto cerrado, también es acotado ya que $x_1, x_2, x_3 \leq T$. Luego, las S-Clases son conjuntos compactos. Esto ocurrirá cada vez que exista en $S^\perp$ un vector con todas las coordenadas positivas, como lo demostraremos en la Proposición 1.4.9.

En este ejemplo cada S-Clase representa un plano (subespacio de dimensión 2 en el espacio vectorial $\mathbb{R}^3$) que corta al ortante positivo como se muestra en la siguiente figura.



La siguiente Proposición es consecuencia de la Proposición 1.3.9 presente en el trabajo de Dickenstein y Feliu [DF21] en el que se muestra un resultado más general.

Proposición 1.4.9. *Sea $\dot{x} = f(x)$ el sistema de ecuaciones asociado a una red modelada bajo la hipótesis de cinética de acción de masas, $x \in \mathbb{R}^n$. Sea $S \subseteq \mathbb{R}^n$ el subespacio estequiométrico de la red. Son equivalentes:*

(i) Existe un vector $\lambda \in S^\perp \cap \mathbb{R}^n_{>0}$.

(ii) Existe una base de $S^\perp$ con todos sus vectores positivos.

(iii) $(x^0 + S) \cap \mathbb{R}^n_{\geq 0}$ es acotado (y, por lo tanto, compacto) $\forall x^0 \in \mathbb{R}^n_{\geq 0}$.

Demostración. La equivalencia $(i) \Leftrightarrow (ii)$ es inmediata si notamos que, dada una base de $S^\perp$, si existe un vector positivo en el subespacio, basta sumar este vector al resto de los vectores de la base tantas veces como sea necesario para lograr que todos los vectores de la base sean positivos.

$(i) \Rightarrow (iii)$ Sea $\lambda \in S^\perp$ un vector positivo, y $x^0 \in \mathbb{R}^n_{\geq 0}$, entonces $T = \lambda \cdot x^0 \geq 0$.

Sea $z \in (x^0 + S) \cap \mathbb{R}^n_{\geq 0}$ por lo visto en (1.20) vale que $\lambda \cdot z = \lambda_1\, z_1 + \lambda_2\, z_2 + \cdots + \lambda_n\, z_n = T$, entonces para cada índice $1 \leq j \leq n$

$$0 \leq z_j \leq \frac{T}{\lambda_j}.$$

La implicación $(iii) \Rightarrow (i)$ es un resultado general de espacios vectoriales, la idea de la demostración es la siguiente: primero veamos que dado un subespacio vectorial $L \subset \mathbb{R}^n$, si existe $x^0 \in \mathbb{R}^n_{>0}$ tal que $(x^0 + L) \cap \mathbb{R}^n_{\geq 0}$ es acotado, entonces $L \cap \mathbb{R}^n_{\geq 0} = \{0\}$. De lo contrario,

sea $v \in L \cap \mathbb{R}^n_{\geq 0}$ un vector no nulo. Para cualquier $\mu \in \mathbb{R}_{\geq 0}$ el vector $x^0 + \mu\, v \in (x^0 + L) \cap \mathbb{R}^n_{>0}$ y si $v_j > 0$,

$$\lim_{\mu \to +\infty} x^0_j + \mu\, v_j = +\infty$$

lo que nos lleva a una contradicción. Luego, el resultado que completa la prueba es el Corolario 3′ en [BI64] que muestra que

$$L \cap \mathbb{R}^n_{\geq 0} = \{0\} \Leftrightarrow L^\perp \cap \mathbb{R}^n_{>0} \neq \emptyset$$

□

Entonces, cada vez que exista un vector en $S^\perp$ con todas sus coordenadas positivas, las S-Clases serán compactas. Por lo tanto, la trayectoria con dato inicial x^0 que queda restringida a la S-Clase de x^0 estará acotada, lo que garantiza que estará definida para todo tiempo $t > 0$.

Por lo visto en esta sección, cada S-Clase puede describirse usando las leyes de conservación determinadas por una base de $S^\perp$, $\{\lambda_1, \lambda_2, \ldots, \lambda_{n-s}\}$, de la siguiente manera:

$$\mathcal{P}_{x^0} = \left\{ x \in \mathbb{R}^n_{\geq 0} : L_{\lambda_i}(x) = L_{\lambda_i}(x^0), \;\; i = 1, \ldots, n-s \right\}.$$

Si notamos $W \in \mathbb{R}^{(n-s)\times n}$ a la matriz cuyas filas son los vectores de la base de $S^\perp$,

$$W = \begin{pmatrix} \lambda_1 \\ \lambda_2 \\ \cdots \\ \lambda_{n-s} \end{pmatrix} \text{ y } T = Wx^0 \in \mathbb{R}^{n-s}$$

podemos escribir de forma compacta

$$\mathcal{P}_{x^0} = \left\{ x \in \mathbb{R}^n_{\geq 0} : Wx = T \right\} \tag{1.21}$$

Luego, las S-Clases pueden ser descriptas de forma dual definiendo un vector de cantidades totales $T = (T_1, \ldots, T_{n-s}) \in W\left(\mathbb{R}^n_{\geq 0}\right)$, que denota la imagen por W de los vectores en el ortante no negativo. Entonces, en vez de parametrizar cada clase con un vector $x^0 \in \mathbb{R}^n_{\geq 0}$, podemos hacerlo con un vector $T \in \mathbb{R}^{n-s}$ que vive en el ortante positivo y en la imagen de W. El beneficio de usar la forma dual es que, una vez fijado W, el vector T identifica de forma única la S-Clase. En cambio, si usamos el vector x^0, cualquier otro vector $z \in \mathcal{P}_{x^0}$ define la misma clase, como vimos en (1.20).

1.5. Estados estacionarios y el concepto de multiestacionariedad.

1.5.1. Variedad de estados estacionarios

Definición 1.5.1. Sea $\dot{x} = f(x)$ un sistema EDO asociado a una red de reacciones químicas modelada bajo cinética de acción de masas definida en $\mathbb{R}^n_{\geq 0}$. La **variedad** de estados

estacionarios $V_\kappa(f)$ del sistema es el conjunto de ceros reales no negativos comunes de las funciones $f_1, \ldots, f_n$ que quedan determinadas cuando el vector de parámetros κ está fijo.

$$V_\kappa(f) = \left\{ x \in \mathbb{R}^n_{\geq 0} : f_1(x) = \cdots = f_n(x) = 0 \right\} \tag{1.22}$$

Un elemento del conjunto $V_\kappa(f)$ se llama un **estado estacionario** del sistema.
Los *estados estacionarios positivos* son aquellos elementos del conjunto $V_\kappa(f)$ que pertenecen al ortante positivo $\mathbb{R}^n_{>0}$, es decir, aquellos que tienen todas sus componentes mayores a cero. Notamos $V_{\kappa(>0)}(f) = V_\kappa(f) \cap \mathbb{R}^n_{>0}$ al conjunto de elementos positivos de $V_\kappa(f)$.

Si miramos la forma matricial del sistema $\dot{x} = N\,R(x)$, como la definimos en (1.13), podemos deducir que si el sistema admite un estado estacionario positivo x^*, el vector correspondiente $R(x^*) \in \mathbb{R}^{r\times 1}$ tiene todas sus componentes positivas. Luego, una condición necesaria para la existencia de estados estacionarios positivos del sistema es que exista un vector positivo en el núcleo de la matriz estequiométrica N:

$$x^* \in V_{\kappa(>0)}(f) \Longleftrightarrow NR(x^*) = 0, x^* \in \mathbb{R}^n_{>0}, \tag{1.23}$$

en este caso $R(x^*) \in ker(N) \cap \mathbb{R}^r_{>0}$ y entonces podemos afirmar que $ker(N) \cap \mathbb{R}^r_{>0} \neq \emptyset$. Cuando el sistema admite al menos una solución positiva, decimos que el sistema es *consistente*.

En general, como la dinámica de un sistema modelado bajo cinética de acción de masas está restringida a las S-clases, nos interesa estudiar el comportamiento en cada clase. En particular, estudiamos los estados estacionarios del sistema en cada S-clase. Para esto consideramos el conjunto

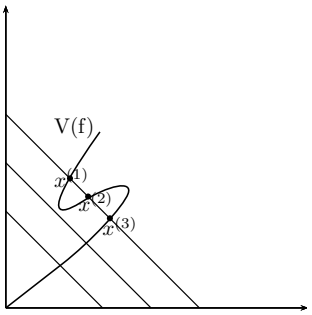
$$V_\kappa(f) \cap \mathcal{P}_{x^0}, x^0 \in \mathbb{R}^n_{\geq 0} \tag{1.24}$$

y queremos determinar cuántos puntos hay en la intersección de la variedad de estados estacionarios y las clases de estequiometría. Un resultado importante que se deduce del teorema de punto fijo de Brouwer es que cuando un sistema es conservativo, existe al menos un estado estacionario en cada clase de compatibilidad estequiométrica. En este trabajo nos interesa estudiar bajo qué condiciones existe alguna clase con más de un estado estacionario, es decir, cuándo la intersección (1.24) tiene dos o más puntos.

Recordemos que las clases de compatibilidad estequiométrica pueden ser definidas de manera única con el vector de cantidades totales T. Usando la forma compacta de escritura como en (1.21), dado $\kappa \in \mathbb{R}^r_{>0}$ (el vector de parámetros de las reacciones fijo) y dado $T \in \mathbb{R}^{n-s}$, un punto x^* es un *estado estacionario positivo* del sistema en la S-clase definida por T si y sólo si $f(x^*) = 0$ y $Wx^* = T$.

Definición 1.5.2. Decimos que un sistema modelado bajo cinética de acción de masas $\dot{x} = f(x)$ con vector de constantes de las reacciones κ fijo es **multiestacionario** si la variedad de estados estacionarios positivos corta alguna S-clase en más de un punto. En el caso de que exista un único estado estacionario en cada clase decimos que el sistema es **monoestacionario**.
Diremos que una red de reacciones químicas es *multiestacionaria* o *tiene la capacidad de multiestacionariedad* si existe alguna elección de parámetros κ tal que el sistema $\dot{x} = f(x)$ es multiestacionario.

En la siguiente figura se muestra la intersección de una variedad de estados estacionarios (para describirla el vector de parámetros κ debe estar fijo) con tres clases de estequiometría distintas. Podemos observar que hay una de las clases que tiene tres puntos en la intersección con la variedad. Es decir, existe cierto vector de cantidades totales T que define esa S-clase para el cual la red resulta multiestacionaria.



Ejemplo 1.5.3. Un pequeño ejemplo para entender el concepto de multiestacionariedad.

Dada la red con parámetros fijos iguales a 1:

$$\begin{aligned} 2A + B &\xrightarrow{1} 3A \\ A &\xrightarrow{1} B \end{aligned}$$

El sistema EDO asociado cuando modelamos bajo la hipótesis de acción de masas está dado por:

$$\left\{ \begin{array}{rcl} \dot{x}_A &=& {x_A}^2\, x_B - x_A \\ \dot{x}_B &=& -{x_A}^2\, x_B + x_A \end{array} \right.$$

O escrito en forma matricial:

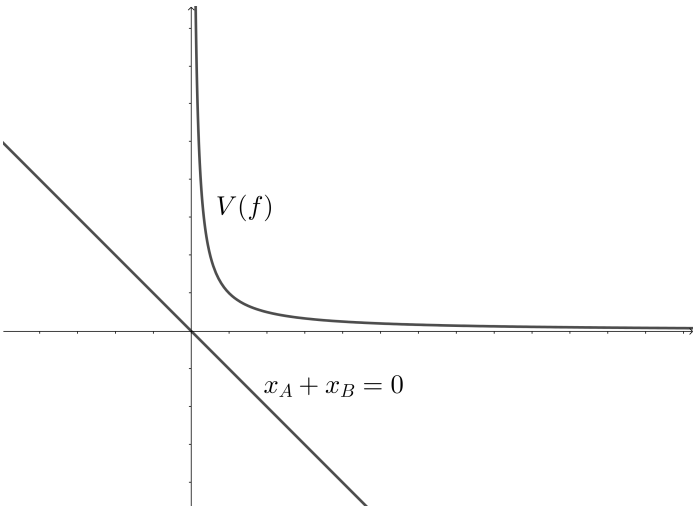
$$\begin{pmatrix} \dot{x}_A \\ \dot{x}_B \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & -1 \\ -1 & 1 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} {x_A}^2\, x_B \\ x_A \end{pmatrix}$$

Las ecuaciones son linealmente dependientes, $\dot{x}_B = -\dot{x}_A$. El subespacio estequiométrico es $S = \langle (1,-1) \rangle$ y $S^\perp = \langle (1,1) \rangle$. Como hay un vector con todas sus componentes positivas en $S^\perp$, el sistema es conservativo y estará definido $\forall t > 0$. Existe una ley de conservación que proviene de $S^\perp$ y es $x_A + x_B = T$ con $T > 0$ que representa la concentración total de las especies A y B. Para encontrar los estados estacionarios positivos de la red que verifican la ley de conservación debemos resolver el sistema:

$$\left\{ \begin{array}{rcl} \dot{x}_A &=& 0 \\ x_A + x_B &=& T \end{array} \right.$$

$${x_A}^2\, x_B - x_A = 0 \Leftrightarrow x_A.(x_A\, x_B - 1) = 0 \Leftrightarrow x_A = 0 \text{ o } x_A\, x_B = 1$$

Pero $x_A \neq 0$ porque representa la concentración de la especie A en la red y asumimos que es positiva. Entonces $x_A\, x_B = 1$ define la variedad de estados estacionarios positivos. En el siguiente esquema se muestra la variedad de estados estacionarios positivos junto al subespacio estequiométrico $S = \{(x_A, x_B) \in \mathbb{R}^2 / x_A + x_B = 0\}$:



Ahora agregamos la restricción que impone la ley de conservación, con un valor de T genérico:

$$x_A + x_B = T \Leftrightarrow x_B = T - x_A$$

Reemplazamos en la variedad esta dependencia entre las variables:

$$x_A.(T - x_A) = 1 \Leftrightarrow -x_A^2 + Tx_A - 1 = 0$$

Analicemos cuántas soluciones tiene el sistema dependiendo del valor de $T > 0$ y cuáles son esas soluciones:

$$x_A, x_B = \frac{T \pm \sqrt{T^2 - 4}}{2}$$

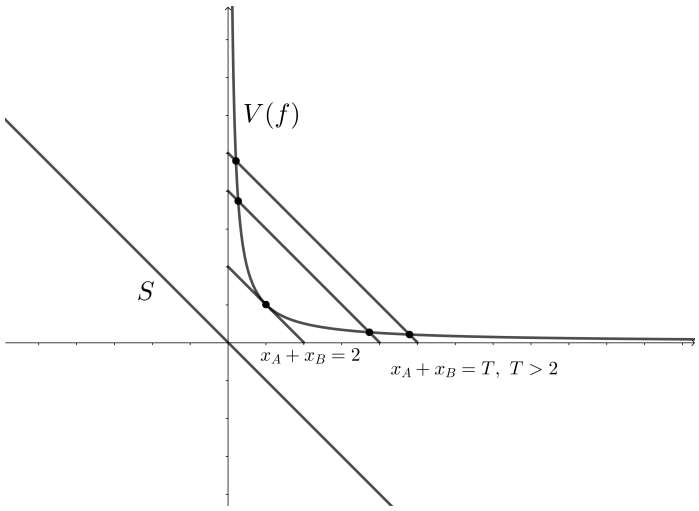
- Si $T^2 - 4 = 0 \Leftrightarrow T = 2$ el sistema tiene una única solución positiva $x_A = 1; x_B = 1$. Es decir, hay un único estado estacionario positivo en la clase definida por $x_A + x_B = 2$.

- Si $T^2 - 4 < 0 \Leftrightarrow 0 < T < 2$ el sistema no tiene soluciones reales, es decir, no hay estados estacionarios positivos en las clases definidas por $x_A + x_B = T$ con $T < 2$.

- $T^2 - 4 > 0 \Leftrightarrow T > 2$ el sistema tiene dos soluciones reales distintas, es decir, en cada clase de compatibilidad estequiométrica definida por $x_A + x_B = T$ con $T > 2$ podemos encontrar dos estados estacionarios positivos distintos, a saber,

$$x^1 = \left(\frac{T + \sqrt{T^2 - 4}}{2}, \frac{T - \sqrt{T^2 - 4}}{2}\right) \text{ y } x^2 = \left(\frac{T - \sqrt{T^2 - 4}}{2}, \frac{T + \sqrt{T^2 - 4}}{2}\right)$$

Aquí se muestra un esquema de la variedad de estados estacionarios positivos, el subespacio estequiométrico S y distintas clases de compatibilidad estequiométrica. En la intersección entre la variedad y las S-clases encontramos los estados estacionarios positivos de la red.



Concluimos entonces que para valores de $T > 2$ la red resulta multiestacionaria, para $T = 2$ la red resulta monoestacionaria y para valores de $T < 2$ no se alcanzarán estados estacionarios positivos.

Mencionamos antes que cuando el sistema es conservativo existe al menos un estado estacionario en cada clase de compatibilidad estequiométrica. Es importante destacar que esto sucede cuando consideramos que alguna de las concentraciones puede ser nula, es decir, que este punto puede estar en el borde del ortante. Al comienzo de este ejemplo descartamos el caso $x_A = 0$ para concentrarnos en los estados estacionarios *positivos*. Si consideramos los estados estacionarios *mayores o iguales* a cero, a la variedad de estados estacionarios que muestra la figura hay que agregarle la variedad descripta por $x_A = 0$, que corta a cada clase en el punto $(0, T)$.

Una pregunta más general que nos hacemos es: si los parámetros de las reacciones no estuvieran fijos en la red,

$$\begin{aligned} 2A + B &\xrightarrow{\kappa_1} 3A \\ A &\xrightarrow{\kappa_2} B \end{aligned}$$

¿cuál es el conjunto de parámetros (κ_1, κ_2, T) para los cuales la red resulta multiestacionaria? Es decir, para qué valores de (κ_1, κ_2, T) podemos encontrar dos o más puntos en la intersección de la variedad de estados estacionarios y las clases de compatibilidad estequiométrica.

1.6. Sistemas lineales

Consideramos ahora el caso particular en el que cada complejo de la red consiste en una única especie. En este caso $\mathcal{X} = \{X_1, \ldots, X_n\} = \mathcal{Y}$ y la matriz que contiene en sus columnas a los complejos $Y \in \mathbb{N}_0^{n \times n}$ es la matriz identidad. Decimos que la red y el digrafo asociado $G = \{\mathcal{X}, \mathcal{Y}, \mathcal{R}\}$ son lineales porque el sistema asociado, cuando modelamos bajo la hipótesis de cinética de acción de masas, es lineal.

Notaremos κ_{ij} a la etiqueta de la reacción $X_i \to X_j$.

Definición 1.6.1. Sea G una red lineal en n especies $\{X_1, \ldots, X_n\}$, con etiquetas κ_{ij} positivas en las reacciones, la **matriz Laplaciana** asociada $A_\kappa(G) \in \mathbb{R}^{n\times n}$ está definida por:

$$(A_\kappa(G))_{ij} = \begin{cases} \kappa_{ij} & \text{si } X_i \to X_j \in \mathcal{R} \\ 0 & \text{si } X_i \to X_j \notin \mathcal{R}, i \neq j \\ -\sum\limits_{X_i \to X_\ell \in \mathcal{R}} \kappa_{i\ell} & \text{si } i = j \end{cases} \tag{1.25}$$

Es decir, la matriz tiene en la ij-ésima entrada que está fuera de la diagonal ($i \neq j$) la etiqueta de la reacción que tiene a X_i en la fuente y a X_j en el producto si existe esa reacción en $\mathcal{R}$, si no existe tiene un cero. Y en las entradas de la diagonal ii contiene el opuesto de la suma de todas las etiquetas en las cuales X_i es la fuente. Por definición, las entradas de cada columna suman cero, entonces si sumamos todas las filas de la matriz obtendremos el vector nulo, lo que implica que las filas de A_κ son linealmente dependientes y, por lo tanto, $det(A_\kappa(G)) = 0$ y el rango de $A_\kappa(G)$ es siempre menor que n.

Ejemplo 1.6.2. Dado el digrafo lineal

$$G: \quad \begin{array}{ccc} X_1 & \xrightarrow{\kappa_{12}} & X_2 \\ {\scriptstyle \kappa_{41}}\uparrow & \swarrow{\scriptstyle \kappa_{24}} \quad \searrow{\scriptstyle \kappa_{42}} & \downarrow{\scriptstyle \kappa_{23}} \\ X_4 & \xleftarrow[\kappa_{34}]{} & X_3 \end{array} \tag{1.26}$$

La matriz Laplaciana asociada es

$$A_\kappa(G) = \begin{pmatrix} -\kappa_{12} & 0 & 0 & \kappa_{41} \\ \kappa_{12} & -\kappa_{23} - \kappa_{24} & 0 & \kappa_{42} \\ 0 & \kappa_{23} & -\kappa_{34} & 0 \\ 0 & \kappa_{24} & \kappa_{34} & -\kappa_{41} - \kappa_{42} \end{pmatrix}$$

Una observación importante es que en los sistemas lineales, la matriz Laplaciana coincide con la matriz Σ_κ definida en (1.8), entonces el sistema de ecuaciones diferenciales asociado puede escribirse como:

$$\dot{x} = \Sigma_\kappa \, x^Y = A_\kappa \, x^t \tag{1.27}$$

Y, por lo tanto, el subespacio cinético de la red S_κ coincide con el subespacio columna de la matriz Laplaciana, $S_\kappa = Img(A_\kappa)$.

1.6.1. Algunas definiciones de Teoría de grafos

Introducimos algunas definiciones que necesitaremos para poder enunciar el Teorema 1.6.7 y otros resultados más adelante.

Definición 1.6.3. Dado un grafo dirigido, o digrafo, $G = (\mathcal{V}, \mathcal{E})$, donde $\mathcal{V}$ es el conjunto de vértices o nodos y $\mathcal{E}$ es el conjunto de ejes o flechas del grafo, se define la siguiente relación de equivalencia en el conjunto $\mathcal{V}$: dos nodos $i, j \in \mathcal{V}$ están relacionados si y sólo si existe un camino dirigido de i a j y un camino dirigido de j a i. Las clases de

equivalencia de los nodos definen las componentes *fuertemente conexas* del grafo G. Un grafo se dice **fuertemente conexo** si para todo par ordenado de nodos (i, j) existe un camino dirigido de i a j.

El **grafo subyacente** de un grafo dirigido es el grafo que conserva los ejes pero no conserva las direcciones de las flechas. El grafo subyacente de un grafo fuertemente conexo es conexo.

Se llama una **componente terminal fuertemente conexa** a una componente fuertemente conexa de la cual no salen flechas que la conectan con un nodo perteneciente a otra componente conexa del grafo.

Un grafo dirigido se dice que es **débilmente reversible** si cada componente conexa del grafo es una componente terminal fuertemente conexa. Es decir, si dos nodos pertenecen a la misma componente conexa, existe un camino dirigido de uno a otro en ambos sentidos. Pero podría pasar que dos nodos del grafo no estén conectados: si pertenecen a componentes conexas distintas. Un grafo conexo y débilmente reversible es fuertemente conexo.

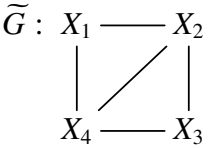
Definición 1.6.4. Un ***spanning tree*** o **árbol generador** de un grafo dirigido es un subgrafo que contiene a todos los vértices, es conexo y su grafo subyacente no tiene ciclos.

Un **i -tree** de un grafo dirigido es un árbol generador en el cual el i-ésimo vértice es el único vértice del árbol del cual no salen flechas.

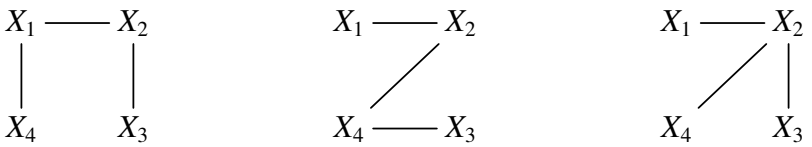
Definición 1.6.5. Sea G un grafo dirigido fuertemente conexo, con etiquetas κ_{ij} en los ejes de las reacciones $X_i \to X_j$. Para cada spanning tree $\mathcal{T} = (\mathcal{V}(\mathcal{T}), \mathcal{E}(\mathcal{T}))$ de G, notamos $\kappa^{\mathcal{T}}$ al producto de las etiquetas presentes en $\mathcal{E}(\mathcal{T})$. Para cada nodo i de G definimos los siguientes polinomios en κ_{ij}:

$$\rho_i^G := \sum_{\mathcal{T} \text{ un } i\text{−tree}} \kappa^{\mathcal{T}}$$

Ejemplo 1.6.6 (Continuación del Ejemplo 1.6.2)**.** Dado el digrafo (1.26), el grafo subyacente de G es:



Tres spanning trees distintos son, por ejemplo:



Los X_4-trees de esta red son:

Los monomios que resultan de los productos de las etiquetas presentes en los X_4-trees son:

$$\kappa^{\mathcal{T}_1^4} = \kappa_{12}\,\kappa_{24}\,\kappa_{34}, \quad \kappa^{\mathcal{T}_2^4} = \kappa_{12}\,\kappa_{23}\,\kappa_{34}$$

Y la suma de los monomios definen el polinomio:

$$\rho_{X_4}^G = \kappa_{12}\,\kappa_{24}\,\kappa_{34} + \kappa_{12}\,\kappa_{23}\,\kappa_{34}$$

1.6.2. Un resultado de monoestacionariedad

Ahora sí estamos en condiciones de enunciar el Teorema 1.6.7 conocido como el *Matrix-tree theorem* que está presente en [DF21].

Teorema 1.6.7. *Sea G un digrafo fuertemente conexo con n nodos numerados $\{1, 2, \ldots, n\}$, con etiquetas positivas κ_{ij} en los ejes $i \xrightarrow{\kappa_{ij}} j$ y sea A_κ la matriz Laplaciana asociada.*

Para cada nodo i, el determinante de la submatriz de A_κ que se obtiene eliminando la i-ésima columna y la j-ésima fila es igual a

$$(-1)^{i+j+n-1}\,\rho_j^G$$

Además, rango$(A_\kappa) = n - 1$ y el núcleo de la matriz está generado por el vector

$$\rho^G := \left(\rho_1^G, \ldots, \rho_n^G\right)$$

El grafo G del Ejemplo 1.6.2 es fuertemente conexo ya que existe un camino dirigido entre cualquier par de nodos. En el Ejemplo 1.6.6 mostramos los X_4-trees de G, los monomios que quedan determinados por el producto de las etiquetas de los ejes que participan en cada X_4-tree y el polinomio $\rho_{X_4}^G$. Completamos ahora esa información calculando los polinomios asociados al resto de los X_i-trees, $i = 1, 2, 3$ (al ser un grafo fuertemente conexo, para cada nodo existe al menos uno de ellos):

$$\rho_{X_1}^G = \kappa_{41}\,\kappa_{24}\,\kappa_{34} + \kappa_{41}\,\kappa_{34}\,\kappa_{23}, \quad \rho_{X_2}^G = \kappa_{12}\,\kappa_{42}\,\kappa_{34} + \kappa_{12}\,\kappa_{34}\,\kappa_{41}, \quad \rho_{X_3}^G = \kappa_{41}\,\kappa_{12}\,\kappa_{23} + \kappa_{12}\,\kappa_{42}\,\kappa_{23}$$

Y por lo tanto, un vector generador del núcleo de $A_\kappa(G)$ según el Teorema 1.6.7 es

$$\rho^G = \left(\rho_{X_1}^G, \rho_{X_2}^G, \rho_{X_3}^G, \rho_{X_4}^G\right)$$

$$(\rho^G)^t = \begin{pmatrix} \kappa_{41}\,\kappa_{24}\,\kappa_{34} + \kappa_{41}\,\kappa_{34}\,\kappa_{23} \\ \kappa_{12}\,\kappa_{42}\,\kappa_{34} + \kappa_{12}\,\kappa_{34}\,\kappa_{41} \\ \kappa_{41}\,\kappa_{12}\,\kappa_{23} + \kappa_{12}\,\kappa_{42}\,\kappa_{23} \\ \kappa_{12}\,\kappa_{24}\,\kappa_{34} + \kappa_{12}\,\kappa_{23}\,\kappa_{34} \end{pmatrix}$$

Como cada κ_{ij} toma valores positivos, estos polinomios, para cada valor de los parámetros, también serán positivos. Y por lo tanto, el teorema nos muestra que hay un vector positivo en el núcleo de la matriz Laplaciana y cómo construirlo.

Si observamos el sistema lineal asociado $\dot{x} = A_\kappa\, x^t$, el hecho de que el núcleo de A_κ contenga un vector positivo implica que ese vector es un estado estacionario positivo de la red ya que si notamos $\dot{x} = f(x) \Rightarrow f\left(\rho^G\right) = A_\kappa\left(\rho^G\right)^t = 0$.

Si el grafo G no es fuertemente conexo, pero sí débilmente reversible, quiere decir que tiene más de una componente fuertemente conexa, en este caso la matriz Laplaciana asociada tendrá forma de bloques. Sean $G_1, \dots, G_\ell$ las componentes fuertementes conexas de G, la matriz A_κ resulta:

$$A_\kappa(G) = \begin{pmatrix} A_\kappa(G_1) & 0 & 0 & 0 \\ 0 & A_\kappa(G_2) & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \ddots & 0 \\ 0 & 0 & 0 & A_\kappa(G_\ell) \end{pmatrix}$$

Y el núcleo de la matriz Laplaciana asociada al grafo G es la suma directa de los núcleos de la matriz Laplaciana asociada a cada componente fuertemente conexa:

$$ker(A_\kappa(G)) = ker(A_\kappa(G_1)) \oplus ker(A_\kappa(G_2)) \oplus \cdots \oplus ker(A_\kappa(G_\ell))$$

Veremos a continuación que si el digrafo lineal G asociado a una red de reacciones químicas es débilmente reversible, entonces la red resulta monoestacionaria. Para esto primero definimos los *vectores indicadores de las componentes conexas* de un grafo y probaremos que la cantidad de componentes terminales fuertemente conexas de un grafo coincide con la dimensión de $S^\perp$ (y por lo tanto, coincide con la cantidad de leyes de conservación linealmente independientes que provienen de $S^\perp$). Recordamos que si el grafo es débilmente reversible, cada componente conexa es una componente terminal fuertemente conexa. Notamos e_j al j-ésimo vector canónico de $\mathbb{R}^n$.

Definición 1.6.8. Sean $G_1, \dots, G_\ell$ las componentes conexas de G, definimos los **vectores indicadores** de las componentes conexas $w^i \in \{0,1\}^n$ como:

$$w^i_j = 1 \iff X_j \text{ es un nodo de } G_i$$

Luego $w^i = \sum_{X_j \in G_i} e_j$ y, si el grafo es débilmente reversible, en cada componente conexa se verifica la relación lineal $\sum_{X_j \in G_i} \dot{x}_j = w^i \cdot \dot{x} = 0, \ \forall i = 1, \dots, \ell$.

Lema 1.6.9. *Sea G un digrafo lineal débilmente reversible con n nodos y ℓ componentes conexas, y sea S el subespacio estequiométrico de la red. Entonces $dim(S) = n - \ell$ y los vectores indicadores de las componentes conexas $w^i, i = 1, \dots, \ell$ forman una base de $S^\perp$.*

Demostración. Primero analicemos el caso $\ell = 1$: en este caso, el grafo $G = (\mathcal{V}(G), \mathcal{E}(G))$ es fuertemente conexo y por lo tanto existe un camino dirigido entre cualquier par de nodos $\mathcal{V}(G) = \{1, 2, \dots, n\}$. El subespacio estequiométrico S contiene (y está generado por) los vectores $e_j - e_i$ para cada eje $i \to j \in \mathcal{E}(G)$. Más aún, si hay un eje del nodo i al j y otro del nodo j al k, los vectores $e_j - e_i$ y $e_k - e_j$ pertenecen a S y además $e_k - e_i = (e_j - e_i) + (e_k - e_j) \in S$. Recursivamente podemos ver que S está generado por *todos* los vectores $e_j - e_i$ con $i, j = 1, \dots, n, (i \neq j)$, luego $dim(S) = n - 1$.

Por otro lado, el vector indicador de la única componente conexa $w^1 = (1, \dots, 1) \in \mathbb{R}^n$ es ortogonal a todos los vectores de S porque $\langle w^1, e_j - e_i \rangle = 1 - 1 = 0$, entonces $w^1 \in S^\perp$. Recíprocamente, cualquier vector $w \in S^\perp$ debe verificar $\langle w, e_j - e_i \rangle = 0$ para todos los

índices i, j, entonces todas sus componentes deben ser iguales y resulta ser un múltiplo de w^1. Aquí probamos que $dim(S) = n - 1$ y $S^\perp = \langle w^1 \rangle$.

Seguimos con el caso $\ell = 2$, y de manera análoga se demuestra el caso general.

Si $\ell = 2$, G tiene dos componentes fuertemente conexas, G_1, G_2. Supongamos que etiquetamos los nodos del grafo de forma tal que todos los índices de los nodos en G_1 son menores que cualquier nodo presente en G_2. Entonces

$$\mathcal{V}(G_1) = \{1, 2, \ldots, \#\mathcal{V}(G_1)\} \text{ y } \mathcal{V}(G_2) = \{\#\mathcal{V}(G_1) + 1, \ldots, n\}$$

y los vectores indicadores (que tienen soporte disjunto) son de la forma

$$w^1 = (1, \ldots, 1, 0, \ldots, 0) \text{ con } \#\mathcal{V}(G_1) \text{ componentes no nulas y}$$

$$w^2 = (0, \ldots, 0, 1, \ldots, 1) \text{ con } \#\mathcal{V}(G_2) \text{ componentes no nulas.}$$

Podemos hacer un razonamiento análogo al caso $\ell = 1$ en cada componente conexa: existe un camino dirigido entre cualquier par de nodos que pertenecen a la misma componente, entonces $S = \langle e_j - e_i; e_k - e_t \rangle$, $\{i, j\} \neq \{k, t\}$ para todo i, j índices de nodos en G_1 y para todo k, t índices de nodos en G_2. Luego, $dim(S) = \#\mathcal{V}(G_1) - 1 + \#\mathcal{V}(G_2) - 1 = n - 2$ y cualquier vector $w \in S^\perp$ debe verificar:

$$\langle w,\ e_j - e_i \rangle = 0, \forall i, j \text{ índices de nodos en } G_1 \Rightarrow w = (1, \ldots, 1, *, \ldots, *), \text{ y}$$

$$\langle w,\ e_k - e_t \rangle = 0, \forall k, t \text{ índices de nodos en } G_2 \Rightarrow w = (*, \ldots, *, 1, \ldots, 1)$$

donde $*$ representa cualquier número real. Como debe verificar las dos condiciones a la vez, podemos afirmar que w debe ser una combinación lineal de los vectores indicadores y por lo tanto $w \in \langle w^1, w^2 \rangle$. Por otro lado, $w^1 \in S^\perp$ y $w^2 \in S^\perp$. Luego $S^\perp = \langle w^1, w^2 \rangle$. □

Se deduce del Lema 1.6.9 que la cantidad de componentes conexas de un grafo débilmente reversible coincide con la dimensión de $S^\perp$.

Proposición 1.6.10. *Si el digrafo lineal G de una red de reacciones químicas es débilmente reversible, entonces la red es monoestacionaria.*

Demostración. Como $G = (\mathcal{V}(G), \mathcal{E}(G))$ es débilmente reversible, cada componente conexa es fuertemente conexa, es decir, existe un camino dirigido entre cualquier par de nodos que pertenecen a la misma componente. Supongamos que $G_1, \ldots, G_\ell$ son las componentes conexas de G y que ordenamos los índices de los nodos de forma tal que si $i < j$, los nodos en G_i tienen índice menor que cualquier nodo en G_j. Y sean $w^1, \ldots, w^\ell$ los vectores indicadores de las componentes conexas. Por lo visto en el Lema 1.6.9 los vectores $w^i, i = 1, \ldots, \ell$ forman una base de $S^\perp$.

Al ser una red lineal podemos describir al sistema de ecuaciones de forma matricial como en (1.27), $\dot{x} = A_\kappa x^t$ con A_κ la matriz Laplaciana asociada. Como vimos anteriormente, los estados estacionarios positivos de la red son los vectores positivos en el $ker(A_\kappa(G))$. Queremos probar que para cualquier elección de constantes $T_1, \ldots, T_\ell$, el conjunto

$$\left\{x \in \mathbb{R}^n_{>0} : A_\kappa x^t = 0,\ w^i \cdot x = T_i,\ i = 1, \ldots, \ell\right\}$$

tiene un único punto. Para eso necesitamos probar que existe una única solución del sistema lineal

$$\left(\begin{array}{c|c|c|c} 1\dots1 & 0\dots0 & 0\dots0 & 0\dots0 \\ A_\kappa(G_1) & 0\dots0 & 0\dots0 & 0\dots0 \\ \hline 0\dots0 & 1\dots1 & 0\dots0 & 0\dots0 \\ 0\dots0 & A_\kappa(G_2) & 0\dots0 & 0\dots0 \\ \hline & & \ddots & \\ \hline 0\dots0 & 0\dots0 & 0\dots0 & 1\dots1 \\ 0\dots0 & 0\dots0 & 0\dots0 & A_\kappa(G_\ell) \end{array}\right) x^t = \left(\begin{array}{c} T_1 \\ 0 \\ \hline T_2 \\ 0 \\ \hline \vdots \\ \hline T_\ell \\ 0 \end{array}\right)$$

Esto es equivalente a probar que para cada componente fuertemente conexa G_i existe una única solución positiva $x^{(i)}$ del sistema lineal definido por

$$\begin{pmatrix} 1 & \dots & 1 \\ & A_\kappa(G_i) & \end{pmatrix} (x^{(i)})^t = \begin{pmatrix} T_i \\ 0 \end{pmatrix},\ i = 1, \dots, \ell \tag{1.28}$$

Sea $x^{(i)} \in ker(A_\kappa(G_i))$, por el Teorema 1.6.7, sabemos que existe un número $c_i \in \mathbb{R}$ tal que

$$x^{(i)} = c_i \rho^{G_i}$$

Si además $x^{(i)}$ es una solución de (1.28), verifica

$$w^i \cdot x^{(i)} = T_i \Rightarrow w^i \cdot \left(c_i \rho^{G_i}\right) = T_i$$

entonces

$$c_i \left(\sum_{j \in \mathcal{V}(G_i)} \rho_j^{G_i} \right) = T_i$$

lo que determina, para cada valor de T_i, unívocamente el valor de c_i. Y por lo tanto el sistema tiene una única solución. □

Entonces, si cada componente conexa de la red lineal es fuertemente conexa, sabemos que la red resulta monoestacionaria.

Capítulo 2

Levantando multiestacionariedad desde subredes

En esta sección analizaremos la relación que existe entre la cantidad de estados estacionarios que admite una red de reacciones químicas y una subred. ¿Será cierto que si una subred admite múltiples estados estacionarios, entonces también lo hace la red que la contiene? La respuesta es que sí, bajo ciertas hipótesis. El resultado principal de este capítulo es el Teorema 2.4.1 junto con su demostración que es una versión corregida de la que figura en [JS13].

Cuando estudiamos un sistema de ecuaciones diferenciales asociado a una red de reacciones químicas, el tamaño de la red que estemos considerando determinará la complejidad del sistema y el nivel de dificultad para encontrar soluciones. La cantidad de ecuaciones y variables que conforman el sistema, está relacionada con la cantidad de especies que estén presentes en la red; y la cantidad de términos que tendrá cada ecuación está determinada por la cantidad de reacciones que actúan. Claramente, la complejidad del sistema será mayor cuanto más grande sea la red que estemos modelando. En este sentido, es útil estudiar ciertas propiedades en redes más pequeñas, y por lo tanto más sencillas, que puedan ser generalizadas luego a redes más grandes que las contienen.

2.1. Definición de subred

Definición 2.1.1. Sea $G = \{\mathcal{X}, \mathcal{Y}, \mathcal{R}\}$ una red de reacciones químicas donde $\mathcal{X}$ es el conjunto de especies, $\mathcal{Y}$ el conjunto de complejos y $\mathcal{R}$ el conjunto de reacciones involucradas. Diremos que U es una **subred** de G si se obtiene eliminando algunas de las reacciones presentes en $\mathcal{R}$. Es decir, U es una subred de G si $U = \{\mathcal{X}', \mathcal{Y}', \mathcal{R}'\}$ donde $\mathcal{R}' \subseteq \mathcal{R}$, y los conjuntos $\mathcal{X}' = \mathcal{X}\,|_{\mathcal{R}'}$ y $\mathcal{Y}' = \mathcal{Y}\,|_{\mathcal{R}'}$ son respectivamente las especies y complejos que están involucrados en las reacciones del subconjunto $\mathcal{R}'$.

Toda red de reacciones químicas es una subred de ella misma.

Ejemplo 2.1.2. Sea G la siguiente red de reacciones químicas,

$$E + S \rightleftarrows ES \to E + P$$
$$P \to S$$

Tanto U_1:

$$E + S \rightarrow ES \rightarrow E + P$$
$$P \rightarrow S$$

Como U_2:

$$E + S \rightarrow ES \rightarrow E + P$$

Y U_3:

$$P \rightarrow S$$

Son subredes de G.

Supongamos que las especies están ordenadas $\{E, S, P, ES\}$. Una de las diferencias que nos interesa destacar entre estas subredes es que el subespacio estequiométrico asociado a G, U_1 y U_2 es el mismo: $S_G = S_{U_1} = S_{U_2} = \langle(1, 1, 0, -1); (1, 0, 1, -1)\rangle$, mientras que el subespacio estequiométrico asociado a U_3 es $S_{U_3} = \langle(0, 1, -1, 0)\rangle$ cuya dimensión es menor y está contenido en S_G.

El subespacio estequiométrico asociado a una subred siempre está incluido en el subespacio estequiométrico de la red más grande.

2.2. Estabilidad de las soluciones

En el caso de un sistema de ecuaciones polinomiales asociado a una red de reacciones químicas modelado bajo la hipótesis de acción de masas como lo definimos en (1.4), el sistema $\dot{x} = f(x)$ es un sistema *autónomo* de ecuaciones diferenciales ordinarias dado que las trayectorias no dependen explícitamente del valor de la variable t, que en este caso representa al tiempo. La noción de estabilidad de las soluciones busca determinar si con el paso del tiempo, $t > 0, t \rightarrow \infty$, las trayectorias permanecen acotadas, o convergen a una trayectoria dada o bien, divergen.

Sea $\bar{x}(t)$ una solución de $f(x) = 0$, informalmente decimos que $\bar{x}(t)$ es estable si las trayectorias que comienzan *cerca* del valor inicial $\bar{x}(t_0)$ para algún tiempo inicial $t_0 \in \mathbb{R}$ *permanecen cerca* de $\bar{x}(t)$, $\forall t > t_0$. La trayectoria $\bar{x}(t)$ se dice que es *asintóticamente estable* o *exponencialmente estable* si las trayectorias que comienzan cerca de $\bar{x}(t_0)$ no sólo permanecen cerca sino, además, convergen a $\bar{x}(t)$ cuando $t \rightarrow \infty$.

Formalizamos estos conceptos con las siguientes definiciones:

Definición 2.2.1. La solución $\bar{x}(t)$ es **estable Lyapunov** si para todo $\varepsilon > 0$, $\exists\, \delta = \delta(\varepsilon) > 0$ tal que para cualquier otra trayectoria $y(t)$ que satisface $|\bar{x}(t_0) - y(t_0)| < \delta$ implica que $|\bar{x}(t) - y(t)| < \varepsilon$, $\forall t > t_0$, $t_0 \in \mathbb{R}$.

Definición 2.2.2. $\bar{x}(t)$ es **asintóticamente estable** si es estable en el sentido de Lyapunov y además, para cualquier otra trayectoria $y(t)$, $\exists\, b \in \mathbb{R}_{>0}$ tal que

$$|\bar{x}(t_0) - y(t_0)| < b \Rightarrow \lim_{t\rightarrow\infty} |\bar{x}(t) - y(t)| = 0.$$

Un análisis más profundo de la estabilidad de las trayectorias que son soluciones de un sistema EDO se puede encontrar en el trabajo de Wiggins [Wig03], junto al siguiente Teorema que nos facilita una nueva caracterización de las trayectorias estables.

Sea $\bar{x}(t) = \bar{x}$ una trayectoria constante solución del sistema de ecuaciones asociado a una red de reacciones químicas, notamos $J_f(\bar{x})$ a la **matriz Jacobiana** de f evaluada en $\bar{x}$: es la matriz (con entradas constantes) de tamaño $n \times n$ cuya (i, j)-ésima entrada es $\frac{\partial f_i}{\partial x_j}(\bar{x})$.

Teorema 2.2.3 (Teorema 1.2.5 en [Wig03])**.** Si todos los autovalores de la matriz $J_f(\bar{x})$ tienen parte real negativa, la solución $\bar{x}(t)$ es asintóticamente estable.

2.3. Estados estacionarios no degenerados

Para introducir las siguientes definiciones recordamos que $\bar{x}$ es un *estado estacionario positivo* de la red dada por $\dot{x} = f(x)$ si verifica: $f(\bar{x}) = 0$ y todas sus componentes son positivas.

Definición 2.3.1. Un estado estacionario $\bar{x}$ se dice **no degenerado** si

$$ker(J_f(\bar{x})) \cap S = \{0\}$$

donde $J_f(\bar{x})$ es la matriz Jacobiana de f evaluada en $\bar{x}$ y $S \subseteq \mathbb{R}^n$ es el subespacio estequiométrico de la red.

Definición 2.3.2. Un estado estacionario no degenerado $\bar{x}$ es **asintóticamente estable** o **exponencialmente estable** si todos los autovalores no nulos de $J_f(\bar{x})$ tienen parte real negativa.

Sea $\dot{x} = f(x)$ un sistema de ecuaciones asociado a una red de reacciones químicas, sabemos por lo visto en el Capítulo 1, que cada vez que existe $\lambda \in S^{\perp}$, este vector define una ley de conservación para el sistema. También vimos que hay casos en los cuales existen leyes de conservación que no provienen de $S^{\perp}$.

Veremos ahora que si un sistema admite un estado estacionario no degenerado, entonces *todas* las leyes de conservación provienen de $S^{\perp}$.

Lema 2.3.3. *Sea $\dot{x} = f(x)$ el sistema de ecuaciones asociado a una red de reacciones químicas con n especies y S el subespacio estequiométrico de la red. Si la red admite un estado estacionario no degenerado, entonces todas las leyes de conservación del sistema provienen de $S^{\perp}$.*

Demostración. Notemos $s = dim(S) \Rightarrow dim(S^{\perp}) = n - s$.

Supongamos que existe al menos una ley de conservación que no proviene de $S^{\perp}$, esto es, existe $\bar{\lambda} \notin S^{\perp}$ tal que

$$L_{\bar{\lambda}}(x) = \bar{\lambda} \cdot x = C, \quad C \in \mathbb{R}$$

o lo que es equivalente,

$$\bar{\lambda} \cdot \dot{x} = 0 \Rightarrow \bar{\lambda} \cdot f(x) = 0 \tag{2.1}$$

La ecuación (2.1) muestra que existe una combinación lineal de las funciones del sistema $\{f_1(x), f_2(x), \ldots, f_n(x)\}$ igualada a cero, donde el vector de coeficientes no pertenece al subespacio $S^\perp$. Entonces existen más que $n - s$ funciones del sistema linealmente dependientes, lo que implica que $rango(J_f(x)) < s$ (porque la diferenciación respeta combinaciones lineales) y, por el teorema de la dimensión, $nulidad(J_f(x)) > n - s$, esto pasa para cada $x \in \mathbb{R}^n$.

Luego, $dim(ker(J_f(x)) \cap S) \geq 1$ dado que estamos calculando la intersección de un subespacio de dimensión estrictamente mayor a $n - s$ y otro de dimensión igual a s en un espacio vectorial de dimensión n. Entonces podemos afirmar que

$$ker(J_f(x)) \cap S \neq \{0\},\ \forall x \in \mathbb{R}^n$$

Por definición, en este caso no puede existir un estado estacionario no degenerado. □

Lema 2.3.4. *Sea $\dot{x} = f(x)$ el sistema de ecuaciones asociado a una red de reacciones químicas, $x \in \mathbb{R}^n$ y $S \subseteq \mathbb{R}^n$ el subespacio estequiométrico asociado a la red con $dim(S) = s$. Son equivalentes:*

- *x^* es un estado estacionario no degenerado de $\dot{x} = f(x)$.*
- *Para toda elección de $\{\lambda_1, \ldots, \lambda_{n-s}\}$ base de $S^\perp$ y $\{f_{i_1}, \ldots, f_{i_s}\}$, s ecuaciones del sistema linealmente independientes,*

$$det \begin{pmatrix} d_{f_{i_1}}(x^*) \\ d_{f_{i_2}}(x^*) \\ \cdots \\ d_{f_{i_s}}(x^*) \\ \lambda_1 \\ \lambda_2 \\ \cdots \\ \lambda_{n-s} \end{pmatrix} \neq 0$$

donde $d_{f_j}(x^*) := \left(\frac{\partial f_j}{\partial x_1}(x^*), \frac{\partial f_j}{\partial x_2}(x^*), \ldots, \frac{\partial f_j}{\partial x_n}(x^*)\right)$.

Demostración. Por definición, un estado estacionario no degenerado de $\dot{x} = f(x)$ es un punto x^* que verifica $ker(J_f(x^*)) \cap S = \{0\}$. Como $dim(S) = s$, entonces $dim(S^\perp) = n - s$. Sea $\{\lambda_1, \ldots, \lambda_{n-s}\}$ una base de $S^\perp \subseteq \mathbb{R}^n$, por lo visto en el Capítulo 1, podemos describir a S como el conjunto de soluciones de un sistema formado por $n - s$ formas lineales:

$$S = \{x \in \mathbb{R}^n : L_{\lambda_1}(x) = \cdots = L_{\lambda_{n-s}}(x) = 0\}. \tag{2.2}$$

donde $L_{\lambda_i}(x) = \lambda_i \cdot x$, y de aquí se desprende que

$$S = ker \begin{pmatrix} \lambda_1 \\ \lambda_2 \\ \cdots \\ \lambda_{n-s} \end{pmatrix} \tag{2.3}$$

Por otro lado,

$$ker(J_f(x^*)) := ker\begin{pmatrix} d_{f_1}(x^*) \\ d_{f_2}(x^*) \\ \dots \\ d_{f_n}(x^*) \end{pmatrix} \tag{2.4}$$

Sea $\{f_{i_1}, \dots, f_{i_s}\}$ un conjunto de s ecuaciones del sistema linealmente independientes, entonces (2.4) es igual a:

$$ker\begin{pmatrix} d_{f_{i_1}}(x^*) \\ d_{f_{i_2}}(x^*) \\ \dots \\ d_{f_{i_s}}(x^*) \end{pmatrix} \tag{2.5}$$

Juntando todo podemos concluir el resultado:

$$ker(J_f(x^*)) \cap S = \{0\} \iff ker\begin{pmatrix} d_{f_{i_1}}(x^*) \\ d_{f_{i_2}}(x^*) \\ \dots \\ d_{f_{i_s}}(x^*) \end{pmatrix} \cap ker\begin{pmatrix} \lambda_1 \\ \lambda_2 \\ \dots \\ \lambda_{n-s} \end{pmatrix} = \{0\}$$

$$\iff ker\begin{pmatrix} d_{f_{i_1}}(x^*) \\ d_{f_{i_2}}(x^*) \\ \dots \\ d_{f_{i_s}}(x^*) \\ \lambda_1 \\ \lambda_2 \\ \dots \\ \lambda_{n-s} \end{pmatrix} = \{0\} \iff det\begin{pmatrix} d_{f_{i_1}}(x^*) \\ d_{f_{i_2}}(x^*) \\ \dots \\ d_{f_{i_s}}(x^*) \\ \lambda_1 \\ \lambda_2 \\ \dots \\ \lambda_{n-s} \end{pmatrix} \neq 0.$$

La primera equivalencia se deduce de (2.3) y (2.5), el resto son resultados básicos de álgebra lineal. □

Proposición 2.3.5. *Sea $\dot{x} = f(x)$ el sistema de ecuaciones asociado a una red de reacciones químicas, $x \in \mathbb{R}^n$ y $S \subseteq \mathbb{R}^n$ el subespacio estequiométrico asociado a la red con $dim(S) = s$. Si x^* es un estado estacionario no degenerado del sistema, entonces existe un entorno $\Omega \subset \mathbb{R}^n$ del punto x^* en el que se verifica*

$$ker(J_f(x)) \cap S = \{0\}, \ \forall x \in \Omega.$$

Demostración. Usando el Lema 2.3.4, sabemos que si x^* es un estado estacionario no degenerado del sistema, entonces para cualquier elección de $\{\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_{n-s}\}$, base de $S^\perp$, y $\{f_{i_1}, f_{i_2}, \dots, f_{i_s}\}$ un conjunto linealmente independiente, $det\begin{pmatrix} d_{f_{i_1}}(x^*) \\ d_{f_{i_2}}(x^*) \\ \dots \\ d_{f_{i_s}}(x^*) \\ \lambda_1 \\ \lambda_2 \\ \dots \\ \lambda_{n-s} \end{pmatrix} \neq 0.$

Al ser $det(\cdot)$ una función continua y $det(\cdot) \neq 0$ una condición abierta, sabemos que esta desigualdad se verifica en un entorno del punto x^*. Entonces existe un abierto, $\Omega \subset \mathbb{R}^n$, con $x^* \in \Omega$, en el cual $det \begin{pmatrix} d_{f_{i_1}}(x) \\ d_{f_{i_2}}(x) \\ \cdots \\ d_{f_{i_s}}(x) \\ \lambda_1 \\ \lambda_2 \\ \cdots \\ \lambda_{n-s} \end{pmatrix} \neq 0, \ \forall x \in \Omega$. Y por la misma equivalencia podemos afirmar entonces que

$$ker(J_f(x)) \cap S = \{0\}, \ \forall x \in \Omega. \tag{2.6}$$

□

Esta proposición nos permite saber que cada vez que la red admita un estado estacionario no degenerado, *existe un entorno* del punto en donde se verifica que el núcleo de la matriz jacobiana del sistema y el subespacio estequiométrico de la red sólo se cortan en el cero. Este resultado nos va a servir para demostrar el Teorema 2.4.1 que enunciaremos más adelante en este capítulo.

Definición 2.3.6. Decimos que un punto $p \in \mathbb{R}^n$ es **aislado** en un conjunto $\mathcal{P}$ si existe un abierto $\Omega \subset \mathbb{R}^n$ que contiene a p, tal que $\Omega \cap \mathcal{P} = \{p\}$.

Proposición 2.3.7. *Sea G una red de reacciones químicas, $\dot{x} = f_G(x)$ el sistema de ecuaciones asociado y $S \subseteq \mathbb{R}^n$ el subespacio estequiométrico de la red. Si $p \in \mathbb{R}^n_{>0}$ es un estado estacionario no degenerado del sistema, entonces es un punto aislado en la S-clase que lo contiene.*

Demostración. Sea $dim(S) = s \leq n$, como $dim(S^\perp) = n - s$, podemos describir al subespacio S como el conjunto de soluciones de un sistema formado por $n - s$ formas lineales: $S = \{x \in \mathbb{R}^n / L_{\lambda_1}(x) = L_{\lambda_2}(x) = \cdots = L_{\lambda_{n-s}}(x) = 0\}$ donde cada $L_{\lambda_i}(x) = \lambda_i \cdot x$ y $\lambda_i \in \mathbb{R}^n$ son vectores que generan $S^\perp$.

Sea $S + C = \{L_{\lambda_1}(x) = C_1, L_{\lambda_2}(x) = C_2, \ldots, L_{\lambda_{n-s}}(x) = C_{n-s}\}$ la clase de compatibilidad estequiométrica a la cual pertenece el punto p, y $\{f_{i_1}(x), f_{i_2}(x), \ldots, f_{i_s}(x)\}$ s ecuaciones linealmente independientes del sistema $\dot{x} = f_G(x)$. Los estados estacionarios que pertenecen a la clase $S + C$ deben verificar:

$$f_{i_k}(x) = 0, \ \forall k = 1, \ldots, s; \quad L_{\lambda_j}(x) = C_j, \ \forall j = 1, \ldots, n - s. \tag{2.7}$$

Sea $F : \mathbb{R}^n_{>0} \to \mathbb{R}^n$ la función que asigna a cada vector x_0 su evaluación en el sistema $\dot{x} = f_G(x)$ en el que se reemplazaron $n - s$ funciones linealmente dependientes por las leyes de conservación:

$$x_0 \longmapsto (f_{i_1}(x_0), f_{i_2}(x_0), \ldots, f_{i_s}(x_0), L_{\lambda_1}(x_0), L_{\lambda_2}(x_0), \ldots, L_{\lambda_{n-s}}(x_0)).$$

Dado que p es un estado estacionario no degenerado del sistema que pertenece a la clase $S + C$, $F(p) = (0, ..., 0, C_1, ..., C_{n-s})$.

Si notamos como antes d_f al operador diferencial de f y observamos que $d_{L_{\lambda_i}}(p) = \lambda_i$, la matriz Jacobiana de F evaluada en p tiene la forma:

$$J_F(p) = \begin{pmatrix} d_{f_{i_1}}(p) \\ d_{f_{i_2}}(p) \\ \cdots \\ d_{f_{i_s}}(p) \\ \lambda_1 \\ \lambda_2 \\ \cdots \\ \lambda_{n-s} \end{pmatrix}$$

Y, por el Lema 2.3.4, verifica que $det(J_F(p)) \neq 0$.

Como F es de clase C^1 y $det(J_F(p)) \neq 0$, por el Teorema de la Función Inversa, F resulta localmente inversible, es decir, existe un entorno abierto $\Omega \subset \mathbb{R}^n_{>0}$ que contiene al punto p en el cual F es inversible, en particular, es inyectiva. Y, por lo tanto, cualquier otro punto $q \in (S + C) \cap \Omega, q \neq p$, no puede ser un estado estacionario del sistema: de lo contrario, $F(q) = (0, ..., 0, C_1, ..., C_{n-s}) = F(p)$ lo que contradice el hecho de que F es localmente inyectiva. Luego, existe un entorno abierto $\Omega' \subseteq (S + C) \cap \Omega$ en el cual p es el único estado estacionario del sistema y, por lo tanto, es aislado en la clase $S + C$. □

2.4. Extrapolación desde subredes

Si una subred U de una red G admite múltiples estados estacionarios positivos, ¿entonces G también? El siguiente teorema que está presente en el trabajo realizado por B. Joshi y A. Shiu [JS13], nos dice que la respuesta es sí, bajo dos hipótesis: que las dos redes compartan el subespacio estequiométrico y que los estados estacionarios sean no degenerados. La prueba asocia a cada estado estacionario x^* de U con un punto "cercano" que es un estado estacionario de G.

El siguiente resultado es válido para casos de cinéticas más generales, en este trabajo lo demostraremos bajo la hipótesis de *cinética de acción de masas*:

Teorema 2.4.1. *Sea G una red de reacciones químicas y U una subred que comparte el subespacio estequiométrico: $S_U = S_G$, entonces se verifica lo siguiente:*

- *Si U admite múltiples estados estacionarios positivos no degenerados, entonces G admite al menos la misma cantidad.*
- *Además, si U admite múltiples estados estacionarios positivos exponencialmente estables, entonces G admite al menos la misma cantidad de estos puntos.*

Para demostrar el Teorema 2.4.1 haremos uso de algunas herramientas de Homotopía desarrollados por Craciun, Helton y Williams en [CHW08] y que presentaremos a continuación.

2.4.1. Definiciones y resultados de Homotopía

Definición 2.4.2. Sea Ω un **dominio** de $\mathbb{R}^n$ que es un conjunto abierto y conexo, notaremos $\overline{\Omega}$ a su clausura y $\partial\Omega$ al borde. Una función $f : \overline{\Omega} \to \mathbb{R}^n$ es **de clase** $C^1(\Omega)$ si es continua y diferenciable, con sus derivadas parciales de primer orden también continuas en Ω. Si Ω es acotado, la siguiente **norma** definida para f es finita:

$$\| f \|_\Omega := \sup_{c \in \Omega} \| f(c) \|,$$

donde $\| \cdot \|$ denota la norma euclídea en $\mathbb{R}^n$.

Cuando Ω es acotado, una familia de funciones $f_\lambda : \overline{\Omega} \to \mathbb{R}^n$, con $\lambda \in [0, 1]$ se dice que **varía continuamente con** λ si la aplicación $\lambda \to f_\lambda$ es continua en $[0, 1]$, es decir, dado $\varepsilon > 0$ existe $\delta > 0$ tal que para cada par de valores $\lambda_1, \lambda_2 \in [0, 1]$ que disten en menos de δ, las funciones f_{λ_1} y f_{λ_2} distan en menos de ε con la norma definida anteriormente.

Definición 2.4.3. Decimos que p es un *valor regular* de f si $J_f(p)$ es inversible, o lo que es equivalente, $det(J_f(p)) \neq 0$ (J_f denota la matriz jacobiana de f).

Sea $\Omega \subset \mathbb{R}^n$ un abierto acotado y $f : \overline{\Omega} \to \mathbb{R}^n$ de clase $C^1(\Omega)$ y sea p un valor regular de f tal que $f(x) \neq p$, $\forall x \in \partial\Omega$, entonces se define el **grado de Brouwer** de la función f con respecto al punto p como:

$$deg\,(f, \Omega, p) := \sum_{c \in Z_f} sgn\left(det\left(J_f(c)\right)\right)$$

donde $Z_f = f^{-1}(\{p\}) = \{c \in \Omega / f(c) = p\}$, y $sgn : \mathbb{R} \to \{-1, 0, 1\}$ es la función que toma signo.

El hecho de que p sea un valor regular garantiza que Z_f es un conjunto finito y, por lo tanto, la suma de la definición es finita. Cuando $p = 0$ y el conjunto Ω quede claramente definido en el contexto en el que trabajamos, notaremos simplemente $deg(f)$ a $deg(f, \Omega, 0)$.

Presentamos a continuación un resultado conocido de Homotopía, que determina la *invariancia del grado* de una función, que es el Teorema 3.1 presente en el trabajo de Craciun, Helton y Williams [CHW08]:

Teorema 2.4.4. *Consideramos $\Omega \subset \mathbb{R}^n$ un dominio acotado y $f_\lambda : \overline{\Omega} \to \mathbb{R}^n$, $\lambda \in [0, 1]$, una familia de funciones de clase $C^1(\Omega)$ que varía continuamente con λ tales que f_λ no se anula en $\partial\Omega$, $\forall \lambda \in [0, 1]$. Entonces, $deg(f_\lambda)$ es constante para todo $\lambda \in [0, 1]$.*

Y ahora introducimos una proposición que incluye las hipótesis del Teorema anterior, y que nos servirá para demostrar el resultado principal de este capítulo:

Proposición 2.4.5. *Sea $\Omega \subset \mathbb{R}^n$ un dominio acotado y $f_\lambda : \overline{\Omega} \to \mathbb{R}^n$, $\lambda \in [0, 1]$, una familia de funciones de clase $C^1(\Omega)$ que varía continuamente con λ tales que f_λ no se anula en $\partial\Omega$, $\forall \lambda \in [0, 1]$. Luego, para cada f_{λ_0} con $\lambda_0 \in [0, 1]$ tal que $det(J_{f_{\lambda_0}}(c)) \neq 0$, $\forall c \in \Omega$, el valor absoluto de $deg(f_{\lambda_0})$ en Ω es igual a la cantidad de raíces de f_{λ_0} en Ω.*

Demostración. Sea $\lambda_0 \in [0,1]$ tal que $det(J_{f_{\lambda_0}}(c)) \neq 0$, $\forall c \in \Omega$, entonces el signo de $det(J_{f_{\lambda_0}})$ es independiente de c y será siempre positivo o siempre negativo.

Mirando la fórmula del grado de la función f_{λ_0}, $\left|\sum_{c \in Z_{f_{\lambda_0}}} sgn\left(det\left(J_{f_{\lambda_0}}(c)\right)\right)\right|$ cuenta la cantidad de raíces de f_{λ_0} en Ω, dado que cada sumando es siempre 1 ó -1 para cada $c \in Z_{f_{\lambda_0}} \subseteq \Omega$. □

Observación 2.4.6. Es suficiente pedir que el signo de $det(J_{f_\lambda}(c))$ sea el mismo para todo valor $c \in Z_f$ en vez de $\forall c \in \Omega$, pero, en general, es difícil establecer los elementos del conjunto Z_f.

Teorema 2.4.7. *Sea $\Omega \subset \mathbb{R}^n$ un dominio acotado y $f_\lambda : \overline{\Omega} \to \mathbb{R}^n$, $\lambda \in [0,1]$, una familia de funciones de clase $C^1(\Omega)$ que varía continuamente con λ tales que f_λ no se anula en $\partial\Omega$, $\forall \lambda \in [0,1]$. Si para $\lambda = 0$ y $\lambda = 1$, $det(J_{f_\lambda}(c)) \neq 0$, $\forall c \in \Omega$, entonces la cantidad de raíces de f_0 en Ω es igual a la cantidad de raíces de f_1 en Ω.*

Demostración. Por hipótesis $det(J_{f_0}(c)) \neq 0$, $\forall c \in \Omega$ y $det(J_{f_1}(c)) \neq 0$, $\forall c \in \Omega$, entonces, por la Proposición 2.4.5, el valor absoluto de $deg(f_0)$ cuenta la cantidad de raíces de f_0 en Ω y el valor absoluto de $deg(f_1)$ cuenta la cantidad de raíces de f_1 en Ω. Además, la familia de funciones f_λ está en las hipótesis del Teorema 2.4.4, lo que implica que el grado de f_λ es constante $\forall \lambda \in [0,1]$, en particular $deg(f_0) = deg(f_1)$ y por lo tanto podemos afirmar que la cantidad de raíces de f_0 en Ω es igual a la cantidad de raíces de f_1 en Ω. □

A continuación presentamos, con su demostración, el Lema 2.4.8 que es una versión modificada del Lema 3.2 que está presente en el trabajo publicado por Joshi y Shiu en [JS13].

Cabe aclarar que fue necesario modificar alguna de las hipótesis presentes en el Lema publicado, en virtud de mejorar el nivel de especificidad del resultado adecuado a las redes que son de interés en el presente trabajo.

Lema 2.4.8. *Sea $S \subset \mathbb{R}^n$ un subespacio vectorial de dimensión $s \leq n$ y $S + x(0)$ una traslación afín. Sea $\Omega \subset S + x(0)$ un conjunto conexo, acotado y abierto relativo a $S + x(0)$ (es decir, $\Omega = \Omega' \cap (S + x(0))$ donde Ω' es un conjunto abierto de $\mathbb{R}^n$). Sea $f_\lambda : \overline{\Omega} \to S$, $\lambda \in [0,1]$ una familia de funciones de clase $C^1(\Omega)$ que varía continuamente con λ y que satisface:*

- *$\forall \lambda \in [0,1]$, f_λ no se anula en $\partial\Omega$,*
- *para $\lambda = 0$ y $\lambda = 1$, $ker(J_{f_\lambda}(x)) \cap S = \{0\}$, $\forall x \in \Omega$.*

Entonces, la cantidad de raíces de f_0 en Ω es igual a la cantidad de raíces de f_1 en Ω.

Demostración. Sea $S \subset \mathbb{R}^n$ un subespacio vectorial de dimensión $s \leq n$.

Sea $\bar{\alpha} \in \mathbb{R}^s, \bar{\alpha} = (\alpha_1, \ldots, \alpha_s)$ y $t : \mathbb{R}^s \to S$ un isomorfismo lineal que verifica:

$$\bar{\alpha} \overset{t}{\mapsto} \sum_{i=1}^{s} \alpha_i v_i$$

donde $\{v_1, v_2, ..., v_s\}$ es una base de S.

Salvo por un cambio lineal de coordenadas, podemos asumir que el subespacio es

$$S = \{\bar{x} \in \mathbb{R}^n / x_{s+1} = x_{s+2} = ... = x_n = 0\}$$

y elegimos la base canónica $\{e_1, e_2, ..., e_s\}$, donde e_i representa el i-ésimo vector canónico de $\mathbb{R}^n$. En este caso,

$$t(\bar{\alpha}) = t(\alpha_1, ..., \alpha_s) := (\alpha_1, \ldots, \alpha_s, 0, \ldots, 0) \subseteq \mathbb{R}^n$$

Sea $t_1 : \mathbb{R}^s \to S + x(0)$ el isomorfismo lineal afín definido por

$$t_1(\bar{\alpha}) = t(\bar{\alpha}) + x(0)$$

Dado $\Omega \subseteq S + x(0)$, conexo, acotado y abierto relativo a $S + x(0)$, definimos

$$\Omega_1 = t_1^{-1}(\Omega) \text{ y, por continuidad de } t_1 \text{ y de } t_1^{-1}, \ \overline{\Omega}_1 = t_1^{-1}(\overline{\Omega}).$$

Sea $f_\lambda : \overline{\Omega} \to S$, $\lambda \in [0, 1]$, una familia de funciones de clase $C^1(\Omega)$ que verifica las hipótesis, queremos ver que la cantidad de raíces de f_0 en Ω es igual a la cantidad de raíces de f_1 en Ω. Para eso consideramos la familia de funciones $g_\lambda : \overline{\Omega}_1 \to \mathbb{R}^s$ para cada λ de la siguiente manera:

$$g_\lambda(x) = \left(t^{-1} \circ f_\lambda \circ t_1\right)(x)$$

$$\begin{array}{ccc} \Omega \subseteq S + x(0) & \xrightarrow{f_\lambda} & S \subseteq \mathbb{R}^n \\ {\scriptstyle t_1}\uparrow & & \downarrow{\scriptstyle t^{-1}} \\ \Omega_1 \subseteq \mathbb{R}^s & \xrightarrow{g_\lambda} & \mathbb{R}^s \end{array} \tag{2.8}$$

Las funciones g_λ son de clase $C^1(\Omega_1)$ por ser composición de funciones de clase C^1, cada una en su dominio correspondiente.

Veamos que la cantidad de raíces de las funciones g_λ en $\overline{\Omega}_1$ es igual a la cantidad de raíces de f_λ en $\overline{\Omega}$. Para esto consideramos los conjuntos de ceros:

$$Z_{f_\lambda} = \left\{c \in \overline{\Omega} / f_\lambda(c) = 0\right\}; \ \ Z_{g_\lambda} = \left\{\omega \in \overline{\Omega}_1 / g_\lambda(\omega) = 0\right\}$$

Para cada $c \in Z_{f_\lambda}$ podemos calcular la preimagen de c por t_1, $t_1^{-1}(c) = \omega \in \overline{\Omega}_1$, veamos que ω es raíz de g_λ:

$$g_\lambda(\omega) = (t^{-1} \circ f_\lambda \circ t_1)(\omega) = (t^{-1} \circ f_\lambda \circ t_1)(t_1^{-1}(c)) = t^{-1}(f_\lambda(c)) = t^{-1}(0) = 0,$$

La última igualdad se deduce porque al ser t^{-1} un isomorfismo, y por lo tanto biyectivo, manda el cero en el cero. Luego $\omega \in Z_{g_\lambda}$.

Y al revés, para cada $\omega \in Z_{g_\lambda}$ podemos calcular $c = t_1(\omega) \in \overline{\Omega}$, veamos que c es raíz de f_λ:

$$0 = g_\lambda(\omega) = (t^{-1} \circ f_\lambda \circ t_1)(\omega) = t^{-1}(f_\lambda(c)),$$

usando el mismo argumento que antes, al ser t^{-1} biyectivo, $0 = t^{-1}(f_\lambda(c)) \Rightarrow f_\lambda(c) = 0$.

Podemos concluir entonces que, para cada $\lambda \in [0,1]$, la cantidad de raíces de g_λ en $\overline{\Omega}_1$ es igual a la cantidad de raíces de f_λ en $\overline{\Omega}$. En particular, concluimos un resultado que usaremos más adelante:

$$\begin{cases} \text{La cantidad de raíces de } f_0 \text{ en } \overline{\Omega} \text{ es igual a la cantidad de raíces de } g_0 \text{ en } \overline{\Omega}_1. \\ \text{La cantidad de raíces de } f_1 \text{ en } \overline{\Omega} \text{ es igual a la cantidad de raíces de } g_1 \text{ en } \overline{\Omega}_1. \end{cases} \tag{2.9}$$

El hecho de que las funciones f_λ no se anulan en $\partial\Omega$ garantiza que las funciones g_λ no se anulen en $\partial\Omega_1$, dado que t_1 es un isomorfismo, tanto t_1 como su inversa t_1^{-1} son funciones biyectivas y continuas, entonces $t_1 : \partial\Omega_1 \to \partial\Omega$. Si existiera $\omega \in \partial\Omega_1$ tal que $g_\lambda(\omega) = 0$, entonces existiría $c = t_1(\omega) \in \partial\Omega$ tal que $f_\lambda(c) = 0$, lo que nos lleva a un absurdo.

Resta ver que las raíces de las funciones g_0 y g_1 son puntos en los cuales el determinante de la matriz jacobiana no se anula. Así estas funciones estarán en las hipótesis del Teorema 2.4.7 y podremos concluir el resultado deseado. Para esto analicemos la relación entre la matriz jacobiana de f_λ y la matriz jacobiana de g_λ:

$$J_{g_\lambda}(\omega) = (J_{t^{-1}} \cdot J_{f_\lambda} \cdot J_{t_1})(\omega)$$

Sea $c = t_1(\omega)$, entonces

$$J_{g_\lambda}(\omega) = J_{t^{-1}} \cdot J_{f_\lambda}(c) \cdot J_{t_1} \tag{2.10}$$

Tanto t_1 como t^{-1} son lineales, y por lo tanto, su matriz jacobiana tiene todas las entradas constantes e independientes del punto en que se evalúe. Más aún, por construcción, la matriz jacobiana incluye a la matriz identidad de tamaño $s \times s$ (la notamos I_s) y el resto de las entradas serán nulas: por ejemplo, $t_1(\bar{\alpha}) = (\alpha_1, \alpha_2, ..., \alpha_s, 0, ..., 0)$ y entonces

$$J_{t_1}(\bar{\alpha}) = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \ddots & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \dots & \dots & 0 & 1 & 0 & \dots & \dots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \end{pmatrix}$$

Volvamos a (2.10). Llamamos M a la matriz jacobiana de f_λ evaluada en c y analizamos el producto de matrices

$$J_{g_\lambda}(\omega) = \begin{pmatrix} I_s & O_{s\times(n-s)} \end{pmatrix} \cdot M \cdot \begin{pmatrix} I_s \\ O_{(n-s)\times s} \end{pmatrix}$$

O representa la matriz nula de tamaño indicado en el subíndice.

Al resolver este producto podemos observar que la matriz jacobiana de g_λ evaluada en ω coincide con las primeras s filas y s columnas de la matriz jacobiana de f_λ en c. Lo cual implica que si existiera un vector $w \in \mathbb{R}^s, w \neq 0$ en el núcleo de $J_{g_\lambda}(\omega)$ entonces el vector $\bar{w} = (w, 0, ..., 0) \in \mathbb{R}^n$ sería un vector no nulo en el núcleo de $J_{f_\lambda}(c)$ y además $\bar{w} \in S$, es decir, existiría un vector no nulo en $ker(J_{f_\lambda}(c)) \cap S$ lo que contradice la hipótesis si $\lambda = 0$ o $\lambda = 1$. Entonces las hipótesis del lema garantizan que, para $\lambda = 0$ y $\lambda = 1$, $det(J_{g_\lambda}(\omega)) \neq 0$, $\forall \omega \in \bar{\Omega}_1$:

$$ker(J_{f_\lambda}(c)) \cap S = \{0\} \iff ker(J_{g_\lambda}(\omega)) = \{0\} \iff det(J_{g_\lambda}(\omega)) \neq 0.$$

En resumen:

Ω_1 es un dominio acotado, la familia de funciones $g_\lambda : \overline{\Omega}_1 \to \mathbb{R}^s$ es de clase $C^1(\Omega_1)$, y varía continuamente con $\lambda \in [0, 1]$, las funciones g_λ no se anulan en $\partial\Omega_1$, y para $\lambda = 0$ y $\lambda = 1$, $det(J_{g_\lambda}(\omega)) \neq 0$, $\forall \omega \in \Omega_1$.

Por el Teorema 2.4.7 podemos afirmar que la cantidad de raíces de g_0 en Ω_1 es igual a la cantidad de raíces de g_1 en Ω_1, entonces, por lo visto en la comparación entre la cantidad de raíces de las funciones g_λ y f_λ (2.9), concluimos que la cantidad de raíces de f_0 en Ω es igual a la cantidad de raíces de f_1 en Ω. □

Ahora sí, estamos en condiciones de demostrar el resultado principal de este capítulo:

2.5. Demostración del Teorema de subredes

Demostración del Teorema 2.4.1. Sea G una red de reacciones químicas modelada bajo la hipótesis de cinética de acción de masas. Y sea U una subred de G que comparte el mismo subespacio estequiométrico $S_G = S_U$, llamemos S a este subespacio.

Notemos por $\mathcal{R}' = \mathcal{R}_{G\setminus U}$ al conjunto de reacciones que están presentes en G y no en U. Al conjunto de reacciones de G lo podemos escribir entonces como la unión disjunta $\mathcal{R}' \sqcup \mathcal{R}_U$.

Asumimos que U admite múltiples estados estacionarios positivos no degenerados, esto es, existe un vector de parámetros $\kappa^* = (\kappa_1^*, \kappa_2^*, \ldots, \kappa_{|\mathcal{R}_U|}^*) \in \mathbb{R}_{>0}^{|\mathcal{R}_U|}$ para el cual hay (al menos) dos estados estacionarios distintos x^*, x^{**}, no degenerados, en la misma clase de estequiometría, correspondientes a la red de reacciones químicas (U, κ^*). Denotamos por $f_U(x)$ al sistema de ecuaciones diferenciales asociado a esta subred, con el vector de parámetros κ^* fijo.

Tomemos uno de estos puntos, x^*, en la clase de estequiometría $S + x(0)$. Al ser no degenerado, por las Proposiciones 2.3.5 y 2.3.7, existe un entorno abierto Ω en el interior relativo de $S + x(0)$ que contiene a x^* en el cual se verifica:

(1) x^* es el único estado estacionario (raíz de f_U) en Ω, y

(2) $ker\left(J_{f_U}(x)\right) \cap S = \{0\}$, $\forall x \in \Omega$.

Además asumimos que f_U no se anula en $\partial\Omega$, de lo contrario achicamos el entorno para que x^* sea el único estado estacionario en $\overline{\Omega}$.

Ahora bien, *para cada* vector de parámetros $\kappa \in \mathbb{R}_{>0}^{|\mathcal{R}'|}$ definimos la siguiente familia de funciones para cada $\lambda \in [0, 1]$:

$$F_\lambda(x, \kappa) := f_U(x) + \lambda \sum_{r \in \mathcal{R}'} \kappa_r \, x^{y_r} \, (y'_r - y_r)$$

Notemos que para cada λ, $F_\lambda(x, \kappa)$ define el sistema de ecuaciones diferenciales asociado a la red G con el vector de parámetros

$$(\kappa^*, \lambda\kappa) = \left(\kappa_1^*, \kappa_2^*, \ldots, \kappa_{|\mathcal{R}_U|}^*, \lambda\kappa_1, \lambda\kappa_2, \ldots, \lambda\kappa_{|\mathcal{R}'|}\right)$$

En particular, $F_0(x,\kappa) = f_U(x)$ corresponde al sistema polinomial asociado a la red (U,κ^*) y $F_1(x,\kappa)$ corresponde al sistema polinomial asociado a la red $(G,(\kappa^*,\kappa))$. Si llamamos $\{f_1(x), f_2(x), \ldots, f_n(x)\}$ a las funciones del sistema EDO asociado a la red (U,κ^*), para cada λ, las funciones del sistema asociado a la red $(G,(\kappa^*,\lambda\,\kappa))$ tienen la forma

$$\{f_1(x) + \lambda\, g_1(x), f_2(x) + \lambda\, g_2(x), \ldots, f_n(x) + \lambda\, g_n(x)\},$$

con polinomios $g_i(x)$ que tienen coeficientes en κ.

La familia de funciones $F_\lambda(x,\kappa) : \overline{\Omega} \to S$ es de clase $C^1(\Omega)$ y para cada κ fijo, la asignación $\lambda \to F_\lambda(x,\kappa)$ varía continuamente con λ: como Ω es acotado, existe una constante $A \in \mathbb{R}_{>0}$ tal que

$$\| F_\lambda(x,\kappa) - F_{\lambda_0}(x,\kappa) \|_\Omega = \| (\lambda - \lambda_0) \sum_{r\in\mathcal{R}'} \kappa_r\, x^{y_r}(y'_r - y_r) \|_\Omega \leq$$

$$|\lambda - \lambda_0| \sum_{r\in\mathcal{R}'} \| \kappa_r\, x^{y_r}(y'_r - y_r) \|_\Omega \leq A\,|\lambda - \lambda_0| \xrightarrow[\lambda\to\lambda_0]{} 0,\ \forall x \in \overline{\Omega}.$$

En particular, $F_\lambda(x,\kappa) \to f_U(x)$ converge uniformemente en $\overline{\Omega}$ cuando $\lambda \to 0$.

Fijado $\kappa > 0$, sea $\eta = \min\limits_{x\in\partial\Omega} \| f_U(x) \|_\Omega$ y sea $\delta > 0$ tal que

$$|\lambda| < \delta \Rightarrow \| F_\lambda(x,\kappa) - f_U(x) \|_\Omega < \frac{\eta}{2},\ \forall x \in \overline{\Omega},$$

entonces $F_\lambda(x,\kappa) \neq 0,\ \forall x \in \partial\Omega$. Si además reescalamos el vector de parámetros $\kappa' = \frac{\delta}{2}\kappa$,

$$\{\lambda\kappa', \lambda \in [0,1]\} = \left\{\lambda'\kappa,\ \lambda' \in \left[0, \frac{\delta}{2}\right]\right\},$$

para este κ' y para todo $\lambda \in [0,1]$, $F_\lambda(x,\kappa') \neq 0\ \forall x \in \partial\Omega$.

Sea $s = dim(S)$ y $\{\lambda_1, \lambda_2, \ldots, \lambda_{n-s}\}$ una base de $S^\perp$. Por el Lema 2.3.4, como x^* es un estado estacionario no degenerado de $f_U = F_0$, dado $\{f_{i_1}, f_{i_2}, \ldots, f_{i_s}\}$ un conjunto de s ecuaciones linealmente independientes del sistema EDO asociado a la red (U,κ^*),

$$ker\left(J_{F_0}(x^*,\,\kappa')\right) \cap S = \{0\} \Leftrightarrow det \begin{pmatrix} d_{f_{i_1}}(x^*) \\ d_{f_{i_2}}(x^*) \\ \cdots \\ d_{f_{i_s}}(x^*) \\ \lambda_1 \\ \lambda_2 \\ \cdots \\ \lambda_{n-s} \end{pmatrix} \neq 0$$

Para cada $\lambda \in [0,1]$, si $\{f_{i_1}, f_{i_2}, \ldots, f_{i_s}\}$ es linealmente independiente, también lo es el conjunto $\{f_{i_1} + \lambda\, g_{i_1}, f_{i_2} + \lambda\, g_{i_2} \ldots, f_{i_s} + \lambda\, g_{i_s}\}$, y por lo tanto,

$$det \begin{pmatrix} d_{f_{i_1}+\lambda g_{i_1}}(x^*) \\ d_{f_{i_2}+\lambda g_{i_2}}(x^*) \\ \cdots \\ d_{f_{i_s}+\lambda g_{i_s}}(x^*) \\ \lambda_1 \\ \lambda_2 \\ \cdots \\ \lambda_{n-s} \end{pmatrix} \neq 0.$$

Usando el mismo Lema podemos afirmar que $ker\,(J_{F_\lambda}(x^*,\, \lambda\kappa')) \cap S = \{0\}\, \forall \lambda \in [0,1]$. En particular vale que

$$ker\,(J_{F_1}(x^*,\, \kappa')) \cap S = \{0\}$$

es decir, x^* es un estado estacionario no degenerado de la red $(G, (\kappa^*, \kappa'))$.

Por la Proposición 2.3.5, sabemos que existe un entorno del punto x^*, Ω' donde se verifica

$$ker\,(J_{F_1}(x,\, \kappa')) \cap S = \{0\}, \forall x \in \Omega'.$$

Si tomamos $\widetilde{\Omega} \subseteq \Omega \cap \Omega'$, y eventualmente achicando aún más el vector de parámetros, lo llamamos $\tilde{\kappa}$, probamos que la familia de funciones $F_\lambda(x, \tilde{\kappa}) : \overline{\widetilde{\Omega}} \to S$ verifica:

- Es una familia de clase $C^1(\widetilde{\Omega})$ que varía continuamente con λ,
- $\forall\, \lambda \in [0,1]\ F_\lambda(x, \tilde{\kappa}) \neq 0, \forall\, x \in \partial\widetilde{\Omega}$,
- Para $\lambda = 0, \lambda = 1\ ker(J_{F_\lambda}(x, \tilde{\kappa})) \cap S = \{0\}, \forall\, x \in \widetilde{\Omega}$.

Entonces la familia de funciones F_λ está en las hipótesis del Lema 2.4.8 y, por lo tanto, podemos concluir que la cantidad de raíces de $F_0(x, \tilde{\kappa})$ en $\widetilde{\Omega}$ es igual a la cantidad de raíces de $F_1(x, \tilde{\kappa})$ en $\widetilde{\Omega}$, o, en este caso, la cantidad de estados estacionarios no degenerados de la subred (U, κ^*) en $\widetilde{\Omega}$ es igual a la cantidad de estados estacionarios no degenerados de la red $(G, (\kappa^*, \tilde{\kappa}))$ en el entorno $\widetilde{\Omega}$. Como asumimos que x^* es el único estado estacionario de (U, κ^*) en $\widetilde{\Omega}$, podemos afirmar que la red $(G, (\kappa^*, \tilde{\kappa}))$ tiene un estado estacionario en $\widetilde{\Omega}$ que lo *levantamos* desde el punto x^* en el sentido de que conviven en un mismo entorno, son puntos cercanos. La red G podría tener más estados estacionarios que no se correspondan con los de la subred U.

Con el otro estado estacionario, x^{**}, procedemos de la misma manera, teniendo cuidado de que el entorno $\Omega \subset S + x(0)$ que contiene a x^{**} no interseque al entorno considerado anteriormente $\widetilde{\Omega}$, lo cual es posible porque los estados estacionarios no degenerados son aislados en su clase como vimos en la Proposición 2.3.7.

Entonces, como la subred U admite al menos dos estados estacionarios distintos, la red G admite al menos la misma cantidad.

Para el resultado de estabilidad notamos que los autovalores de la matriz jacobiana varían continuamente bajo perturbaciones continuas de λ. Si los estados estacionarios que admite U además verifican que son exponencialmente estables, los autovalores no nulos de la matriz jacobiana de f_U evaluada en cada punto tienen parte real negativa y también lo harán los autovalores asociados a la matriz jacobiana de la red G. □

Capítulo 3

Sistemas con estructura MESSI

En este capítulo describiremos redes de reacciones químicas que tienen una estructura particular, llamada estructura MESSI, que fue caracterizada por Dickenstein y Pérez Millán en su trabajo [MD18], donde se presenta la definición junto a resultados generales basados en la estructura de la red. Su nombre proviene de las siglas en inglés de *Modification of type Enzyme-Substrate or Swap with Intermediates*.

La presencia de esta estructura permite probar resultados generales para mecanismos bastante diferentes entre sí. El ingrediente básico de una estructura MESSI es una partición del conjunto de especies en subconjuntos disjuntos con ciertas reglas que presentaremos a continuación. Esta separación de las especies químicas está en concordancia con la agrupación de las especies de acuerdo a su función química o su rol en la red.

Presentamos también un algoritmo que decide si una red con estructura MESSI es monoestacionaria o multiestacionaria, en caso de admitir múltiples estados estacionarios el algoritmo muestra *testigos de multiestacionariedad*: dos puntos distintos en la misma clase de compatibilidad estequiométrica junto al vector de parámetros que definen la variedad y cantidades totales de las leyes de conservación. Este algoritmo también está presente en [MD18] y está en vías de implementación por el Lic. Guillermo Mosse bajo la coordinación de las Dras. Pérez Millán y Dickenstein [Mos20].

Usaremos la implementación del algoritmo para mostrar resultados en el Capítulo 5. Existe un software general en DOS que permite obtener testigos de multiestacionariedad [ea], pero es una caja negra ya que no tiene documentación y no está particularmente adaptado para estos sistemas.

3.1. Definición de los sistemas MESSI

Describiremos a continuación las características que debe presentar una red para ser clasificada como Red MESSI.

Definición 3.1.1. Una red de reacciones químicas tiene **estructura MESSI** si hay una *partición* $\mathscr{S}$, que es una descomposición en subconjuntos disjuntos, del conjunto $\mathcal{X}$ de especies involucradas en la red,

$$\mathscr{S} = \mathscr{S}^{(0)} \bigsqcup \mathscr{S}^{(1)} \bigsqcup \mathscr{S}^{(2)} \bigsqcup \cdots \bigsqcup \mathscr{S}^{(m)}, \tag{3.1}$$

donde $m \geq 1$ y $\bigsqcup$ representa una unión disjunta, de manera tal que las especies involucradas en la red verifican las condiciones que daremos a continuación.
Notaremos al cardinal de cada subconjunto $\#\mathscr{S}^{(\alpha)} = n_\alpha$ para $\alpha \geq 0$ y $\sum_{\alpha\geq 0} n_\alpha = n = \#\mathcal{X}$. El valor n_0 podría ser 0, pero asumimos que todo el resto de los subconjuntos son no vacíos, por lo tanto, asumimos n_α positivo $\forall \alpha \in \{1, \ldots, m\}$. Las especies del conjunto $\mathscr{S}^{(0)}$ se llaman **especies intermedias**, y las especies del resto de los conjuntos $\mathscr{S}_1 := \mathscr{S} \setminus \mathscr{S}^{(0)}$ se llaman **especies core**.

El conjunto de complejos $\mathcal{Y}$ presentes en la red también puede separarse en dos conjuntos disjuntos, a saber:

(i) **Complejos intermedios**: cada complejo intermedio está formado por una única especie intermedia que sólo aparece en ese complejo. Los agrupamos en el subconjunto $\mathscr{S}^{(0)}$.

(ii) **Complejos core**: son monomoleculares o bimoleculares, es decir, involucran a lo sumo dos especies core. Cuando un complejo core involucra dos especies core, X_i, X_j, cada una de ellas debe pertenecer a un conjunto *distinto* de la partición: $\mathscr{S}^{(\alpha)}, \mathscr{S}^{(\beta)}$ con $\alpha \neq \beta$, $\alpha, \beta > 0$. Al complejo $X_i + X_j = X_j + X_i$ lo notaremos y_{ij}.

Decimos que el complejo y reacciona al complejo y' **vía intermedios** si existe la reacción $y \to y'$ en la red o existe un camino dirigido de y a y' que sólo involucra especies intermedias. En este caso notaremos $y \to_\circ y'$.
Los complejos intermedios de una red MESSI deben verificar además:

($\mathcal{C}$) Para cada complejo intermedio y_k existe un camino que lo contiene y existen complejos core $y_{ij}, y_{\ell m}$ tales que $y_{ij} \to_\circ y_k$ y $y_k \to_\circ y_{\ell m}$ (es el producto de alguna reacción y es la fuente de alguna reacción). Es decir, a él llegan y de él salen flechas (de aquí su nombre).

Las reacciones de una red MESSI están limitadas por las siguientes reglas:

($\mathcal{R}_1$) Si tres especies están relacionadas por $X_i + X_j \to_\circ X_k$ o $X_k \to_\circ X_i + X_j$, entonces X_k es una especie intermedia.

($\mathcal{R}_2$) Si dos especies core están relacionadas $X_i \to_\circ X_j$, entonces existe $\alpha > 0$ tal que ambas especies pertenecen al mismo subconjunto $\mathscr{S}^{(\alpha)}$.

($\mathcal{R}_3$) Si existe un camino $X_i + X_j \to_\circ X_\ell + X_k$, entonces existen $\alpha \neq \beta$ tales que $X_i, X_\ell \in \mathscr{S}^{(\alpha)}, X_j, X_k \in \mathscr{S}^{(\beta)}$ o bien $X_i, X_k \in \mathscr{S}^{(\alpha)}, X_j, X_\ell \in \mathscr{S}^{(\beta)}$.

Entonces, si existe una partición del conjunto de las especies en la red que verifica todas las condiciones hasta aquí descriptas, decimos que la partición (3.1) define una estructura MESSI en la red.

Si una red con estructura MESSI es modelada bajo la hipótesis de cinética de acción de masas, llamaremos *Sistema MESSI* al sistema de ecuaciones diferenciales asociado que modela la dinámica de la red. Notaremos con letra minúscula x_i a la concentración de la especie core X_i y, en general, notaremos con Y_k las especies intermedias y con u_k a su concentración.

Ejemplo 3.1.2. El siguiente esquema representa una *cascada enzimática* con un nivel de fosforilación/desfosforilación:

La fosforilación es la adición de un grupo fosfato a cualquier otra molécula. En el metabolismo, la fosforilación es el mecanismo básico de transporte de energía desde los lugares donde se produce hasta los lugares donde se necesita. Asimismo, es uno de los principales mecanismos de regulación de la actividad de proteínas en general y de las enzimas en particular.

$$S_0 + E \underset{\kappa_{12}}{\overset{\kappa_{11}}{\rightleftarrows}} Y_1 \overset{\kappa_{13}}{\to} S_1 + E$$
$$S_1 + F \underset{\kappa_{22}}{\overset{\kappa_{21}}{\rightleftarrows}} Y_2 \overset{\kappa_{23}}{\to} S_0 + F$$

Las especies E y F son enzimas catalizadoras de la reacción, aceleran la velocidad a la que ésta se produce, el sustrato S_0 tiene un lugar para su fosforilación o adhesión de un grupo fosfato y el sustrato S_1 está activado, tiene un grupo fosfato adherido. En la primera componente de la red se produce la fosforilación y en la segunda componente se produce la desfosforilación (el mecanismo inverso).

Una partición del conjunto de especies $\mathcal{X} = \{S_0, S_1, E, F, Y_1, Y_2\}$ que define una estructura MESSI en la red es:

$\mathscr{S}^{(0)} = \{Y_1, Y_2\}$, especies o complejos intermedios.

$\mathscr{S}^{(1)} = \{S_0, S_1\}$; $\mathscr{S}^{(2)} = \{E\}$; $\mathscr{S}^{(3)} = \{F\}$, subconjuntos de especies core.

Es fácil verificar que se cumplen todas las condiciones detalladas anteriormente.

Observación 3.1.3. La partición no es única. Otra partición que podríamos definir para el Ejemplo 3.1.2 es: $\mathscr{S}'^{(0)} = \{Y_1, Y_2\}$; $\mathscr{S}'^{(1)} = \{S_0, S_1\}$; $\mathscr{S}'^{(2)} = \{E, F\}$; que también verifica las condiciones de la definición y, por ende, también define una estructura MESSI en la misma red.

Definición 3.1.4. Dadas dos particiones

$$\mathscr{S} = \mathscr{S}^{(0)} \bigsqcup \mathscr{S}^{(1)} \bigsqcup \mathscr{S}^{(2)} \bigsqcup \cdots \bigsqcup \mathscr{S}^{(m)},$$

y

$$\mathscr{S}' = \mathscr{S}'^{(0)} \bigsqcup \mathscr{S}'^{(1)} \bigsqcup \mathscr{S}'^{(2)} \bigsqcup \cdots \bigsqcup \mathscr{S}'^{(m')}$$

decimos que $\mathscr{S}$ *refina* a $\mathscr{S}'$ si y sólo si $\mathscr{S}^{(0)} \supseteq \mathscr{S}'^{(0)}$ y para cada $\alpha > 0$ existe un $\alpha' > 0$ tal que $\mathscr{S}^{(\alpha)} \subseteq \mathscr{S}'^{(\alpha')}$.

Esto define un orden parcial en el conjunto de particiones y con este orden tenemos la noción de *partición minimal*: aquella que no puede ser refinada.

En el Ejemplo 3.1.2 la partición $\mathscr{S}$ es una partición minimal que refina a la partición $\mathscr{S}'$ dada en la Observación 3.1.3.

Como dijimos al comienzo de este capítulo, el nombre de esta estructura proviene de las siglas de *Modification of type Enzime-Substrate or Swap with Intermediates*. Definimos a continuación la clasificación de un comportamiento enzimático y el concepto de *Swap*:

Definición 3.1.5. Una especie X_j que participa en una reacción de la forma

$$X_i + X_j \to_\circ X_\ell + X_j$$

para algunas especies core X_i, X_ℓ se dice que actúa como *enzima*. En este caso llamamos a X_i el sustrato y a X_ℓ el producto de la reacción. Una reacción vía intermedios se llama un *Swap* si $X_i + X_j \to_\circ X_\ell + X_k$, y $i, j \notin \{\ell, k\}$, es decir, ni X_i ni X_j actúa como enzima en esa reacción.

3.2. Leyes de conservación en sistemas MESSI

Dada una red MESSI y una partición que verifica las condiciones dadas en la Definición 3.1.1, para cada $\alpha > 0$ definimos el conjunto

$$\text{Int}(\alpha) = \left\{k : \text{existe } \ y_{ij} \to_\circ y_k \ \ \text{con } X_i \in \mathscr{S}^{(\alpha)} \text{ o } X_j \in \mathscr{S}^{(\alpha)}\right\}. \tag{3.2}$$

$\text{Int}(\alpha)$ es el conjunto de índices de los complejos intermedios que participan en alguna reacción en la cual la fuente es un complejo core que tiene alguna de sus especies en el conjunto $\mathscr{S}^{(\alpha)}$.

Veremos a continuación que las siguientes formas lineales con coeficientes $\{0, 1\}$ definen leyes de conservación para un sistema MESSI:

$$\ell_\alpha(u, x) \ = \ C_\alpha, \text{ donde } \ \ell_\alpha(u, x) = \sum_{X_i \in \mathscr{S}^{(\alpha)}} x_i + \sum_{k \in \text{Int}(\alpha)} u_k \tag{3.3}$$

para alguna constante C_α que es positiva si la trayectoria corta al ortante positivo.

El siguiente Teorema da condiciones suficientes para garantizar que las formas lineales dadas por (3.3) generan *todas* las leyes de conservación del sistema. Luego presentaremos la Proposición 3.2.2 que establece condiciones para asegurar que el subespacio estequiométrico y el subespacio cinético de la red coincidan.

Teorema 3.2.1. *Sea G una red de reacciones químicas y sea $\mathscr{S}$ una partición del conjunto de especies como en (3.1) que define una estructura MESSI. Para cada subconjunto $\mathscr{S}^{(\alpha)}$, $1 \le \alpha \le m$ la forma lineal ℓ_α que figura en (3.3) define una ley de conservación para el sistema. En particular, todos los sistemas MESSI son conservativos. Además, si la red G no tiene swaps y la partición es minimal según el orden parcial presentado en la Definición 3.1.4, entonces $dim(S^\perp) = m$. Si, además, el subespacio estequiométrico coincide con el subespacio cinético de la red, entonces las únicas posibles leyes de conservación presentes en el sistema son generadas por la ecuación (3.3), para cada $1 \le \alpha \le m$.*

Para presentar los siguientes resultados recordamos que una componente conexa de un grafo es aquella en la cual todos los nodos están conectados por algún camino no dirigido. Un grafo puede tener una única componente conexa (en este caso decimos que el grafo es conexo) o varias componentes conexas. Una componente conexa es terminal cuando de ella no salen flechas que la conecten con un nodo perteneciente a otra componente conexa.

La siguiente proposición es la Proposición 3.6 en [MD18].

Proposición 3.2.2. *Si el grafo dirigido de la red G tiene en cada componente conexa una única componente terminal fuertemente conexa, la cantidad de leyes de conservación linealmente independientes es n − dim(S), donde n es la cantidad de especies en la red y S es el subespacio estequiométrico asociado. En este caso el subespacio estequiométrico y el subespacio cinético de la red coinciden.*

Cuando existe más de una componente terminal fuertemente conexa en alguna componente conexa del grafo podemos encontrar otras relaciones de conservación que no están definidas por las ecuaciones (3.3).

3.3. Grafos asociados a una red con estructura MESSI

Consideremos un grafo dirigido $G = (\mathcal{V}, \mathcal{E})$ en un conjunto $\mathcal{X}$ con n especies. $\mathcal{V}$ es el conjunto de vértices o nodos y $\mathcal{E}$ el conjunto de ejes. Sea $\kappa \in \mathbb{R}^{\#\mathcal{E}}$ el vector de parámetros presentes en las etiquetas de los ejes. Y sea $\mathscr{S}$ una partición como en (3.1) que define una estructura MESSI para G.

Asociamos con G tres nuevos grafos dirigidos que los notamos: G_1, G_2, G_E y los definimos a continuación. Para leer las definiciones completas y profundizar en las características y usos de estos grafos ver [MD18]:

Definición 3.3.1. El grafo $G_1 = (\mathcal{V}_1, \mathcal{E}_1)$ se obtiene eliminando del grafo G todas las especies intermedias. Hereda la partición $\mathscr{S}_1 = \mathscr{S} \setminus \mathscr{S}^{(0)}$, que define una estructura MESSI para G_1. Los complejos core de G_1 son los mismos que los de G y existe un eje entre dos complejos core $y \to y'$ si existía en G un camino dirigido vía intermedios entre esos complejos, es decir, cada vez que $y \to_\circ y'$ estaba presente en G. Las etiquetas de las reacciones las cambiamos por una función racional en los parámetros con denominador no nulo $\tau = \tau(\kappa)$, de manera tal que si lo vemos como un sistema bajo cinética de acción de masas, da lugar a un nuevo sistema $\dot{x'} = f^1(x')$ asociado a la red G_1 cuya variedad de estados estacionarios $V_{\tau(\kappa)}(f^1)$ es una proyección de la variedad de estados estacionarios $V_\kappa(f)$ del sistema $\dot{x} = f(x)$ asociado a la red G. Una vez conocidas las concentraciones de las especies core en estados estacionarios, se podrá determinar la concentración de las especies intermedias en la red original. Ver Teorema 3.1 en [FW13a].

El grafo $G_2 = (\mathcal{V}_2, \mathcal{E}_2)$ es un multigrafo en el cual las etiquetas de los ejes *esconderán* las concentraciones de algunas especies. Las especies son las mismas que participan en G_1, los complejos core de la red original G, con la partición inducida $\mathscr{S}_1$. El conjunto de ejes $\mathcal{E}_2$ está conformado por todas las reacciones monomoleculares $X_i \to X_j$ presentes en $\mathcal{E}_1$, y por cada reacción de la forma $X_i + X_\ell \xrightarrow{\tau} X_j + X_m$ en $\mathcal{E}_1$, con $X_i, X_j \in \mathscr{S}^{(\alpha)}$, $X_\ell, X_m \in \mathscr{S}^{(\beta)}$, agregamos dos reacciones al conjunto $\mathcal{E}_2$: $X_i \xrightarrow{\tau x_\ell} X_j$ y $X_\ell \xrightarrow{\tau x_i} X_m$. Así obtenemos en principio un multigrafo MG_2 que podría contener *loops* o ejes paralelos entre cualquier par de nodos. Definimos el grafo dirigido G_2 juntando en un único eje los posibles ejes paralelos presentes en MG_2, y definimos las etiquetas de esas reacciones como la suma de las etiquetas de los ejes paralelos. Notamos G_2° el grafo dirigido que se obtiene al eliminar los loops y nodos aislados del grafo G_2. El grafo G_2 es lineal,

cada vértice de $\mathcal{V}_2$ representa una especie. Las etiquetas de las reacciones dependen de los parámetros τ del grafo G_1 y también podrían depender de las concentraciones de las especies. Como consecuencia de las reglas que deben verificar las reacciones de una red con estructura MESSI, notamos que para cada $\alpha > 0$, si alguna especie de $\mathscr{S}^{(\alpha)}$ aparece en un vértice de G_2, todas las especies presentes en la misma componente conexa también son especies del mismo subconjunto de la partición $\mathscr{S}^{(\alpha)}$.

Ahora definimos el último grafo asociado que vamos a considerar, G_E, que es un poco diferente a los anteriores ya que los nodos van a representar a los subconjuntos de la partición y los ejes van a representar una relación entre estos subconjuntos:

Definición 3.3.2. Consideramos una red G con estructura MESSI y una partición minimal del conjunto de especies. Sean G_2 y G_2° como en la Definición 3.3.1. El conjunto de nodos del grafo $G_E = (\mathcal{V}_E, \mathcal{E}_E)$ está definido $\mathcal{V}_E = \{\mathscr{S}^{(\alpha)}, \alpha \geq 1\}$, y el par $\left(\mathscr{S}^{(\alpha)}, \mathscr{S}^{(\beta)}\right)$ es un eje del conjunto $\mathcal{E}_E$ cuando en el grafo G_2° existe una especie de $\mathscr{S}^{(\alpha)}$ en la etiqueta de un eje entre (distintas) especies del conjunto $\mathscr{S}^{(\beta)}$.

Como en cada componente conexa de G_2 participan todas las especies de uno de los subconjuntos de la partición, cada componente conexa de G_2 está en correspondencia con uno de los nodos en G_E.

Ejemplo 3.3.3. La siguiente red corresponde a una cascada enzimática con 2 niveles de fosforilación/desfosforilación. El primer nivel es igual a la red que figura en el Ejemplo 3.1.2. En el segundo nivel, el sustrato activado S_1 actúa como enzima catalizadora de la reacción.

$$S_0 + E \underset{\kappa_2}{\overset{\kappa_1}{\rightleftarrows}} Y_1 \xrightarrow{\kappa_3} S_1 + E \qquad P_0 + S_1 \underset{\kappa_8}{\overset{\kappa_7}{\rightleftarrows}} Y_3 \xrightarrow{\kappa_9} P_1 + S_1$$

$$S_1 + F \underset{\kappa_5}{\overset{\kappa_4}{\rightleftarrows}} Y_2 \xrightarrow{\kappa_6} S_0 + F \qquad P_1 + F \underset{\kappa_{11}}{\overset{\kappa_{10}}{\rightleftarrows}} Y_4 \xrightarrow{\kappa_{12}} P_0 + F$$

La partición minimal que define una estructura MESSI en la red:

$$\mathscr{S}^{(0)} = \{Y_1, Y_2, Y_3, Y_4\},\ \mathscr{S}^{(1)} = \{S_0, S_1\},\ \mathscr{S}^{(2)} = \{P_0, P_1\},\ \mathscr{S}^{(3)} = \{E\},\ \mathscr{S}^{(4)} = \{F\}$$

A continuación los grafos asociados a esta red:

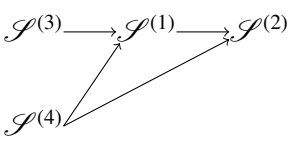
G_1:

$$\begin{aligned} S_0 + E &\xrightarrow{\tau_1} S_1 + E \\ S_1 + F &\xrightarrow{\tau_2} S_0 + F \\ P_0 + S_1 &\xrightarrow{\tau_3} P_1 + S_1 \\ P_1 + F &\xrightarrow{\tau_4} P_0 + F \end{aligned}$$

G_2°:

$$S_0 \underset{\tau_2 f}{\overset{\tau_1 e}{\rightleftarrows}} S_1 \qquad P_0 \underset{\tau_4 f}{\overset{\tau_3 s_1}{\rightleftarrows}} P_1$$

G_E:



El grafo asociado G_2 contiene además de las dos componentes conexas que figuran en G_2° dos nodos aislados correspondientes a las especies E y F, y un loop en el nodo S_1.

3.4. Parametrización de los estados estacionarios

En muchos casos podremos parametrizar los estados estacionarios positivos de un sistema MESSI. El Teorema 3.4.1 nos dará una pauta de cuándo esta parametrización es posible. Aclaramos que el **grado** de un nodo en un grafo dirigido es la cantidad de flechas que llegan a él y recordamos que un grafo es débilmente reversible si cada componente conexa es fuertemente conexa.

Teorema 3.4.1. *Sea G un grafo dirigido asociado a un sistema MESSI. Si el digrafo asociado G_2 es débilmente reversible y G_E no contiene ciclos dirigidos, entonces, la variedad de estados estacionarios positivos, $V_\kappa(f) \cap \mathbb{R}^n_{>0}$ admite una parametrización racional que puede ser calculada algorítmicamente. Explícitamente, es posible definir niveles para los conjuntos $\mathscr{S}^{(\alpha)}, \alpha > 0$ de acuerdo a su grado en G_E. Para cualquier elección de un índice i_α en cada $\mathscr{S}^{(\alpha)}$, la concentración de cada especie core x_i en $\mathscr{S}^{(\beta)}$ puede ser descripta de manera racional en términos de x_{i_β} y de las variables x_{i_α} para las cuales el grado de $\mathscr{S}^{(\alpha)}$ sea estrictamente menor que el grado de $\mathscr{S}^{(\beta)}$.*

Además, si la partición es minimal con m conjuntos de especies core, la dimensión de $V_\kappa(f) \cap \mathbb{R}^n_{>0}$ es igual a m y $m = dim(S^\perp)$.

Idea de la demostración.

- Si el grafo asociado G_2 es débilmente reversible, existirá una parametrización racional de los estados estacionarios positivos: como el grafo G_2 es lineal, podremos aplicar el Teorema 1.6.7 del Capítulo 1 (Matrix-tree) a cada componente (fuertemente) conexa del grafo G_2 (supongamos para facilitar la notación que G_2 tiene una única componente conexa): si $x \in \mathbb{R}^n_{>0}$ es un estado estacionario de la red, por el Teorema 1.6.7, existe $\lambda \in \mathbb{R}$ tal que $x = \lambda\rho(G_2)$ donde $\rho(G_2) := \begin{pmatrix} \rho_1(G_2) \\ \rho_2(G_2) \\ \vdots \\ \rho_n(G_2) \end{pmatrix}$,

  entonces

  $$rango\begin{pmatrix} x_1 & x_2 & \cdots & x_n \\ \rho_1(G_2) & \rho_2(G_2) & \cdots & \rho_n(G_2) \end{pmatrix} = 1$$

  y por lo tanto, todos los menores de 2×2 tienen determinante igual a cero,

  $$\begin{vmatrix} x_i & x_j \\ \rho_i(G_2) & \rho_j(G_2) \end{vmatrix} = 0 \iff x_i\rho_j(G_2) - x_j\rho_i(G_2) = 0, \quad \forall i, j.$$

  Este razonamiento se puede replicar en cada componente fuertemente conexa del grafo G_2. Por construcción de G_2 y las reglas $(\mathcal{R}_2)$ y $(\mathcal{R}_3)$ que se verifican en una red con estructura MESSI, si la partición es minimal, cada componente conexa de G_2 contiene a *todas* las especies de un subconjunto de la partición, es decir, cada componente conexa de G_2 está en biyección con un subconjunto $\mathscr{S}^{(\alpha)}$ de $\mathscr{S}$ (con un único nodo del digrafo G_E). Entonces, si la partición $\mathscr{S}$ es minimal con m conjuntos de especies core, el grafo G_2 tiene m componentes terminales fuertemente conexas.

- Si el digrafo G_E no contiene ciclos dirigidos se podrán ordenar los conjuntos de la partición $\mathscr{S}$ según el grado del nodo correspondiente en dicho grafo. Para ordenarlos se definen los conjuntos de índices de los nodos en G_E:

$$L_0 = \left\{\beta \geq 1 : \text{ el grado de } \mathscr{S}^{(\beta)} \text{ en } G_E \text{ es } 0\right\}$$

$$L_k = \left\{\beta \geq 1 : \text{ para cada } \mathscr{S}^{(\gamma)} \to \mathscr{S}^{(\beta)} \text{ se verifica } \gamma \in L_t, \text{ con } t < k\right\} \setminus \bigcup_{t=0}^{k-1} L_t, k \geq 1.$$

  Bajo esta hipótesis, $L_0 \neq \emptyset$, lo que permitirá despejar inductivamente las variables para parametrizar los estados estacionarios. Al haber algún nodo con grado cero, existe un conjunto de la partición desde el cual *empezar a despejar* las variables. Lo que establece el teorema es que, elegido un índice i_β la concentración de la especie $X_{i_\beta} \in \mathscr{S}^{(\beta)}$ se podrá describir en términos de las concentraciones de las otras especies presentes en la misma componente conexa de G_2 (que forman parte del mismo subconjunto de la partición) y de las concentraciones de las especies X_{i_α} pertenecientes a los conjuntos $\mathscr{S}^{(\alpha)}$ que tengan grado estrictamente menor al grado de $\mathscr{S}^{(\beta)}$ en el grafo G_E. Por otro lado, el hecho de que el grafo G_E no contenga ciclos dirigidos, excluye la existencia de swaps en la red: si existiera $X_i + X_j \to X_k + X_\ell$ con $i \notin \{k, \ell\}$ y $j \notin \{k, \ell\}$, supongamos que $X_i, X_k \in \mathscr{S}^{(\alpha)}$ y $X_j, X_\ell \in \mathscr{S}^{(\beta)}$ con $\alpha \neq \beta$ (esto se verifica por la estructura de la red), existiría un ciclo dirigido en G_E, $\mathscr{S}^{(\alpha)} \rightleftarrows \mathscr{S}^{(\beta)}$. Si además la partición es minimal con m conjuntos de especies core, el Teorema 3.2.1 garantiza que $dim(S^\perp) = m$.

Definición 3.4.2. Un sistema MESSI es **tórico** si sus estados estacionarios positivos pueden ser descriptos con binomios. Llamamos red MESSI tórica a la red que tiene asociado un sistema que es tórico.

Los puntos reales positivos de una variedad algebraica *no vacía* descriptos por binomios siempre se pueden parametrizar con monomios de Laurent: son monomios con exponentes enteros que podrían ser negativos.

$$x_i \rho_j(G_2) - x_j \rho_i(G_2) = 0 \Longleftrightarrow x_i = \frac{\rho_i(G_2)}{\rho_j(G_2)} x_j$$

Entonces, si el sistema MESSI es consistente y tórico, existirá una parametrización racional de los estados estacionarios positivos (aún en el caso en que G_E contenga ciclos dirigidos). Recordamos que un sistema es consistente cuando existe algún vector no nulo en el núcleo de la matriz de estequiometría N, como vimos en (1.23), lo que garantiza la existencia de al menos un estado estacionario positivo y por lo tanto la variedad será no vacía.

Para definir los sistemas MESSI *estructuralmente tóricos* primero recordamos que un *spanning tree* o *árbol generador* $\mathcal{T}$ es un grafo conexo cuyo grafo subyacente no contiene ciclos. Y un *i-tree* de un digrafo es un spanning tree en el cual el i-ésimo vértice es el único del cual no salen flechas (ver Definición 1.6.4). Para el grafo asociado G_2 de

una red MESSI G, los productos de las etiquetas presentes en las reacciones del i-tree $\mathcal{T}$, $c^{\mathcal{T}}$, son monomios que dependen, en principio, de $\tau(\kappa)$ y de las concentraciones de las especies core.

Definición 3.4.3. Un sistema MESSI **estructuralmente tórico**, que llamamos de manera compacta **s-tórico**, es un sistema MESSI que verifica las siguientes condiciones:

(C_1) Se verifica la condición (C) de la definición de red con estructura MESSI y además, para cada especie intermedia y_k existe un único complejo core y_{ij} tal que $y_{ij} \to_\circ y_k$ en G.

(C_2) El multigrafo asociado MG_2 no tiene ejes paralelos (salvo quizás por la existencia de loops repetidos) y el digrafo G_2 es débilmente reversible.

(C_3) Para cada $i \in \{1, \dots, n\}$ y cualquier elección de i-trees $\mathcal{T}, \mathcal{T}'$ de G_2°, el cociente $\frac{c^{\mathcal{T}}}{c^{\mathcal{T}'}}$ sólo depende de las constantes $\tau(\kappa)$.

Por ejemplo, las cascadas enzimáticas de los Ejemplos 3.1.2 y 3.3.3, verifican todas las condiciones, en particular verifican la condición (C_3) dado que existe un único i-tree para cada i. Los sistemas asociados a estas cascadas enzimáticas son s-tóricos.

Se verifica que todo sistema MESSI s-tórico es tórico y además sus estados estacionarios positivos pueden ser descriptos por binomios explícitos. El siguiente Teorema corresponde al Teorema 4.8 del trabajo [MD18] y muestra explícitamente la parametrización de los estados estacionarios positivos.
Dada una especie intermedia Y_k de un sistema MESSI s-tórico, notaremos y_{ij} al único complejo core que reacciona vía intermedios con Y_k y definimos el monomio

$$x^{\varphi(k)} = \begin{cases} x_i\, x_j & \text{si} \quad y_{ij} = X_i + X_j \\ x_i & \text{si} \quad j = 0 \text{ y } y_{ij} = X_i. \end{cases}$$

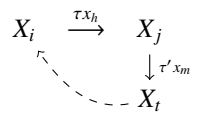
Teorema 3.4.4. *Todo sistema MESSI estructuralmente tórico es tórico. Además se pueden elegir $n - \ell$ binomios explícitos con coeficientes en $\mathbb{Q}(\kappa)$ que describen los estados estacionarios positivos, donde n es la cantidad total de especies presentes en la red y ℓ es la cantidad de componentes conexas del grafo asociado G_2.*
En particular, dada G una red MESSI y una partición de las especies como en (3.1), asumimos que para cada $\alpha \geq 1$ y $X_i \neq X_j \in \mathscr{S}^{(\alpha)}$ que pertenecen a la misma componente conexa de G_2 existe un único camino simple P_{ji} en G_2° de X_j a X_i.[1] *Luego, el sistema dinámico asociado es s-tórico y existen μ_k y η_{ij} en $\mathbb{Q}(\boldsymbol{\kappa})$ tales que los $n - \ell$ binomios que describen los estados estacionarios positivos se pueden elegir de la siguiente manera:*

$$u_k - \mu_k\, x^{\varphi(k)} = 0 \tag{3.4}$$

para cada especie intermedia Y_k $(1 \leq k \leq n_0)$,

$$x_h\, x_i - \eta_{ij}\, x_m\, x_j = 0 \tag{3.5}$$

si $X_i \xrightarrow{\tau x_h} X_j$ está en G_2° y $X_j \xrightarrow{\tau' x_m} X_t$ está en P_{ji}.



[1] Un *camino simple* es un camino que pasa por cada vértice exactamente una vez.

Ejemplo 3.4.5. Continuamos con el Ejemplo 3.3.3, recordamos que el grafo asociado G_2° es

$$S_0 \underset{\tau_2 f}{\overset{\tau_1 e}{\rightleftarrows}} S_1 \quad P_0 \underset{\tau_4 f}{\overset{\tau_3 s_1}{\rightleftarrows}} P_1,$$

y el grafo G_2 tiene, además, dos componentes conexas que corresponden a los nodos aislados E y F. Se puede ver que para cada vértice del grafo G_2° hay un único camino simple desde el otro vértice que está presente en la misma componente conexa. Por ejemplo, el único S_1-tree, $\mathcal{T}$, es $S_0 \overset{\tau_1 e}{\to} S_1$ y $c^{\mathcal{T}} = \tau_1\, e$.
Notamos las concentraciones de las especies intermedias Y_1, Y_2, Y_3, Y_4 con u_1, u_2, u_3, u_4, respectivamente. Las funciones racionales correspondientes $\mu_1, \ldots, \mu_4$ son:

$$\mu_1 = \frac{\kappa_1}{\kappa_2 + \kappa_3},\ \mu_2 = \frac{\kappa_4}{\kappa_5 + \kappa_6},\ \mu_3 = \frac{\kappa_7}{\kappa_8 + \kappa_9},\ \mu_4 = \frac{\kappa_{10}}{\kappa_{11} + \kappa_{12}}$$

Además notaremos $\eta_1 = \frac{\tau_2}{\tau_1}, \eta_2 = \frac{\tau_4}{\tau_3}$.

De acuerdo con el Teorema 3.4.4, los siguientes $10 - 4 = 6$ binomios describen los estados estacionarios positivos del sistema MESSI asociado:

$$\begin{array}{rclrclrcl} u_1 - \mu_1\, e\, s_0 & = & 0, & u_2 - \mu_2\, f\, s_1 & = & 0, & e\, s_0 - \eta_1\, f\, s_1 & = & 0, \\ u_3 - \mu_3\, s_1\, p_0 & = & 0, & u_4 - \mu_4\, f\, p_1 & = & 0, & s_1\, p_0 - \eta_2\, f\, p_1 & = & 0. \end{array}$$

Los primeros cuatro binomios corresponden a (3.4), y los últimos dos a (3.5).

Observación 3.4.6. Reconocer la existencia de una estructura MESSI en una red dada, verificar las hipótesis de todos los resultados aquí presentes, generar los grafos asociados y encontrar una parametrización racional de los estados estacionarios positivos son algorítmicos y solo dependen de la estructura y no de los parámetros particulares.

3.5. Hacia el algoritmo

Dado un sistema MESSI consistente y tórico, asociado a una red de reacciones químicas G, presentamos a continuación un algoritmo que decide si la red tiene la capacidad de multiestacionariedad y encuentra, en caso de existir, un vector de parámetros κ que garantiza la existencia de múltiples estados estacionarios en la misma clase de estequiometría o, por el contrario, decide que el sistema es monoestacionario. Para esto presentamos la notación, algunas definiciones y explicaremos los resultados en los cuales se basa el algoritmo.

3.5.1. Notación

Sea G una red MESSI. Asumimos que los estados estacionarios del sistema asociado pueden ser descriptos como las soluciones positivas de binomios de la forma $x^{v'} - \eta\, x^v$. Llamamos $T \subseteq \mathbb{R}^n$ al subespacio generado por los vectores $v' - v$. Sea B una matriz cuyas columnas forman una base de T. Consideramos el complemento ortogonal de T, $T^\perp \subseteq \mathbb{R}^n$

y una nueva matriz que notamos $B^\perp$ cuyas filas forman una base del subespacio $T^\perp$. Elegimos B y $B^\perp$ con entradas enteras. Por construcción $rango(B) = dim(T), rango(B^\perp) = dim(T^\perp)$.

Consideramos una matriz M cuyas columnas forman una base del subespacio estequiométrico S asociado a la red. Y construimos una matriz que notamos $M^\perp$ cuyas filas forman una base del subespacio ortogonal de S, $S^\perp$. Entonces $rango(M) = dim(S)$, $rango(M^\perp) = dim(S^\perp)$.

Sea $n \in \mathbb{N}$, notamos $[n] = \{1, \ldots, n\}$. Dada una matriz $A \in \mathbb{R}^{d\times n}$, $d \leq n$ y un subconjunto de índices $J \subseteq [n]$ notamos A_J a la submatriz de A formada por las columnas de índices en J. Notamos J^c al conjunto de índices que no están en J y $\nu(J) = \sum_{j\in J} j$. Un ortante $\mathcal{O} \subseteq \mathbb{R}^n$ queda definido por los signos de los puntos que viven en él, de manera que asociaremos cada ortante con un vector de $\{-1, 0, 1\}^n$ o equivalentemente $\{-, 0, +\}^n$.

Definición 3.5.1. Dadas las matrices $M, B, M^\perp$ y $B^\perp$ como las definimos anteriormente, con $rango(M) = rango(B) = s$, definimos los siguientes conjuntos de signos:

$$\begin{aligned}
\Sigma &= \left\{sgn\left(\det(M_J^t)\det(B_J^t)\right) : J \subseteq [n], \#J = s\right\},\\
\Sigma^\perp &= \left\{sgn\left((-1)^{\nu(J)}\det(M_J^\perp)\det(B_{J^c}^t)\right) : J \subseteq [n], \#J = n-s\right\},\\
\Sigma_\perp &= \left\{sgn\left((-1)^{\nu(J)}\det(M_{J^c}^t)\det(B_J^\perp)\right) : J \subseteq [n], \#J = n-s\right\},\\
\Sigma_\perp^\perp &= \left\{sgn\left(\det(M_J^\perp)\det(B_J^\perp)\right) : J \subseteq [n], \#J = n-s\right\}.
\end{aligned}$$

Diremos que un conjunto de signos $\sigma \neq \{0\}$ está mezclado si $\{-, +\} \subset \sigma$ y no-mezclado en otro caso.

A continuación presentamos el Lema 3.5.2 que es consecuencia del Lema 2.10 presente en [MFR+16] y las referencias que allí figuran.

Lema 3.5.2. *Con la notación de la Definición 3.5.1, si alguno de los conjuntos de signo $\Sigma, \Sigma^\perp, \Sigma_\perp, \Sigma_\perp^\perp$ es distinto de $\{0\}$, todos lo son. Además, si alguno de los conjuntos de signo está mezclado, todos lo están.*

El siguiente Teorema nos dará condiciones necesarias y suficientes para determinar si un sistema MESSI tórico es monoestacionario, basado en el Teorema 3.4 del trabajo ya citado [MFR+16] y el trabajo [PMDSC12].

Teorema 3.5.3. *Sea G una red MESSI tórica. Sean M y B matrices como las definidas anteriormente que verifican $rango(M) = rango(B) = s$ y los conjuntos de signo $\Sigma, \Sigma^\perp, \Sigma_\perp, \Sigma_\perp^\perp$ son distintos de $\{0\}$. Son equivalentes:*

1. *El sistema MESSI asociado es monoestacionario.*
2. *Los conjuntos de signo $\Sigma, \Sigma^\perp, \Sigma_\perp, \Sigma_\perp^\perp$ están no-mezclados.*
3. *Para todos los ortantes $\mathcal{O} \in \{-1, 0, 1\}^n, \mathcal{O} \neq 0$, $S \cap \mathcal{O} = \emptyset$ o $T^\perp \cap \mathcal{O} = \emptyset$.*

Observación 3.5.4. Se deduce del Teorema 3.5.3 que cuando el sistema es multiestacionario, podemos encontrar un ortante $\mathcal{O}$ tal que $S \cap \mathcal{O} \neq \emptyset$ y $T^\perp \cap \mathcal{O} \neq \emptyset$. Es decir, que ambos subespacios cortarán al mismo ortante.

Ejemplo 3.5.5. Dada la siguiente red:

$$S_0 + E \overset{\kappa_1}{\to} Y \overset{\kappa_2}{\to} S_1 + E \overset{\kappa_3}{\to} S_2 + E$$

$$S_2 + F \overset{\kappa_4}{\to} S_1 + F \overset{\kappa_5}{\to} S_0 + F$$

La estructura MESSI queda determinada por la partición minimal:

$$\mathscr{S}^{(0)} = \{Y\};\ \mathscr{S}^{(1)} = \{S_0, S_1, S_2\};\ \mathscr{S}^{(2)} = \{E\},\ \mathscr{S}^{(3)} = \{F\}$$

Consideramos el orden de las especies (por orden de aparición) $\{S_0, E, Y, S_1, S_2, F\}$, notamos con minúsculas sus concentraciones $x = (s_0, e, y, s_1, s_2, f)$.

El sistema de ecuaciones asociado es:

$$\begin{cases} \dot{s_0} &= -\kappa_1 s_0\, e + \kappa_5 s_1\, f \\ \dot{e} &= -\kappa_1 s_0\, e + \kappa_2\, y \\ \dot{y} &= \kappa_1 s_0\, e - \kappa_2\, y \\ \dot{s_1} &= \kappa_2\, y - \kappa_3 s_1\, e + \kappa_4 s_2\, f - \kappa_5 s_1\, f \\ \dot{s_2} &= \kappa_3 s_1\, e - \kappa_4 s_2\, f \\ \dot{f} &= 0 \end{cases}$$

Los grafos asociados G_1 y G_2° son:

G_1:

$$S_0 + E \overset{\tau_1}{\to} S_1 + E \overset{\kappa_3}{\to} S_2 + E$$
$$S_2 + F \overset{\kappa_4}{\to} S_1 + F \overset{\kappa_5}{\to} S_0 + F$$

G_2°:

$$S_0 \underset{\kappa_5 f}{\overset{\tau_1 e}{\rightleftarrows}} S_1 \underset{\kappa_4 f}{\overset{\kappa_3 e}{\rightleftarrows}} S_2$$

El grafo asociado G_2 tiene, además, dos componentes conexas que corresponden a los nodos aislados E y F. Usando el Teorema 3.4.4 podemos ver que los siguientes $6 - 3 = 3$ binomios parametrizan estados estacionarios del sistema:

$$\kappa_1 s_0\, e - \kappa_2 y = 0,\ \ \tau_1 s_0\, e - \kappa_5 s_1\, f = 0,\ \ \kappa_3 s_1\, e - \kappa_4 s_2\, f = 0, \tag{3.6}$$

donde $\tau_1 = \kappa_1$. La primera ecuación corresponde a (3.4), las últimas dos corresponden a (3.5). Construimos una matriz M cuyas columnas forman una base del subespacio estequiométrico S y $M^\perp$ cuyas filas forman una base de $S^\perp$:

$$M = \begin{pmatrix} -1 & 0 & 0 \\ -1 & 1 & 0 \\ 1 & -1 & 0 \\ 0 & 1 & -1 \\ 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad M^\perp = \begin{pmatrix} 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & -1 & 0 & 1 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

De las ecuaciones en (3.6) podemos deducir que T está generado por los vectores:

$$T = \langle (1, 1, -1, 0, 0, 0); (1, 1, 0, -1, 0, -1); (0, 1, 0, 1, -1, -1) \rangle$$

Con esto construimos una matriz B que contiene en sus columnas una base de T y otra matriz $B^{\perp}$ que contiene en sus filas una base de $T^{\perp}$:

$$B = \begin{pmatrix} -1 & 1 & 0 \\ -1 & 1 & 1 \\ 1 & 0 & 0 \\ 0 & -1 & 1 \\ 0 & 0 & -1 \\ 0 & -1 & -1 \end{pmatrix} \quad B^{\perp} = \begin{pmatrix} 2 & -1 & 1 & 1 & 0 & 0 \\ -1 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

El rango de las matrices M y B es igual a 3. Calcularemos el conjunto de signos dado por:

$$\Sigma = \left\{ sgn\left(\det(M_J^t)\det(B_J^t)\right) : \ J \subseteq [6], \ \#J = 3 \right\}$$

donde J representa al conjunto de índices de las columnas de las matrices correspondientes.

La siguiente tabla reúne la información que necesitamos para comprobar que el conjunto de signos Σ está mezclado (y por el Lema 3.5.2 todos los demás también), y por lo tanto podemos concluir, a partir del resultado del Teorema 3.5.3, que la red resulta multiestacionaria:

J	$det(M_J^t)$	$det(B_J^t)$	SIGNO
{1; 2; 4}	1	-1	-
{1; 3; 4}	-1	-1	+

Más adelante, usando el Teorema 3.5.7, veremos cómo construir dos estados estacionarios positivos que pertenezcan a la misma clase de compatibilidad estequiométrica para este mismo ejemplo.

La siguiente proposición nos dará una condición suficiente para que se verifique la hipótesis del Teorema 3.5.3 que pide que los rangos de las matrices M y B coincidan.

Proposición 3.5.6. *Sea G una red MESSI s-tórica. Asumimos que la partición que define esta estructura es minimal con m conjuntos de especies core y que el grafo asociado G_E no contiene ciclos dirigidos. Entonces rango$(B^{\perp})$ = rango$(M^{\perp})$ = m.*

Si un sistema MESSI no es monoestacionario, podemos construir efectivamente dos estados estacionarios distintos $\mathbf{x}^1, \mathbf{x}^2$ y un vector de parámetros κ que servirán como *testigos de multiestacionariedad*. El siguiente teorema nos indica cómo construirlos. Continuamos usando la misma notación, S es el subespacio estequiométrico de la red y $T^{\perp}$ el subespacio definido al comienzo de esta sección.

Teorema 3.5.7. *Sea G una red MESSI consistente que satisface las hipótesis del Teorema 3.5.3 y tal que el sistema asociado $\dot{x} = f(x, \kappa)$ modelado bajo cinética de acción de masas es tórico y no monoestacionario. Para cualquier elección de vectores $w \in S, v \in T^{\perp}$ que pertenezcan al mismo ortante, los vectores positivos $\mathbf{x}^1$ y $\mathbf{x}^2$ definidos por:*

$$\mathbf{x}^1 : \left(x_i^1\right)_{i=1,\ldots,s} = \begin{cases} \frac{w_i}{e^{v_i}-1}, & si\ v_i \neq 0 \\ a \in \mathbb{R}_{>0} & en\ otro\ caso \end{cases}$$

$$\mathbf{x}^2 : \left(x_i^2\right)_{i=1,\ldots,s} = e^{v_i}\, x_i^1$$

(donde a puede tomar cualquier valor positivo), son dos estados estacionarios (distintos) del sistema, pertenecientes a la misma clase de compatibilidad estequiométrica, para cualquier vector de parámetros κ que sea solución positiva de $f(\mathbf{x}^1, \kappa) = 0$.

Demostración. Como el sistema MESSI asociado es consistente y tórico sabemos que la variedad de estados estacionarios positivos es no vacía y se puede describir con binomios $x^{v'} - \eta\, x^{v}$. Nuevamente, llamemos T al subespacio generado por los vectores $v' - v$. Entonces, los estados estacionarios pueden parametrizarse por monomios de la forma

$$V_{\kappa(>0)}(f) = \left\{ x_i = \mu_i(\kappa)\, t^{A_i}, i = 1, \ldots, n,\ t \in \mathbb{R}^d_{>0} \right\}$$

donde $1 \leq d \leq n-1$; $\mu_1, \ldots, \mu_n$ son funciones racionales de las constantes κ con denominador no nulo y si llamamos A a la matriz que tiene en sus columnas los vectores A_i:

$$A = \begin{pmatrix} | & | & & | \\ A_1 & A_2 & \ldots & A_n \\ | & | & & | \end{pmatrix} \in \mathbb{Z}^{d\times n} \text{ con } rango(A) = d,$$

el subespacio fila de la matriz A coincide con el subespacio $T^\perp$ ortogonal a T [Stu96].

Sean $w \in S, v \in T^\perp$ que pertenecen al mismo ortante, es decir, sus vectores de signo coinciden,

$$sgn(w_i) = sgn(v_i),\ \forall i = 1, \ldots, n.$$

En particular $w_i = 0 \Leftrightarrow v_i = 0$. Veamos que $\mathbf{x}^1$ y $\mathbf{x}^2$ son estados estacionarios del sistema que pertenecen a la misma clase de compatibilidad estequiométrica:

- Pertenecen a la misma S-clase: esto sucede si y sólo si $\mathbf{x}^2 - \mathbf{x}^1 \in S$.

Primero analicemos la diferencia,

$$\mathbf{x}^2 - \mathbf{x}^1 := \begin{cases} e^{v_i}\dfrac{w_i}{e^{v_i}-1} - \dfrac{w_i}{e^{v_i}-1} & \text{si } v_i \neq 0, \\ e^{v_i}\, a - a & \text{si } v_i = 0 \end{cases} = \begin{cases} w_i & \text{si } v_i \neq 0, \\ 0 & \text{si } v_i = 0, \end{cases}$$

para cualquier valor que tome $a \in \mathbb{R}_{>0}$. Basta ver que el producto escalar de $\mathbf{x}^2 - \mathbf{x}^1$ contra cualquier elemento $u \in S^\perp$ es igual a cero.

$$\langle u, \mathbf{x}^2 - \mathbf{x}^1 \rangle = \sum_{v_i \neq 0} u_i . \left(\mathbf{x}^2 - \mathbf{x}^1\right)_i + \sum_{v_i = 0} u_i . \left(\mathbf{x}^2 - \mathbf{x}^1\right)_i = \sum_{v_i \neq 0} u_i . w_i = \langle u, w \rangle = 0$$

la última igualdad es válida porque $u \in S^\perp$ y $w \in S$. Luego, $\forall u \in S^\perp$, $\langle u, \mathbf{x}^2 - \mathbf{x}^1 \rangle = 0$ y por lo tanto $\mathbf{x}^2 - \mathbf{x}^1 \in S$.

- Son estados estacionarios del sistema:

Como el sistema es consistente, sabemos que $ker(N) \cap \mathbb{R}^r_{>0} \neq \emptyset$. Sea $z \in ker(N) \cap \mathbb{R}^r_{>0}$ y $f(x, \kappa) = NR(x)$, definimos κ_{ij} para que se verifique la siguiente igualdad

$$R(x) = \begin{pmatrix} | \\ \kappa_{ij}\, (\mathbf{x}^1)^{y_i} \\ | \end{pmatrix} = z = \begin{pmatrix} z_1 \\ \vdots \\ z_\ell \\ \vdots \\ z_r \end{pmatrix}$$

Es decir, si la ℓ-ésima reacción es $y_i \xrightarrow{\kappa_{ij}} y_j$, tomamos $\kappa_{ij} = \dfrac{z_\ell}{(\mathbf{x}^1)^{y_i}}$.

Con esta definición para los parámetros armamos el vector κ y $\mathbf{x}^1$ verifica $f(\mathbf{x}^1, \kappa) = 0$. Veamos que para las mismas constantes se verifica $f(\mathbf{x}^2, \kappa) = 0$: sabemos que existe $t_1 \in \mathbb{R}^d_{>0}$ tal que

$$x_i^1 = \mu_i(\kappa)\, t_1^{A_i},\ i = 1, \ldots, n.$$

Entonces, por definición, $x_i^2 = \mu_i(\kappa)\, e^{v_i}\, t_1^{A_i}$. Si $v \in T^\perp$, existe $\lambda \in \mathbb{R}^d$ tal que

$$v = \lambda_1\ (A_{11}, A_{21}, \ldots, A_{n1}) + \lambda_2\ (A_{12}, A_{22}, \ldots, A_{n2}) + \cdots + \lambda_d\ (A_{1d}, A_{2d}, \ldots, A_{nd})$$

$$\Rightarrow \exists\, \lambda \in \mathbb{R}^d \text{ tal que para cada } 1 \leq i \leq n,\ v_i = \lambda_1 A_{i1} + \lambda_2 A_{i2} + \cdots + \lambda_d A_{id}.$$

Luego

$$e^{v_i} = e^{\lambda_1 A_{i1} + \lambda_2 A_{i2} + \cdots + \lambda_d A_{id}} = \left(e^{\lambda_1}, e^{\lambda_2}, \ldots, e^{\lambda_d}\right)^{A_i}$$

Si tomamos $t_2 = (e^{\lambda_1} t_{11}, e^{\lambda_2} t_{12}, \ldots, e^{\lambda_d} t_{1d})$, entonces $x_i^2 = \mu_i(\kappa)\, t_2^{A_i}$, $i = 1, \ldots, n$, es decir $\mathbf{x}^2 \in V_{\kappa(>0)}(f)$ y por lo tanto $f(\mathbf{x}^2, \kappa) = 0$. □

Ahora bien, para construir dos estados estacionarios positivos distintos como indica el Teorema 3.5.7 necesitamos encontrar vectores de S y $T^\perp$ *con el mismo signo*, o sea, dos vectores que viven en el mismo ortante. En lo que sigue analizaremos cómo encontrar los ortantes que corta un subespacio.

3.5.2. ¿Cómo determinar los ortantes que corta un subespacio?

Dado un subespacio $V \subseteq \mathbb{R}^n$, queremos conocer cuáles son los ortantes de $\mathbb{R}^n$ que intersecta, es decir, queremos conocer en qué ortantes de $\mathbb{R}^n$ hay vectores del subespacio V. Para esto, alcanza con conocer los posibles vectores de signo de los vectores que conforman el subespacio V. Vamos a definir qué son los *circuitos* de un subespacio, cómo calcularlos y cómo, a partir de los circuitos, podremos conocer los vectores de signo de todos los vectores del subespacio.

Definición 3.5.8. Llamamos **circuito** de un subespacio V a un vector $r \in V$ que:

- $r \neq 0$;
- tiene soporte minimal (con respecto a la inclusión), es decir, su soporte no contiene propiamente al soporte de cualquier otro vector no nulo de V.

El *soporte* de un vector es el conjunto de índices de sus entradas no nulas.

Una observación es que si dos circuitos de un subespacio tienen el mismo soporte, deben ser múltiplos. En general, si la dimensión del subespacio es d se espera que los circuitos tengan $d - 1$ entradas nulas.

Definición 3.5.9. Dado un ortante $O \in \{-1, 0, 1\}^n$ (o un vector v), decimos que un circuito r es *conforme con* O (respectivamente con v) si para todo $i \in sop(r), signo(r_i) = O_i$ (respectivamente $sgn(r_i) = sgn(v_i)$).

Ejemplo 3.5.10. Dada una matriz,

$$A = \begin{pmatrix} 1 & 1 & 2 & 1 \\ 0 & 2 & 4 & 3 \end{pmatrix} \tag{3.7}$$

si miramos el subespacio V generado por las filas de A,

$$V = \langle (1,1,2,1); (0,2,4,3) \rangle$$

el vector $(0,2,4,3)$ es un circuito de V y el vector $(1,1,2,1)$ no es un circuito de V. Otro vector del subespacio, por ejemplo, $(-2,0,0,1) = (0,2,4,3) - 2.(1,1,2,1)$ también es un circuito de V ya que su soporte $\{1,4\}$ es minimal. Observamos que ninguno de los soportes de los circuitos que mencionamos contiene propiamente al soporte de otro vector no nulo del subespacio.

Dado el ortante $O_1 = (-,+,+,+)$, los circuitos asociados a la matriz A

$$r = (0,2,4,3) \text{ y } r' = (-2,0,0,1)$$

son conformes con él, pero el circuito $r'' = (6,2,4,0)$ no lo es, los signos deben coincidir en las componentes del soporte del circuito. El soporte del ortante O_1 coincide con la unión de los soportes de los circuitos conformes con él: $sop(O_1) = sop(r) \cup sop(r')$. Esta observación será de utilidad para ejemplificar los resultados que presentamos a continuación.

El siguiente teorema contiene un resultado clave que dice que cada vector de un subespacio se puede calcular como la combinación lineal no negativa (es decir, con coeficientes no negativos) de circuitos conformes con él, y corresponde al Teorema 1 presente en el trabajo de Rockafellar [Roc69].

Teorema 3.5.11. *Sea u un vector no nulo del subespacio vectorial $V \subset \mathbb{R}^n$, existen circuitos $r_1, \ldots, r_m$ de V tales que:*

- *r_i es un circuito conforme con u, $\forall i = 1, \ldots, m$, y*
- *$u = \sum_{i=1}^{m} \lambda_i r_i$, $\lambda_i \in \mathbb{R}_{>0}$, $\forall i = 1, \ldots, m$.*

Observación 3.5.12. Por definición los circuitos tienen soporte minimal, entonces, para cada $i = 1, \ldots, m$, $sop(r_i) \subseteq sop(u)$. Además, ninguno de los circuitos tiene soporte contenido en la unión de los soportes del resto de los circuitos.

Una consecuencia importante del Teorema 3.5.11 es que, para encontrar los signos de los vectores de un subespacio, es suficiente con determinar los signos de *todos* los circuitos del subespacio. Para esto damos la siguiente definición:

Definición 3.5.13. Diremos que dos vectores de signo $\sigma_1, \sigma_2 \in \{-,0,+\}^n$ son conformes si coinciden en sus componentes no nulas. Dados dos vectores de signo conformes, definimos su unión de la siguiente manera:

$$(\sigma_1 \cup \sigma_2)_i = \begin{cases} (\sigma_1)_i \text{ si } (\sigma_2)_i = (\sigma_1)_i \text{ o } (\sigma_2)_i = 0 \\ (\sigma_2)_i \text{ si } (\sigma_1)_i = 0 \end{cases}$$

Es decir, si ambos vectores tienen la i-ésima componente no nula, al ser conformes el signo coincide, entonces la unión lleva ese signo. Para el resto de las componentes se respeta el signo de la componente no nula, si es que hay alguna.

Teorema 3.5.14. *Dado un ortante $\mathcal{O} \in \{-, 0, +\}^n, \mathcal{O} \neq 0$ y sea V un subespacio vectorial de $\mathbb{R}^n$. Entonces $V \cap \mathcal{O} \neq \emptyset$ si y sólo si el soporte de $\mathcal{O}$ es igual a la unión de los soportes de los circuitos de V conformes con $\mathcal{O}$.*

Demostración. ($\Rightarrow$) Por el Teorema 3.5.11, dado $u \in V$ no nulo, existen r_i, $i = 1, \ldots, m$, circuitos conformes con u tales que $u = \sum_{i=1}^{m} \lambda_i r_i$, $\lambda_1, \ldots, \lambda_m > 0$. Al ser una combinación lineal de coeficientes positivos,

$$sop(u) = \bigcup_{i=1}^{m} sop(r_i)$$

Sea $u \in V \cap \mathcal{O}$, entonces $sop(u) = sop(\mathcal{O})$ y los circuitos conformes con u son circuitos conformes con $\mathcal{O}$. Luego, $r_1, \ldots, r_m$ son circuitos de V conformes con $\mathcal{O}$ tales que

$$sop(\mathcal{O}) = sop(u) = \bigcup_{i=1}^{m} sop(r_i).$$

($\Leftarrow$) Si $sop(\mathcal{O}) = \bigcup sop(v_i)$, con v_i circuitos de V conformes con $\mathcal{O}$, entonces $u = \sum_i v_i$ es un vector del subespacio V en el ortante $\mathcal{O}$. □

Conociendo todos los circuitos de un subespacio, a partir de los Teoremas 3.5.11 y 3.5.14 podremos calcular los vectores de signo de todos los vectores del subespacio y obtendremos los ortantes que corta el subespacio calculando uniones de circuitos conformes. Por ejemplo, sabemos que el subespacio V del Ejemplo 3.5.10 corta al ortante $\mathcal{O}_1 = (-, +, +, +)$ dado que existen circuitos de V, $r = (0, 2, 4, 3)$ y $r' = (-2, 0, 0, 1)$ tales que

- r, r' son conformes con $\mathcal{O}_1$,
- $sop(\mathcal{O}_1) = sop(r) \cup sop(r')$,

y, por lo tanto, existe una combinación lineal no negativa de ellos (por ejemplo la suma $r + r'$) que *cae* en ese ortante: $r + r' = (-2, 2, 4, 4) \in \mathcal{O}_1$, entonces existe un vector del subespacio V (combinación lineal de circuitos) en ese ortante.

La pregunta que nos hacemos entonces es ¿cómo calculamos *todos* los circuitos de un subespacio? El siguiente lema, que responde esta pregunta, está presente en el Apéndice A del trabajo de Pérez Millán y Dickenstein ya citado [MD18] y nos dará una regla para calcular todos los circuitos de un subespacio.

Lema 3.5.15. *Dada una matriz $A \in \mathbb{R}^{d \times n}$ de rango d, sea V el subespacio generado por las filas de A. Para cada subconjunto de índices $J \subseteq \{1, \ldots, n\}$ de cardinal $d - 1$ calculamos los circuitos de V, r_J, de la siguiente manera:*

$$(r_J)_k = \left((-1)^{\mu(k,J)} \, det\left(A_{J \cup \{k\}}\right)\right), \; k = 1, \ldots, n, \quad r_J \in \mathbb{R}^n, \tag{3.8}$$

donde $A_{J\cup\{k\}}$ es la submatriz de tamaño d×d formada por las columnas de A con índices en $J\cup\{k\}$ y $\mu(k,J)$ es la función que determina el signo: es la cantidad de trasposiciones que hay que hacer para ordenar el conjunto de índices k seguido de J de menor a mayor, es decir, la cantidad de índices en J que son estrictamente menores que k. Si $k\in J$ definimos $\mu(k,J)=0$.

Observación 3.5.16. Los circuitos calculados según (3.8) podrían aparecer repetidos. El resultado garantiza que con esta fórmula, salvo por alguna constante multiplicativa, los calculamos todos. Dada una matriz A, cuando hablamos de *los circuitos de A* nos referimos a los circuitos del subespacio formado por las filas de A.

Observación 3.5.17. Si el índice k pertenece al conjunto J, la definición de la función de signo no es relevante dado que el determinante de la submatriz $A_{J\cup\{k\}}$ será igual a cero por tener dos columnas iguales.

Entonces, el resultado nos dice que los signos de todos los vectores del subespacio fila de A están determinados por los signos de los menores maximales de esa matriz.

Ejemplo 3.5.18. [Continuación del Ejemplo 3.5.10] Calcularemos todos los circuitos de A (los circuitos del subespacio V generado por las filas de la matriz A). La matriz es de tamaño 2×4 y rango 2. Según el Lema 3.5.15 el cardinal de J debe ser $2-1=1$. A modo de ejemplo reproducimos la fórmula (3.8) para el primer caso. $J=\{1\}$:

$$(r_{\{1\}})_1=\left((-1)^{\mu(1,\{1\})}\,det\begin{pmatrix}1&1\\0&0\end{pmatrix}\right)=0,$$

$$(r_{\{1\}})_2=\left((-1)^{\mu(2,\{1\})}\,det\begin{pmatrix}1&1\\0&2\end{pmatrix}\right)=-2,$$

$$(r_{\{1\}})_3=\left((-1)^{\mu(3,\{1\})}\,det\begin{pmatrix}1&2\\0&4\end{pmatrix}\right)=-4,$$

$$(r_{\{1\}})_4=\left((-1)^{\mu(4,\{1\})}\,det\begin{pmatrix}1&1\\0&3\end{pmatrix}\right)=-3.$$

El signo de cada componente depende de la función $\mu(k,\{1\})$:

$$\mu(1,\{1\})=0,\ \mu(2,\{1\})=1,\ \mu(3,\{1\})=1,\ \mu(4,\{1\})=1.$$

Los circuitos para $J=\{1\}$ son: $r_{\{1\}}=\pm(0,-2,-4,-3)$ y todos sus múltiplos.

Si hacemos el cálculo para todos los conjuntos de índices de cardinal 1, obtenemos lo siguiente:

- para $J=\{2\}$ los circuitos son $r_{\{2\}}=\pm(2,0,0,-1)$;
- para $J=\{3\}$, $r_{\{3\}}=\pm(4,0,0,-2)$;
- para $J=\{4\}$, $r_{\{4\}}=\pm(3,1,2,0)$.

Observamos que los casos $J = \{2\}$ y $J = \{3\}$ dan lugar a los mismos circuitos, y por ende, tienen los mismos vectores de signo asociados. Esto está relacionado con el hecho de que los vectores de las columnas de índice 2 y 3 de la matriz A son múltiplos.

Los vectores de signo de todos los circuitos (por orden de aparición) son:

$$(0,-,-,-);(0,+,+,+);(+,0,0,-);(-,0,0,+);(+,+,+,0);(-,-,-,0) \tag{3.9}$$

Por ejemplo, dado el ortante $\mathcal{O}_2 = (+,+,+,+)$, los circuitos de A conformes con $\mathcal{O}_2$ son: $(0,2,4,3)$ y $(3,1,2,0)$, como la unión de sus soportes coincide con el soporte de este ortante, calculando una combinación lineal con coeficientes positivos, por ejemplo sumando los circuitos, encontramos un vector $(3,3,6,3)$ del subespacio en ese ortante.

Sabemos también que el subespacio V no corta al ortante $\mathcal{O}_3 = (+,-,+,-)$ dado que los circuitos de V conformes con $\mathcal{O}_3$ son $(2,0,0,-1)$ y sus múltiplos positivos, pero la unión de los soportes de estos circuitos es $\{1,4\} \neq sop(\mathcal{O}_3)$. Entonces no habrá un vector del subespacio V con el vector de signos $(+,-,+,-)$. Podemos concluir esto mismo viendo que no hay ninguna unión de vectores de signo conformes que den como resultado el vector de signos $\mathcal{O}_3$.

3.5.3. Algoritmo para decidir si una red MESSI admite múltiples estados estacionarios positivos

Presentamos a continuación un algoritmo basado en los Teoremas 3.5.3 y 3.5.7 que decide si un sistema MESSI consistente y tórico tiene la capacidad de multiestacionariedad. En ese caso busca ortantes que contienen vectores de los subespacios S y $T^{\perp}$, es decir, encuentra un vector en S y otro en $T^{\perp}$ con el mismo vector de signos, y calcula *testigos de multiestacionariedad*: dos puntos que son estados estacionarios del sistema y que pertenecen a la misma clase de compatibilidad estequiométrica, junto al vector de parámetros que define la variedad.

Algoritmo 1. Dado un sistema MESSI consistente y tórico, el siguiente procedimiento encuentra, cuando existen, parámetros κ que garantizan la existencia de múltiples estados estacionarios en la misma clase o decide que el sistema es monoestacionario.

Input: Una red G MESSI tórica.

Paso 0: Calcular las matrices M (o $M^{\perp}$) y $B^{\perp}$ (o B) para la red G.

Paso 1: Calcular $\Sigma_{\perp}$ (o alguno de los conjuntos $\Sigma, \Sigma^{\perp}, \Sigma_{\perp}^{\perp}$). Decidir si $\Sigma_{\perp}$ está mezclado. Si no lo está, STOP. Responder que el sistema es monoestacionario.

Paso 2: Calcular los circuitos de $B^{\perp}$ y obtener un ortante calculando las posibles uniones de vectores de signo de circuitos conformes.

Paso 3: Para el ortante calculado en Paso 2, revisar los circuitos de M^t conformes con él. Comprobar que la unión de los soportes de los circuitos de M^t conformes con él es igual al soporte del ortante hallado. En otro caso, descartarlo y volver al Paso 2.

Paso 4: Para cada ortante $\mathcal{O}$ con $S \cap \mathcal{O} \neq \emptyset$ y $T^{\perp} \cap \mathcal{O} \neq \emptyset$, guardar todos los circuitos de M^t y $B^{\perp}$ conformes con $\mathcal{O}$.

Paso 5: Construir vectores $w \in S$ y $v \in T^{\perp}$, por ejemplo, como la suma de los circuitos conformes correspondientes.

Paso 6: Calcular los testigos de multiestacionariedad: mostrar $\mathbf{x}^1, \mathbf{x}^2$ y κ calculados según el Teorema 3.5.7.

Para mostrar los pasos que realiza el algoritmo continuamos con el Ejemplo 3.5.5, calculamos todos los circuitos de las matrices M^t y $B^{\perp}$ y un par de vectores positivos $\mathbf{x}^1, \mathbf{x}^2$ que son estados estacionarios del sistema.

Ejemplo 3.5.19. (Continuación del Ejemplo 3.5.5) La red que analizamos es:

$$S_0 + E \overset{\kappa_1}{\to} Y \overset{\kappa_2}{\to} S_1 + E \overset{\kappa_3}{\to} S_2 + E$$

$$S_2 + F \overset{\kappa_4}{\to} S_1 + F \overset{\kappa_5}{\to} S_0 + F$$

A partir de la fórmula dada en el Lema 3.5.15 calculamos los circuitos, detallamos a continuación un representante por circuito. Recordamos que dado un circuito, todos sus múltiplos también lo son.

Los circuitos de $B^{\perp}$:

$$(0,0,0,-1,-2,1);(0,1,1,0,0,1);(0,-1,-1,-1,-2,0);(-1,0,-1,0,1,-1);(2,0,2,1,0,1);$$

$$(1,0,1,1,1,0);(1,-1,0,0,-1,0);(2,-2,0,1,0,-1);(2,-1,1,1,0,0).$$

El ortante $\bar{\mathcal{O}} = (+,-,+,+,-,0)$ es unión de los vectores de signo de los circuitos conformes $(1,-1,0,0,-1,0)$ y $(2,-1,1,1,0,0)$ de $B^{\perp}$.

Los circuitos de M^t:

$$(0,0,0,1,-1,0);(0,-1,1,0,-1,0);(0,1,-1,1,0,0);$$

$$(1,0,0,0,-1,0);(-1,0,0,1,0,0);(1,1,-1,0,0,0).$$

Los circuitos de M^t conformes con $\bar{\mathcal{O}}$ son

$$(0,0,0,1,-1,0),(0,-1,1,0,-1,0),(1,0,0,0,-1,0)$$

y se verifica que la unión de sus soportes es igual al soporte del ortante. Entonces, podemos afirmar que tanto S como $T^{\perp}$ cortan al ortante $\bar{\mathcal{O}}$, es decir, hay vectores en ambos subespacios con ese vector de signos. Podemos obtenerlos, por ejemplo, sumando los circuitos conformes (sirve cualquier combinación lineal con coeficientes positivos):

$$w = (1,-1,1,1,-3,0) \in S \text{ y } v = (3,-2,1,1,-1,0) \in T^{\perp}$$

Ahora, usando el Teorema 3.5.7 construimos los testigos de multiestacionariedad:

$$\mathbf{x}^1 = \left(\frac{1}{e^3-1}, \frac{-1}{e^{-2}-1}, \frac{1}{e-1}, \frac{1}{e-1}, \frac{-3}{e^{-1}-1}, 1\right);$$

$$\mathbf{x}^2 = \left(\frac{e^3}{e^3-1}, \frac{-e^{-2}}{e^{-2}-1}, \frac{e}{e-1}, \frac{e}{e-1}, \frac{-3e^{-1}}{e^{-1}-1}, 1\right).$$

Y el vector de parámetros κ:

$$\kappa = \left(\frac{(e^3-1)(e^{-2}-1)}{1-e}, 1, 1, \frac{e^{-1}-1}{3(e^{-2}-1)(e-1)}, 1\right)$$

Sus valores aproximados son:

$$\mathbf{x}^1 \simeq (0.0523957, 1.15652, 0.581977, 0.581977, 4.74593, 1);$$

$$\mathbf{x}^2 \simeq (1.0523957, 0.15652, 1.581977, 1.581977, 1.74593, 1);$$

$$\kappa \simeq (9.604123, 1, 1, 0.141819688, 1)$$

Observación 3.5.20. Si analizamos la red de este ejemplo con una *pequeña* modificación (quitando la única especie intermedia Y):

$$S_0 + E \overset{\bar{\kappa}}{\to} S_1 + E \overset{\kappa_3}{\to} S_2 + E$$

$$S_2 + F \overset{\kappa_4}{\to} S_1 + F \overset{\kappa_5}{\to} S_0 + F$$

La estructura MESSI queda determinada por la partición minimal:

$$\mathscr{S}^{(0)} = \emptyset;\ \mathscr{S}^{(1)} = \{S_0, S_1, S_2\};\ \mathscr{S}^{(2)} = \{E\},\ \mathscr{S}^{(3)} = \{F\}$$

Y la red resulta monoestacionaria!

El sistema de ecuaciones asociado es:

$$\left\{\begin{array}{lcl} \dot{s_0} &=& -\bar{\kappa} s_0\, e + \kappa_5 s_1\, f \\ \dot{s_1} &=& \bar{\kappa} s_0\, e - \kappa_3 s_1\, e + \kappa_4 s_2\, f - \kappa_5 s_1\, f \\ \dot{s_2} &=& \kappa_3 s_1\, e - \kappa_4 s_2\, f \\ \dot{e} &=& 0 \\ \dot{f} &=& 0 \end{array}\right. \tag{3.10}$$

Las leyes de conservación quedan determinadas por:

$$\left\{\begin{array}{lcl} s_0 + s_1 + s_2 &=& T_1 \\ e &=& T_2 \\ f &=& T_3 \end{array}\right.$$

Las concentraciones de las especies E y F permanecen constantes a lo largo de toda la reacción. Para buscar los estados estacionarios positivos de esta red debemos encontrar las soluciones positivas del sistema:

$$\left.\begin{array}{lcl} -\bar{\kappa} s_0\, e + \kappa_5 s_1\, f &=& 0 \\ \kappa_3 s_1\, e - \kappa_4 s_2\, f &=& 0 \\ s_0 + s_1 + s_2 &=& T_1 \\ e &=& T_2 \\ f &=& T_3 \end{array}\right\} \tag{3.11}$$

Para cada vector de parámetros $(\bar{\kappa}, \kappa_3, \kappa_4, \kappa_5)$ y cada vector de cantidades totales fijo (T_1, T_2, T_3), la solución del sistema (3.11) es única: al ser una red simple podemos resolver los cálculos a mano, o verificar que alguno de los conjuntos de signo definidos en 3.5.1 está no mezclado y por el Teorema 3.5.3 concluir el resultado de monoestacionariedad.

De la primera y segunda ecuación de (3.11) despejamos

$$s_0 = \frac{\kappa_5}{\bar{\kappa}} \frac{s_1 f}{e}; \quad s_2 = \frac{\kappa_3}{\kappa_4} \frac{s_1 e}{f} \tag{3.12}$$

Si reemplazamos usando las restricciones de las leyes de conservación:

$$\frac{\kappa_5}{\bar{\kappa}} \frac{T_3}{T_2} s_1 + s_1 + \frac{\kappa_3}{\kappa_4} \frac{T_2}{T_3} s_1 = T_1$$

$$s_1 \left(\frac{\kappa_5}{\bar{\kappa}} \frac{T_3}{T_2} + 1 + \frac{\kappa_3}{\kappa_4} \frac{T_2}{T_3} \right) = T_1$$

$$s_1 = \frac{T_1}{\frac{\kappa_5}{\bar{\kappa}} \frac{T_3}{T_2} + 1 + \frac{\kappa_3}{\kappa_4} \frac{T_2}{T_3}} > 0$$

El valor de la concentración de la especie S_1 es único para cada vector de parámetros fijo. Las concentraciones e y f son constantes y quedan determinadas al fijar las cantidades totales iniciales. Y por (3.12) se pueden determinar unívocamente los valores de s_0, s_2. Luego, para cada vector de parámetros y vectores de cantidades totales, la red resulta monoestacionaria, hay un único estado estacionario (positivo) en cada clase de compatibilidad estequiométrica.

En el trabajo de Feliu y Wiuf [FW12a] se profundiza en el análisis de este tipo de redes llamadas *signaling networks*, con algunas variaciones: analizan redes en las que participa uno o dos sustratos distintos S o P, cambiando la cantidad de lugares para activar a los sustratos con 0,1 o 2 lugares para su fosforilación; analizan modificaciones en las redes en las que actúan las enzimas E (kinasa) y F (fosfatasa) catalizadoras de la reacción, en las cuales F es la misma en cada reacción o distinta o si la enzima E es igual en cada reacción o es distinta; y analizan cuáles son las características de estas redes que garantizan multiestacionariedad. El ejemplo que analizamos recién, sin la especie intermedia, coincide con la red (g) que figura en este trabajo, y mencionan que si la red es modelada con otra cinética (distinta de acción de masas) la red puede resultar multiestacionaria.

En el trabajo [FW13a] de los mismos autores, analizan los efectos de la inclusión (o no) de las especies intermedias en diferentes redes, y clasifican grupos de redes que tienen un comportamiento similar. Además, el Teorema 5.1 allí presente especifica la relación que hay entre la cantidad de estados estacionarios de la red original y de la red simplificada (sin especies intermedias).

Capítulo 4

Regiones de multiestacionariedad

Como lo mencionamos en el Capítulo 1, cuando analizamos si una red de reacciones químicas resulta multiestacionaria, buscamos si existen vectores de parámetros (constantes de las reacciones κ y cantidades totales de las leyes de conservación T) para los cuales hay dos o más puntos en la intersección entre la variedad de estados estacionarios positivos (determinada por κ) y alguna S-clase (determinada por T).

En este capítulo haremos un recorrido por los resultados presentes en el trabajo de Giaroli, Bihan, Dickenstein en [GBD19] en los que se encuentran regiones abiertas de parámetros que garantizan multiestacionariedad en la red y luego los utilizaremos para mostrar regiones de parámetros para los cuales la cascada enzimática con tres niveles de fosforilación/desfosforilación resulta multiestacionaria.

Una de las condiciones necesarias para que existan múltiples estados estacionarios positivos en este tipo de redes es que la misma enzima F actúe en al menos dos niveles de la cascada enzimática [FKLW12], [BP18].

La estrategia que usaron para determinar estas regiones de parámetros consiste en restringir el sistema de ecuaciones a subsistemas para los que pudieran garantizar la existencia de soluciones positivas y luego extender esas soluciones a soluciones del sistema general *deformando* los coeficientes con un nuevo parámetro que toma valores reales.

Una observación importante es que las cascadas enzimáticas con las que trabajamos tienen estructura MESSI, por ende, podremos conseguir una parametrización explícita de los estados estacionarios positivos, y además, al ser sistemas conservativos, las trayectorias $x(t)$ que determinan estos sistemas estarán definidas para todo $t \geq 0$. En particular nos interesa estudiar trayectorias constantes a lo largo del tiempo $\dot{x}(t) = 0$.

A partir de un sistema de ecuaciones polinomiales, asociado a una red de reacciones químicas que modelamos bajo cinética de acción de masas:

$$f(x) = \sum_{y_i \to y_j \in \mathcal{R}} \kappa_{ij}\, x^{y_i}\, (y_j - y_i), \quad x \in \mathbb{R}^n_{>0}. \tag{4.1}$$

La idea general será deformar los coeficientes del sistema con un parámetro real $\tau \in \mathbb{R}$ de la siguiente manera:

$$f_\tau(x) = \sum_{y_i \to y_j \in \mathcal{R}} \kappa_{ij}\, x^{y_i}\, \tau^{\delta_{ij}} (y_j - y_i), \quad x \in \mathbb{R}^n_{>0}. \tag{4.2}$$

Observamos que para $\tau = 1$ los sistemas coinciden. Más adelante en el recorrido de este capítulo vamos a definir con mayor precisión cómo se construyen los exponentes δ_{ij} que figuran en la fórmula (4.2).

Mostraremos los resultados que prueban que existe un valor $\tau_0 \in \mathbb{R}$ tal que para todo $0 < \tau < \tau_0$ el sistema de ecuaciones $f_\tau(x) = 0$ tiene múltiples soluciones reales positivas, es decir, reescalando los parámetros originales, cambiando κ_{ij} por $\kappa_{ij}\,\tau^{\delta_{ij}}$, construimos parámetros para los cuales la red asociada resulta multiestacionaria.

4.1. Soluciones positivas de sistemas de ecuaciones polinomiales

El análisis de multiestacionariedad está relacionado con el cálculo de raíces reales positivas de un sistema polinomial. Introduciremos la notación y algunas definiciones necesarias para el desarrollo de este capítulo.

Consideramos el sistema polinomial formado por d polinomios de Laurent (donde los exponentes enteros de las variables podrían ser negativos). Y buscamos soluciones comunes de $f_1(x) = \cdots = f_d(x) = 0$ en d variables $x = (x_1, \ldots, x_d)$, con

$$f_i(x) = \sum_{j=1}^{n} c_{ij}\, x^{a_j} \in \mathbb{R}[x_1, \ldots, x_d],\ i = 1, \ldots, d, \tag{4.3}$$

Notamos $C \in \mathbb{R}^{d\times n}$, $(C)_{ij} = c_{ij}$, la matriz de coeficientes y asumimos, sin pérdida de generalidad, que ninguna columna de C es nula. Los monomios los indicamos con x^{a_j} donde los exponentes son vectores de componentes enteras que pertenecen a un conjunto finito de puntos $\mathcal{A} = \{a_1, \ldots, a_n\} \subset \mathbb{Z}^d$, con $n + 2 \geq d$, que llamamos el **soporte** del sistema polinomial.

Veamos un ejemplo simple para entender la notación y las definiciones que vamos presentando.

Ejemplo 4.1.1. Consideramos la siguiente configuración de puntos:

$$\mathcal{A} = \{(0,0), (2,0), (0,1), (2,1), (1,2), (1,3)\} \subset \mathbb{Z}^2, \tag{4.4}$$

y la matriz de coeficientes

$$C = \begin{pmatrix} 1 & -2 & 1 & 1 & -1 & 0 \\ -2 & 1 & 0 & -1 & -1 & 1 \end{pmatrix}. \tag{4.5}$$

El sistema polinomial de 2 ecuaciones en 2 variables x, y:

$$\begin{cases} 1 - 2\,x^2 + y + x^2y - xy^2 &= 0, \\ -2 + x^2 - x^2y - xy^2 + xy^3 &= 0, \end{cases} \tag{4.6}$$

tiene soporte $\mathcal{A}$ y matriz de coeficientes C, lo escribimos de la siguiente forma matricial:

$$C\begin{pmatrix}1 & x^2 & y & x^2y & xy^2 & xy^3\end{pmatrix}^t = 0,$$

donde t indica la traspuesta. En la Figura 4.1 se muestra la **cápsula convexa** formada por los puntos en $\mathcal{A}$.

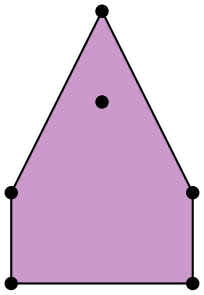


Figura 4.1: Cápsula convexa del soporte $\mathcal{A}$ del Ejemplo 4.1.1.

Como anticipamos al comienzo de este capítulo, la idea es restringir primero el sistema de ecuaciones polinomiales asociado a subsistemas para los que se pueda garantizar la existencia de soluciones positivas, y luego extender esas soluciones al sistema original, deformando los coeficientes con un parámetro real.

El primer resultado es el que garantiza la existencia de soluciones positivas en el subsistema. Para presentarlo, introducimos las siguientes definiciones:

Definición 4.1.2. Decimos que un conjunto de vectores $\{v_1, v_2, \ldots, v_m\}$ es *afinmente independiente* si $\sum_{i=1}^m \lambda_i v_i = 0$ con $\sum_{i=1}^m \lambda_i = 0$ implica $\lambda_i = 0 \ \ \forall i$.

Llamaremos **d-simplex** con vértices en $\mathcal{A}$ a un subconjunto de $d+1$ puntos de $\mathcal{A}$ afinmente independientes.

Definición 4.1.3. Sea $A \in \mathbb{R}^{d\times(d+1)}$, llamamos $menor(A, i)$ al determinante de la submatriz cuadrada que se obtiene a partir de A al eliminar la i-ésima columna. Decimos que A es *positively spanning* o está **generada positivamente** si todos los valores $(-1)^i\, menor(A, i)$ para $i = 1, \ldots, d+1$ son no nulos y tienen el mismo signo.

Entonces, una matriz estará generada positivamente si todas las componentes de los vectores en el núcleo son no nulas y tienen el mismo signo.

Definición 4.1.4. Dada una matriz $C \in \mathbb{R}^{d\times n}$. Decimos que un d-simplex $\Delta = \{a_{i_1}, \ldots, a_{i_{d+1}}\}$ está **decorado positivamente** por C si la submatriz de C de tamaño $d \times (d+1)$ formada por las columnas $\{i_1, \ldots, i_{d+1}\}$ está generada positivamente.

Ejemplo 4.1.5 (Continuación del Ejemplo 4.1.1)**.** La matriz

$$M = \begin{pmatrix} 1 & -1 & 0 \\ 0 & -1 & 1 \end{pmatrix}$$

formada por las columnas 3, 5 y 6 de C está generada positivamente dado que los valores

$$\begin{cases} (-1)^1\, menor(M,1) = (-1).(-1) = 1, \\ (-1)^2\, menor(M,2) = 1.1 = 1, \\ (-1)^3\, menor(M,3) = (-1).(-1) = 1 \end{cases}$$

son todos no nulos y tienen el mismo signo. Entonces el 2-simplex $\Delta = \{(0,1);(1,2);(1,3)\}$ está decorado positivamente por C.

Pero, por ejemplo, la matriz formada por las columnas 3, 4 y 6 de C

$$\bar{M} = \begin{pmatrix} 1 & 1 & 0 \\ 0 & -1 & 1 \end{pmatrix}$$

no está generada positivamente ya que los valores

$$\begin{cases} (-1)^1\, menor(\bar{M},1) = (-1).(1) = -1, \\ (-1)^2\, menor(\bar{M},2) = 1.1 = 1, \\ (-1)^3\, menor(\bar{M},3) = (-1).(-1) = 1 \end{cases}$$

no tienen todos el mismo signo, lo que implica que el 2-simplex $\bar{\Delta} = \{(0,1);(2,1);(1,3)\}$ no está decorado positivamente por C.

Se puede demostrar que si un sistema polinomial con d ecuaciones en d variables contiene un d-simplex como soporte entonces tiene una única solución positiva no degenerada si y sólo si la matriz de coeficientes del sistema está generada positivamente.

Proposición 4.1.6 (Proposición 3.3 en [BSS18])**.** *Sea $\mathcal{A} = \{a_1, ..., a_{d+1}\}$ el conjunto de vértices de un d-simplex en $\mathbb{R}^d$, y consideremos el sistema polinomial con coeficientes reales*

$$f_i(x) = \sum_{j=1}^{d+1} c_{ij}\, x^{a_j}, \quad i = 1, \ldots, d.$$

El sistema $f_1(x) = \cdots = f_d(x) = 0$ tiene a lo sumo una solución positiva no degenerada. Y, tiene una única solución positiva no degenerada si y sólo si la matriz de coeficientes $(C)_{ij} = c_{ij} \in \mathbb{R}^{d\times(d+1)}$ está generada positivamente.

Para dar una idea intuitiva de este resultado analicemos cuándo un sistema lineal de dos ecuaciones en dos variables x, y admite una solución positiva:

El sistema

$$\begin{cases} c_{11}\, x + c_{12}\, y + c_{13} &= 0 \\ c_{21}\, x + c_{22}\, y + c_{23} &= 0 \end{cases} \tag{4.7}$$

Que también podemos escribir en forma matricial:

$$\begin{pmatrix} c_{11} & c_{12} \\ c_{21} & c_{22} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -c_{13} \\ -c_{23} \end{pmatrix}$$

Tiene como soporte el 2-simplex $\mathcal{A} = \{(1,0);(0,1);(0,0)\}$ y matriz de coeficientes

$$C = \begin{pmatrix} c_{11} & c_{12} & c_{13} \\ c_{21} & c_{22} & c_{23} \end{pmatrix}$$

Notaremos $C(i)$ a la submatriz de C que se obtiene al eliminar la i-ésima columna.

El sistema (4.7) tiene única solución con $x, y > 0$ si y sólo si:

- Se verifica $det(C(3)) \neq 0$ (para que la solución sea única),
- Usando la Regla de Cramer para calcular la solución:

$$x = \frac{det\begin{pmatrix} -c_{13} & c_{12} \\ -c_{23} & c_{22} \end{pmatrix}}{det(C(3))} = \frac{det\begin{pmatrix} c_{12} & c_{13} \\ c_{22} & c_{23} \end{pmatrix}}{det(C(3))} = \frac{det(C(1))}{det(C(3))}$$

$$y = \frac{det\begin{pmatrix} c_{11} & -c_{13} \\ c_{21} & -c_{23} \end{pmatrix}}{det(C(3))} = \frac{-det\begin{pmatrix} c_{11} & c_{13} \\ c_{21} & c_{23} \end{pmatrix}}{det(C(3))} = \frac{-det(C(2))}{det(C(3))}$$

Llegamos a

$$x, y > 0 \iff \begin{cases} det(C(1)) \text{ y } det(C(3)) \text{ tienen el mismo signo,} \\ det(C(2)) \text{ y } det(C(3)) \text{ tienen signos distintos.} \end{cases}$$

Si esto se verifica, para cada $i = 1, 2, 3$, $(-1)^i\, menor(C, i)$ es un valor no nulo y para todo i tiene el mismo signo, por lo tanto, la matriz C está generada positivamente.

Podemos generalizar este resultado:

Dados $\alpha, \beta, \gamma \in \mathbb{Z}^2$ afinmente independientes ($\alpha - \gamma$; $\beta - \gamma$ son linealmente independientes), el sistema

$$\begin{cases} c_{11}x^{\alpha} + c_{12}x^{\beta} + c_{13}x^{\gamma} &= 0 \\ c_{21}x^{\alpha} + c_{22}x^{\beta} + c_{23}x^{\gamma} &= 0 \end{cases} \tag{4.8}$$

cuyo soporte $\{\alpha, \beta, \gamma\}$ es un 2-simplex, tiene una única solución positiva si y sólo si el sistema (4.7) tiene una única solución positiva: dividiendo todo por x^{γ} obtenemos un sistema equivalente (sacando la solución trivial del conjunto de soluciones),

$$\begin{cases} c_{11}x^{\alpha-\gamma} + c_{12}x^{\beta-\gamma} + c_{13} &= 0 \\ c_{21}x^{\alpha-\gamma} + c_{22}x^{\beta-\gamma} + c_{23} &= 0 \end{cases} \tag{4.9}$$

y el soporte $\{\alpha - \gamma, \beta - \gamma, (0, 0)\}$ es un 2-simplex. Las condiciones para que el sistema (4.9) tenga una única solución positiva son las mismas que analizamos para que el sistema (4.7) tenga una única solución positiva, esto es, que la matriz de coeficientes esté generada positivamente. Y si la matriz de coeficientes está generada positivamente, entonces el sistema tendrá una única solución ($det(C(3)) \neq 0$) y la solución tendrá todas las componentes positivas ya que $(-1)^i\, menor(C(i))$ tiene el mismo signo para todo $i = 1, 2, 3$, lo que implica que $sgn(det(C(3))) = sgn(det(C(1))) = -sgn(det(C(2)))$.

Dado un d-simplex Δ con vértices en $\mathcal{A}$, consideramos los *vectores de altura* $h \in \mathbb{R}^n$, donde h_j representa el valor de elevación del punto a_j de $\mathcal{A}$.

Notamos $\varphi_{\Delta,h}$ a la única función lineal afín que coincide con h en los puntos del simplex Δ, esto es,

$$\varphi_{\Delta,h}(a_j) = h_j \text{ para todo } a_j \in \Delta$$

Y asociamos con Δ el siguiente cono:

$$C_{\Delta} = \left\{ h = (h_1, \ldots, h_n) \in \mathbb{R}^n \,:\, \varphi_{\Delta,h}(a_j) < h_j \text{ para todo } a_j \notin \Delta \right\}.$$

Decimos que dos d-simplices Δ_1 y Δ_2 comparten una faceta si tienen d puntos en común, es decir, caen en una cara de dimensión $d-1$ de su cápsula convexa. Se puede demostrar que si dos d-simplices Δ_1 y Δ_2 comparten una faceta y sólo se intersectan allí, el cono C_{Δ_1,Δ_2} definido como la intersección $C_{\Delta_1,\Delta_2} = C_{\Delta_1} \cap C_{\Delta_2}$ es no vacío. Este resultado (y su demostración) está presente en el trabajo [BDG18] (Proposición 2.5). En la Figura 4.2 se muestran dos 2-simplices que comparten una cara de dimensión 1.

Figura 4.2: Δ_1 y Δ_2 comparten una faceta.

Ejemplo 4.1.7 (Continuación del Ejemplo 4.1.1)**.** Sean

$$\Delta_1 = \{(0,0),(2,0),(0,1)\} \text{ y } \Delta_2 = \{(2,0),(0,1),(2,1)\},$$

estos 2-simplices están decorados positivamente por C (la submatriz de la matriz de coeficientes formada por las columnas correspondientes a estos puntos del soporte está generada positivamente) y comparten una faceta. Calcularemos el cono C_{Δ_1,Δ_2} que, por lo mencionado anteriormente, sabemos que es no vacío.

Tomamos cualquier valor de elevación h_1, h_2, h_3 para los puntos de Δ_1: $(0,0)$, $(2,0)$ y $(0,1)$ respectivamente.

Consideramos la única función lineal afín $\varphi_{\Delta_1,h}(x,y)$ que verifica: $\varphi_{\Delta_1,h}(0,0) = h_1$, $\varphi_{\Delta_1,h}(2,0) = h_2$ y $\varphi_{\Delta_1,h}(0,1) = h_3$:

$$\varphi_{\Delta_1,h}(x,y) = \left(\frac{h_2 - h_1}{2}\right) x + (h_3 - h_1)\, y + h_1.$$

Para definir el cono necesitamos que se verifique

$$\varphi_{\Delta_1,h}(2,1) = -h_1 + h_2 + h_3 < h_4, \quad \varphi_{\Delta_1,h}(1,2) = -\frac{3}{2} h_1 + \frac{1}{2} h_2 + 2\, h_3 < h_5,$$
$$\varphi_{\Delta_1,h}(1,3) = -\frac{5}{2} h_1 + \frac{1}{2} h_2 + 3\, h_3 < h_6.$$

Luego, obtenemos la descripción del cono asociado al simplex Δ_1:

$$C_{\Delta_1} = \{h = (h_1,\ldots,h_6) \in \mathbb{R}^6 \ : \ h_1 - h_2 - h_3 + h_4 > 0,\, 3h_1 - h_2 - 4h_3 + 2h_5 > 0,$$
$$5h_1 - h_2 - 6h_3 + 2h_6 > 0\}.$$

De forma análoga podemos calcular la función $\varphi_{\Delta_2,h}$ y el cono para el simplex Δ_2:

$$\varphi_{\Delta_2,h}(x,y) = \left(\frac{h_4 - h_3}{2}\right) x + (h_4 - h_2)\, y + h_2 + h_3 - h_4.$$

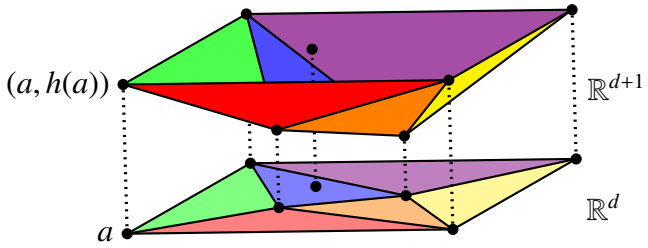


Figura 4.3: Triangulación regular.

Para definir el cono necesitamos que se verifique

$$\varphi_{\Delta_2,h}(0,0) = h_2 + h_3 - h_4 < h_1, \quad \varphi_{\Delta_2,h}(1,2) = \frac{3}{2}h_4 + \frac{1}{2}h_3 - h_2 < h_5,$$
$$\varphi_{\Delta_2,h}(1,3) = \frac{5}{2}h_4 + \frac{1}{2}h_3 - 2h_2 < h_6.$$

Con estas desigualdades describimos el cono asociado al simplex Δ_2:

$$C_{\Delta_2} = \{h = (h_1, \ldots, h_6) \in \mathbb{R}^6 \ : \ h_1 - h_2 - h_3 + h_4 > 0,\ 2h_2 - h_3 - 3h_4 + 2h_5 > 0,\ 4h_2 - h_3 - 5h_4 + 2h_6 > 0\}.$$

Observamos que al calcular la intersección $C_{\Delta_1} \cap C_{\Delta_2}$, una de las desigualdades aparece dos veces, luego el cono C_{Δ_1,Δ_2} queda definido por 5 inecuaciones:

$$C_{\Delta_1,\Delta_2} = \left\{h = (h_1, \ldots, h_6) \in \mathbb{R}^6 \ : \ \langle m_r, h\rangle > 0,\ r = 1, \ldots, 5\right\},$$

donde $m_1 = (1,-1,-1,1,0,0)$, $m_2 = (3,-1,-4,0,2,0)$, $m_3 = (5,-1,-6,0,0,2)$, $m_4 = (0,2,-1,-3,2,0)$, $m_5 = (0,4,-1,-5,0,2)$, y $\langle\ ,\ \rangle$ denota el producto interno real canónico.

Observación 4.1.8. Tomamos cualquier vector $h \in \mathbb{R}^n$ y consideramos la *cápsula convexa inferior* $\mathcal{L}$ de los n puntos levantados $(a_j, h_j) \in \mathbb{R}^{d+1}$, con a_j, $j = 1, \ldots, n$, en $\mathcal{A}$ (Ver Figura 4.3). Proyectamos en $\mathbb{R}^d$ los subconjuntos de puntos de cada cara de $\mathcal{L}$. Estos subconjuntos definen una subdivisión regular de $\mathcal{A}$ asociada con h. Cuando el vector de elevación de puntos h es genérico, la subdivisión regular se llama una triangulación regular, en la cual todos los subconjuntos de puntos son simplex. Notemos que dado un simplex $\Delta \subset \mathcal{A}$, el cono C_Δ consiste de todos los vectores h para los cuales la subdivisión regular inducida contiene al simplex Δ. También existen soportes para los cuales no todas las triangulaciones resultan regulares. Para una explicación más detallada ver [BDG18] y las referencias que allí se mencionan.

Dado $h \in \mathbb{R}^n$, consideramos la siguiente familia de sistemas polinomiales parametrizados con un número real τ, que coincide para $\tau = 1$ con el sistema polinomial original (4.3):

$$f_{1,\tau}(x) = \cdots = f_{d,\tau}(x) = 0, \tag{4.10}$$

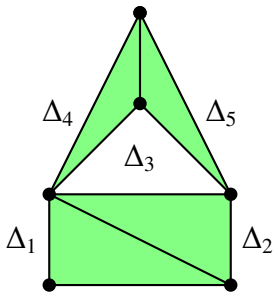


Figura 4.4: Los simplices de $\mathcal{A}$ del Ejemplo 4.1.1 que están decorados positivamente por C.

donde

$$f_{i,\tau}(x) = \sum_{j=1}^{n} c_{ij}\,\tau^{h_j}\,x^{a_j} \in \mathbb{R}[x_1,\ldots,x_d],\ i = 1,\ldots,d.$$

Para cada valor positivo de τ, el soporte del sistema sigue estando incluido en $\mathcal{A}$.

El siguiente resultado es un caso particular del Teorema 3.4 en [BSS18].

Teorema 4.1.9. *Sea $\mathcal{A} = \{a_1,\ldots,a_n\} \subset \mathbb{Z}^d$ una configuración finita de puntos y $C \in \mathbb{R}^{d\times n}$ una matriz $(C)_{ij} = c_{ij}$. Sean Δ_1, Δ_2 dos d-simplices con vértices en $\mathcal{A}$ que comparten una faceta, y que están decorados positivamente por la matriz C. Sea h un vector en el cono C_{Δ_1,Δ_2}. Entonces existe $\tau_0 \in \mathbb{R}_{>0}$ tal que para todo $0 < \tau < \tau_0$, el sistema parametrizado (4.10) tiene al menos dos soluciones (no degeneradas) contenidas en el ortante positivo.*

Ejemplo 4.1.10 (Continuación del Ejemplo 4.1.1)**.** Los 2-simplices

$$\Delta_1 = \{(0,0),(2,0),(0,1)\} \text{ y } \Delta_2 = \{(2,0),(0,1),(2,1)\},$$

que usamos en el Ejemplo 4.1.7 están decorados positivamente por C y comparten una faceta, luego, si tomamos $h \in C_{\Delta_1,\Delta_2}$, el Teorema 4.1.9 nos permite afirmar que existe $\tau_0 \in \mathbb{R}_{>0}$ tal que para todo $0 < \tau < \tau_0$ el sistema (4.6) parametrizado

$$\begin{aligned} \tau^{h_1} - \tau^{h_2}\,2\,x^2 + \tau^{h_3}\,y + \tau^{h_4}\,x^2\,y - \tau^{h_5}\,x\,y^2 &= 0, \\ -\tau^{h_1}\,2 + \tau^{h_2}\,x^2 - \tau^{h_4}\,x^2\,y - \tau^{h_5}\,x\,y^2 + \tau^{h_6}\,x\,y^3 &= 0, \end{aligned} \tag{4.11}$$

tiene al menos dos soluciones positivas no degeneradas.

Más aún, en la Figura 4.4 se muestran en color los 2-simplices del ejemplo principal de este capítulo que están decorados positivamente por C. Se puede probar que, por el Teorema 2.9 en [BDG18], para todo $h \in C_{\Delta_1} \cap C_{\Delta_2} \cap C_{\Delta_4} \cap C_{\Delta_5}$, existe τ_0 tal que para todo $0 < \tau < \tau_0$ el sistema parametrizado (4.11) tiene al menos *cuatro* soluciones positivas (el mismo número que la cantidad de 2-simplices decorados por C).

El siguiente es un resultado similar al anterior, pero en este caso se describe un subconjunto de interior no vacío en el espacio de coeficientes donde se pueden encontrar al menos dos soluciones positivas del sistema asociado. Es una versión simplificada del Teorema 2.11 en [BDG18].

Teorema 4.1.11. *Consideremos el conjunto $\mathcal{A} = \{a_1, \ldots, a_n\}$ de n puntos en $\mathbb{R}^d$ y una matriz $(C)_{ij} = c_{ij} \in \mathbb{R}^{d \times n}$. Supongamos que hay dos d-simplices Δ_1, Δ_2 con vértices en $\mathcal{A}$, que comparten una faceta y están decorados positivamente por la matriz C. Supongamos además que el cono C_{Δ_1, Δ_2} está definido por las desigualdades*

$$\langle m_r, h \rangle > 0, \ r = 1, \ldots, \ell, \tag{4.12}$$

donde $m_r = (m_{r,1}, \ldots, m_{r,n}) \in \mathbb{R}^n$. Entonces existen constantes $M_1, \ldots, M_\ell > 0$ tales que para cualquier γ en el conjunto abierto

$$U = \{\gamma \in \mathbb{R}^n_{>0} \ : \ \gamma^{m_r} < M_r, \ r = 1 \ldots, \ell\},$$

el sistema

$$\sum_{j=1}^{n} c_{ij} \gamma_j x^{a_j} = 0, \quad i = 1, \ldots, d, \tag{4.13}$$

tiene al menos 2 soluciones no degeneradas contenidas en el ortante positivo.

4.2. Cascada enzimática con *n* niveles

En el trabajo ya citado de Giaroli, Bihan y Dickenstein [GBD19], se presentan las condiciones para determinar regiones de multiestacionariedad de una cascada enzimática con *n* niveles y muestran una parametrización explícita para encontrar los múltiples estados estacionarios positivos en la misma clase de compatibilidad estequiométrica. En esta sección presentaremos los resultados generales que usaremos en el próximo capítulo para encontrar parámetros para los cuales la cascada enzimática con 3 niveles resulta multiestacionaria.

Sabemos que para que exista la posibilidad de tener dos o más estados estacionarios positivos en la misma clase de compatibilidad estequiométrica, una condición necesaria es que la misma enzima fosfatasa actúe en al menos dos niveles distintos de la cascada. Hay que diferenciar entre dos casos:

- La misma enzima fosfatasa actuando en niveles consecutivos,
- La misma enzima fosfatasa actuando en niveles no consecutivos.

Para cada uno de estos casos presentan un resultado que garantiza la existencia de parámetros, tanto de las etiquetas de las reacciones como de las cantidades totales de las leyes de conservación, para los cuales la red resulta multiestacionaria. La estrategia será determinar dentro del soporte de la red, dos *d*-simplices que compartan una faceta y que estén decorados positivamente por la matriz de coeficientes. Luego, usando el Teorema 4.1.9, se garantiza la existencia de al menos dos soluciones no degeneradas en el ortante positivo.

4.2.1. Notación general

Usando la notación de la Figura 4.5 (abajo), llamamos S_i^0, S_i^1 a los sustratos que actúan en el i-ésimo nivel para $i = 1, \ldots, n$. El índice superior se interpreta como la ausencia (0) o presencia (1) de un grupo fosfato adherido al sustrato. Cuando se adhiere el grupo fosfato a la enzima, decimos que la enzima está activada. En el primer nivel, el proceso de fosforilación es catalizada por la enzima S_0^1. Una vez que la proteína está activada en el i-ésimo nivel S_i^1 actúa como enzima en el siguiente nivel $(i+1)$ para catalizar la reacción.

El proceso de desfosforilación en el i-ésimo nivel es catalizado por la fosfatasa F_i. Algunas de las enzimas fosfatasa pueden repetirse en más de un nivel y ser iguales a F_i.

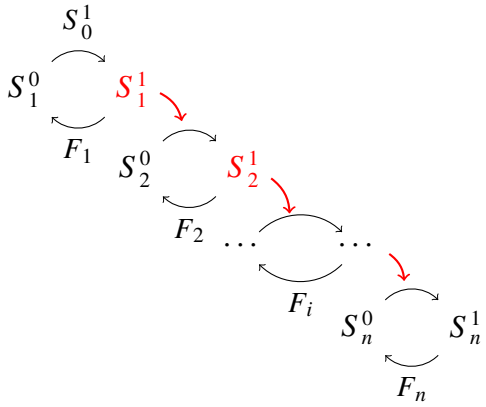


Figura 4.5: Cascada enzimática con n niveles.

El siguiente esquema muestra el i-ésimo nivel de la reacción:

$$S_i^0 + S_{i-1}^1 \underset{k_{\text{off}_i}}{\overset{k_{\text{on}_i}}{\rightleftarrows}} Y_i^0 \xrightarrow{k_{\text{cat}_i}} S_i^1 + S_{i-1}^1, \qquad i = 1 \ldots, n,$$

$$S_i^1 + F_i \underset{\ell_{\text{off}_i}}{\overset{\ell_{\text{on}_i}}{\rightleftarrows}} Y_i^1 \xrightarrow{\ell_{\text{cat}_i}} S_i^0 + F_i, \qquad i = 1, \ldots, n.$$

Notamos $\mathcal{F} = \{P_1, \ldots, P_r\}$ el conjunto de todas las enzimas fosfatasa que aparecen en la red. En este caso tenemos $4n + r + 1$ especies: sustratos $S_0^1, S_1^0, S_1^1, S_2^0, S_2^1, \ldots, S_n^0, S_n^1$, enzimas fosfatasa $P_1, P_2 \ldots P_r$, y especies intermedias $Y_1^0, Y_1^1, Y_2^0, Y_2^1, \ldots, Y_n^0, Y_n^1$. Notaremos las concentraciones de cada especie con letra minúscula. Para cada $j = 1, \ldots, r$, llamamos $\Lambda_j = \{i \in \{1, \ldots, n\} \,:\, F_i = P_j\}$ el conjunto de índices de todas las enzimas fosfatasa iguales a P_j, y consideramos la función que las relaciona $j\colon \{1, \ldots, n\} \to \{1, \ldots, r\}$, definida por $j(i) = j$ si $F_i = P_j$.

El sistema dinámico asociado, cuando modelamos la red bajo la hipótesis de acción de masas resulta:

$$
\begin{aligned}
\frac{ds_i^0}{dt} &= -k_{\mathrm{on_i}} s_i^0 s_{i-1}^1 + k_{\mathrm{off_i}} y_i^0 + \ell_{\mathrm{cat_i}} y_i^1, \quad i = 1, \ldots, n,\\
\frac{ds_i^1}{dt} &= k_{\mathrm{cat_i}} y_i^0 - \ell_{\mathrm{on_i}} s_i^1 p_{j(i)} + \ell_{\mathrm{off}_1} y_i^1 - k_{\mathrm{on}_{i+1}} s_{i+1}^0 s_i^1 + (k_{\mathrm{off}_{i+1}} + k_{\mathrm{cat}_{i+1}}) y_{i+1}^0, \quad i = 1, \ldots, n-1,\\
\frac{ds_n^1}{dt} &= k_{\mathrm{cat_n}} y_n^0 - \ell_{\mathrm{on_n}} s_n^1 p_{j(n)} + \ell_{\mathrm{off_n}} y_n^1,\\
\frac{dy_i^0}{dt} &= k_{\mathrm{on_i}} s_i^0 s_{i-1}^1 - (k_{\mathrm{off_i}} + k_{\mathrm{cat_i}}) y_i^0, \quad i = 1, \ldots, n,\\
\frac{dy_i^1}{dt} &= \ell_{\mathrm{on_i}} s_i^1 p_{j(i)} - (\ell_{\mathrm{off_i}} + \ell_{\mathrm{cat_i}}) y_i^1, \quad i = 1, \ldots, n,\\
\frac{ds_0^1}{dt} &= -\frac{dy_1^0}{dt}, \qquad \frac{dp_j}{dt} = -\sum_{i \in \Lambda_j} \frac{dy_i^1}{dt}, \quad j = 1, \ldots, r.
\end{aligned}
$$

El espacio de las formas lineales que determinan las leyes de conservación tiene dimensión $n + r + 1$, consideramos las siguientes que son linealmente independientes:

$$
\begin{aligned}
s_0^1 + y_1^0 &= S_{0,tot},\\
s_i^0 + s_i^1 + y_i^0 + y_i^1 + y_{i+1}^0 &= S_{i,tot}, \quad i = 1, \ldots, n-1,\\
s_n^0 + s_n^1 + y_n^0 + y_n^1 &= S_{n,tot},\\
p_j + \sum_{i \in \Lambda_j} y_i^1 &= P_{j,tot}, \quad j = 1, \ldots, r.
\end{aligned}
\tag{4.14}
$$

Como mencionamos al comienzo, el hecho de que estas redes tienen estructura MESSI tórica, nos permite afirmar que podemos describir las concentraciones de las especies en estados estacionarios con binomios.

Las concentraciones de las especies intermedias (en estados estacionarios) verifican:

$$
y_i^0 - K_i\, s_{i-1}^1 s_i^0 = 0, \;\; i = 1 \ldots, n, \qquad y_i^1 - L_i\, p_{j(i)} s_i^1 = 0, \;\; i = 1 \ldots, n,
$$

donde $K_i = \dfrac{k_{\mathrm{on_i}}}{k_{\mathrm{off_i}} + k_{\mathrm{cat_i}}}$, $i = 1, \ldots, n$, $L_i = \dfrac{\ell_{\mathrm{on_i}}}{\ell_{\mathrm{off_i}} + \ell_{\mathrm{cat_i}}}$, $i = 1, \ldots, n$.

El resto de los binomios podemos elegirlos (algorítmicamente) como

$$
\eta_i\, s_i^0 s_{i-1}^1 - \nu_i\, s_i^1 p_{j(i)} = 0, \; i = 1, \ldots, n,
$$

donde $\eta_i = k_{\mathrm{cat_i}}\, K_i$, $\nu_i = \ell_{\mathrm{cat_i}}\, L_i$, $i = 1, \ldots, n$.

Podemos parametrizar los estados estacionarios positivos con monomios, por ejemplo, podemos describir las concentraciones de todas las especies en términos de s_i^1, para $i = 0, 1, \ldots, n$ y $p_1, \ldots, p_r$:

$$
\begin{aligned}
s_i^0 &= G_i \tfrac{s_i^1 p_{j(i)}}{s_{i-1}^1}, \qquad i = 1, \ldots, n,\\
y_i^0 &= K_i\, G_i\, s_i^1 p_{j(i)}, \quad i = 1, \ldots, n,\\
y_i^1 &= L_i\, s_i^1 p_{j(i)}, \qquad i = 1, \ldots, n,
\end{aligned}
$$

donde $G_i = \dfrac{\nu_i}{\eta_i}$ para todo $i = 1, \ldots, n$.

Para cada $j = 1, \ldots, n$ notaremos:

$$A_j = \frac{\ell_{\text{cat}_j}}{k_{\text{cat}_j}}. \tag{4.15}$$

4.2.2. Teoremas que garantizan multiestacionariedad en la cascada enzimática

Primero supongamos que en la cascada enzimática con n niveles está actuando la misma enzima fosfatasa F en dos niveles consecutivos i_0, $i_0 + 1$, $1 \leq i_0 \leq n - 1$, esto es, $P_{j(i_0)} = P_{j(i_0+1)}$, y no imponemos ninguna restricción para el resto de los niveles.

Sean $\alpha_{1,i_0}, \alpha_{2,i_0}, \alpha_{3,i_0}$ y α_{4,i_0} correspondientes a las restricciones de los niveles i_0 y i_0+1, definidas como sigue:

$$\begin{aligned}
\alpha_{1,\,i_0} =& \frac{S_{\,i_0,tot}}{F_{\,tot}} - A_{i_0+1},\\
\alpha_{2,\,i_0} =& (A_{i_0} + 1) - \frac{S_{\,i_0,tot}}{F_{\,tot}},\\
\alpha_{3,\,i_0} =& \frac{A_{i_0} + 1 - A_{i_0+1}}{A_{i_0}} \frac{S_{\,i_0-1,tot}}{F_{\,tot}} - \left(\frac{S_{\,i_0,tot}}{F_{\,tot}} - A_{i_0+1}\right),\\
\alpha_{4,\,i_0} =& \frac{A_{i_0} + 1 - A_{i_0+1}}{A_{i_0+1} + 1} \frac{S_{\,i_0+1,tot}}{F_{\,tot}} - \left(A_{i_0} + 1 - \frac{S_{\,i_0,tot}}{F_{\,tot}}\right),
\end{aligned}$$

donde $F_{tot} = P_{j(i_0),tot} = P_{j(i_0+1),tot}$.

El siguiente resultado garantiza la existencia de múltiples estados estacionarios positivos:

Teorema 4.2.1 (Teorema 5.1 en [GBD19])**.** *Suponemos $n \geq 3$, y que hay dos niveles consecutivos i_0, $i_0 + 1$, con $1 \leq i_0 \leq n - 1$, en los cuales actúa la misma enzima fosfatasa (sin restricciones para el resto de los niveles). Sean A_{i_0}, A_{i_0+1} como las definimos en* (4.15)*. Si las constantes de reacción y las cantidades totales de las leyes de conservación verifican las desigualdades*

$$A_{i_0} + 1 > A_{i_0+1} \tag{4.16}$$

$$\alpha_{1,\,i_0}, \alpha_{2,\,i_0}, \alpha_{3,\,i_0}, \alpha_{4,\,i_0} > 0,$$

esto es:

$$A_{i_0} + 1 > \frac{S_{\,i_0,tot}}{F_{\,tot}} > A_{i_0+1}, \quad \frac{S_{\,i_0-1,tot}}{F_{\,tot}} > \left(\frac{S_{\,i_0,tot}}{F_{\,tot}} - A_{i_0+1}\right) \frac{A_{i_0}}{A_{i_0} + 1 - A_{i_0+1}},$$

$$\frac{S_{\,i_0+1,tot}}{F_{\,tot}} > \left(A_{i_0} + 1 - \frac{S_{\,i_0,tot}}{F_{\,tot}}\right) \frac{A_{i_0+1} + 1}{A_{i_0} + 1 - A_{i_0+1}},$$

o verifican

$$A_{i_0} + 1 < A_{i_0+1}, \quad \alpha_{1,\,i_0}, \alpha_{2,\,i_0}, \alpha_{3,\,i_0}, \alpha_{4,\,i_0} < 0.$$

Entonces se pueden reescalar las constantes $k_{on_i}, i = 1, \dots, n$ y ℓ_{on_i}, $i = 1, \dots, n$, para que el sistema de ecuaciones asociado a la red tenga al menos dos soluciones positivas, es decir, para que existan al menos dos estados estacionarios positivos de la red.

Ahora supongamos que los niveles $i_1 < i_2$ que comparten la misma enzima fosfatasa son no consecutivos. Asumimos además que no hay en toda la red dos niveles consecutivos que comparten la misma enzima fosfatasa (en ese caso estaríamos en el caso anterior). Entonces existen i_1, i_2, con $1 \leq i_1 < i_1 + 1 < i_2 \leq n$, tales que $P_{j(i_1)} = P_{j(i_2)} = F$, y $P_{j(i)}$ para los niveles intermedios entre i_1 e i_2, $i = i_1 + 1, \dots, i_2 - 1$, son todas distintas y diferentes de F. No necesitamos imponer ninguna restricción para el resto de los niveles $1, \dots, i_1 - 1, i_2 + 1, \dots, n$.

Consideramos las funciones racionales $\beta_{1,i_1,i_2}, \beta_{2,i_1,i_2}, \beta_{3,i_1,i_2}$ y β_{4,i_1,i_2} que dependen de las constantes de reacción y del vector de cantidades totales de las leyes de conservación:

$$\begin{aligned}
\beta_{1,i_1,i_2} =& \frac{S_{i_1-1,tot}}{S_{i_1,tot}} - \frac{A_{i_1}}{A_{i_1+1}}, \\
\beta_{2,i_1,i_2} =& (A_{i_1} + 1) - \frac{S_{i_1,tot}}{F_{tot}}, \\
\beta_{3,i_1,i_2} =& \frac{S_{i_2-1,tot}}{F_{tot}} - (A_{i_1} + 1)\, \frac{S_{i_2,tot}}{F_{tot}}, \\
\beta_{4,i_1,i_2} =& \frac{S_{i_1,tot}}{F_{tot}} - \left(\frac{A_{i_1} + 1}{A_{i_2} + 1}\right) \left(A_{i_2} + 1 - \frac{S_{i_2,tot}}{F_{tot}}\right),
\end{aligned}$$

donde $F_{tot} = P_{j(i_1),tot} = P_{j(i_2),tot}$.

El siguiente resultado garantiza la existencia de múltiples estados estacionarios positivos de la red en este caso:

Teorema 4.2.2 (Teorema 5.2 en [GBD19])**.** *Suponemos $n \geq 3$, y que existen niveles i_1, i_2, con $1 \leq i_1 < i_1 + 1 < i_2 \leq n$, tales que $P_{j(i_1)} = P_{j(i_2)} = F$, y $P_{j(i)}$ para $i = i_1 + 1, \dots, i_2 - 1$ son todas distintas y diferentes de F, sin restricciones para el resto de los niveles. Si las constantes de reacción y las cantidades totales de las leyes de conservación verifican*

$$\beta_{1,i_1,i_2}, \beta_{2,i_1,i_2}, \beta_{3,i_1,i_2}, \beta_{4,i_1,i_2} > 0.$$

Entonces se pueden reescalar las constantes $k_{on_i}, i = 1, \dots, n$ y ℓ_{on_i}, $i = 1, \dots, n$, para que el sistema de ecuaciones asociado a la red tenga al menos dos soluciones positivas, es decir, para que existan al menos dos estados estacionarios positivos de la red.

Observación 4.2.3. Los Teoremas 4.2.1 y 4.2.2 afirman que, si se verifican las hipótesis respectivas, es suficiente con reescalar las constantes de las reacciones que tienen como fuente un complejo core. La garantía de que la cantidad de soluciones no cambia entre el sistema de ecuaciones original y el sistema reescalado, es el Teorema 5.4 de [BDG18].

En el próximo capítulo usaremos estos resultados para encontrar parámetros que garanticen la multiestacionariedad de la cascada enzimática con 3 niveles.

Capítulo 5

Aplicación: Cascada enzimática con 3 niveles.

5.1. Cascadas de fosforilación y desfosforilación

La fosforilación es la adición de un grupo fosfato a cualquier otra molécula. Su papel predominante en la bioquímica lo convierte en un importante objeto de investigación sobre todo en la fosforilación de proteínas y de fructosa. En el metabolismo, la fosforilación (y desfosforilación) es el mecanismo básico de transporte de energía desde los lugares donde se produce hasta los lugares donde se necesita. Asimismo, es uno de los principales mecanismos de regulación de la actividad de proteínas en general y de las enzimas en particular.

Estas estructuras, que llamamos cascadas enzimáticas, también aparecen con frecuencia bajo el nombre de ciclos enzimáticos, o cascadas de señalización, porque sirven como bloques intermedios básicos en *vías de señalización*: es la descripción de una serie de reacciones químicas en las que un grupo de moléculas de la célula trabajan juntas para controlar las funciones celulares, como la multiplicación o la destrucción celular. Las células reciben señales del entorno cuando una molécula (como una hormona o factor de crecimiento) se une a una proteína específica (llamada receptor) sobre la célula o dentro de ella. Después de que la primera molécula de la vía de señalización recibe la señal, se activa otra molécula y este proceso se repite durante toda la vía hasta que la última molécula se activa y cumple con la función celular. La activación anormal de las vías de señalización podría producir enfermedades, como el cáncer. Las cascadas enzimáticas participan en procesos de control metabólico, división celular (coagulación sanguínea, desarrollo embrionario, etc.) y apoptosis. La regulación de la actividad de las proteínas implica principalmente eventos de fosforilación / desfosforilación, que conducen a su activación o inhibición, según sea el caso.

Un ejemplo muy importante es el de la proteína quinasa activada por mitógenos, o cascadas de quinasa “MAPK”, que regulan las actividades celulares primarias como la proliferación, diferenciación y apoptosis en eucariotas desde levaduras hasta humanos. Estos sistemas son sistemas biológicos de señalización en los que una proteína histidina quinasa (HK), en respuesta a un estímulo, se autofosforila para después transferir esa señal

química a otra proteína llamada proteína reguladora de respuesta (RR). [CK01], [AL01], [CFR08]. En cada paso de la cascada, varios factores de control están involucrados para regular las acciones celulares, a fin de responder de manera efectiva a las señales sobre sus distintos entornos internos y externos.

Otro ejemplo: en la primera reacción de la glucólisis, que es el primer paso en la degradación de la glucosa para extraer energía para el metabolismo celular, la enzima hexoquinasa adiciona un grupo fosfato al carbono 6 de la glucosa mediante la fosforilación a nivel de sustrato con dos objetivos: aumentar su energía y así poder utilizarla en otros procesos cuando sea necesario; y evitar la pérdida de sustrato energético para la célula produciendo la molécula glucosa-6-fosfato que -a diferencia de la glucosa- tiene la ventaja de que no puede cruzar la membrana celular ya que la carga negativa que le proporciona el grupo fosfato a la molécula hace que sea más difícil atravesarla.

Para profundizar sobre la importancia de estas redes y la relación con el trabajo aquí presente se puede consultar [RMBS16].

El caso de la cascada enzimática con dos niveles fue estudiado por Feliu y Wiuf en [FKLW12] y determinaron que si en cada nivel actúa una enzima fosfatasa distinta la red resulta monoestacionaria; en cambio, si en ambos niveles actúa la misma enzima F la red resulta multiestacionaria. Se puede deducir del trabajo de Banaji y Pantea [BP18] que en una cascada enzimática con n niveles, si los últimos dos comparten la misma enzima fosfatasa, los parámetros que garantizan la multiestacionariedad de la red en el caso $n = 2$ pueden extenderse para garantizar la multiestacionariedad en el caso general.

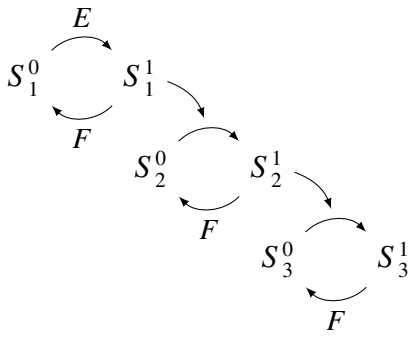
En la cascada enzimática que analizamos, la enzima E (kinasa) actúa como catalizadora de la reacción, aumentando la velocidad de reacción entre las especies al adherir un grupo fosfato al sustrato involucrado, que notamos S, y notamos S_i^0 cuando el sustrato del i-ésimo nivel está *libre* y S_i^1 cuando está adherido a un grupo fosfato, en este caso decimos que el sustrato está *activado*. La enzima fosfatasa F actúa como catalizadora del proceso inverso, la desfosforilación.

El grafo de la cascada enzimática con 3 niveles que representa esta serie de reacciones consecutivas es

$$S_1^0 + E \underset{\kappa_{12}}{\overset{\kappa_{11}}{\rightleftarrows}} Y_1^0 \xrightarrow{\kappa_{13}} S_1^1 + E \qquad S_2^0 + S_1^1 \underset{\kappa_{22}}{\overset{\kappa_{21}}{\rightleftarrows}} Y_2^0 \xrightarrow{\kappa_{23}} S_2^1 + S_1^1 \qquad S_3^0 + S_2^1 \underset{\kappa_{32}}{\overset{\kappa_{31}}{\rightleftarrows}} Y_3^0 \xrightarrow{\kappa_{33}} S_3^1 + S_2^1$$

$$S_1^1 + F \underset{t_{12}}{\overset{t_{11}}{\rightleftarrows}} Y_1^1 \xrightarrow{t_{13}} S_1^0 + F \qquad S_2^1 + F \underset{t_{22}}{\overset{t_{21}}{\rightleftarrows}} Y_2^1 \xrightarrow{t_{23}} S_2^0 + F \qquad S_3^1 + F \underset{t_{32}}{\overset{t_{31}}{\rightleftarrows}} Y_3^1 \xrightarrow{t_{33}} S_3^0 + F$$

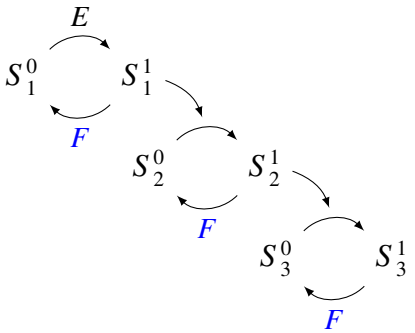
El siguiente es un esquema reducido que usamos para representar esta red en el que se indica que en el primer nivel, la especie E actúa como enzima catalizadora de la fosforilación, acelerando los tiempos de reacción y en los niveles 2 y 3 las especies que actúan como enzima catalizadora son los sustratos activados S_1^1 y S_2^1 respectivamente. La enzima fosfatasa F es la encargada del proceso inverso, la desfosforilación:



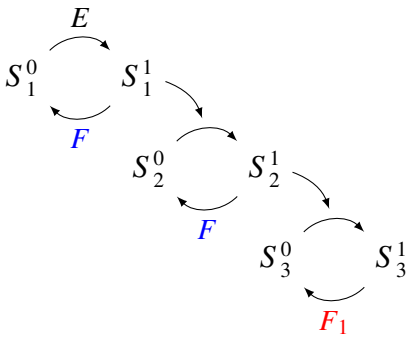
La cascada enzimática es un ejemplo de una red con estructura MESSI, es decir, existe una partición de las especies involucradas en la red que determina esa estructura. Es por esto que podremos usar los resultados y el algoritmo presentados en el Capítulo 3 del presente trabajo.

Analizamos la cascada enzimática con tres niveles haciendo variaciones de la enzima fosfatasa presente en cada nivel. La idea es determinar cuáles de estas variantes resultan multiestacionarias y cuáles no. Además, en los casos en que la red resulte multiestacionaria, usaremos el algoritmo presentado en el Capítulo 3, que fue implementado por el Lic. Guillermo Mosse bajo la coordinación de Dra. Mercedes Pérez Millán y Dra. Alicia Dickenstein, para encontrar los valores de los parámetros que la garantizan y mostraremos dos vectores de concentración de las especies que pertenezcan a la misma clase de compatibilidad estequiométrica que serán nuestros *testigos de multiestacionariedad*.
Las variantes que analizamos son:

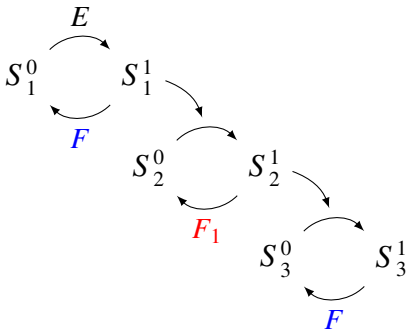
- Versión 1: la misma enzima F actuando en los tres niveles.



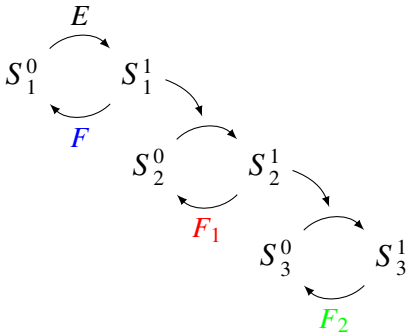
- Versión 2: dos enzimas fosfatasa iguales actuando en niveles consecutivos: F en el primer y segundo nivel, y una enzima distinta $F_1 \neq F$ en el tercer nivel.



- Versión 3: dos enzimas fosfatasa iguales actuando en niveles no consecutivos: F en el primer y tercer nivel, $F_1 \neq F$ en el segundo nivel.



- Versión 4: tres enzimas fosfatasa distintas actuando F, F_1, F_2, una en cada nivel.



Las especies involucradas en todas estas versiones de cascadas enzimáticas son

$$\mathcal{X} = \left\{E, F, F_1, F_2, S_1^0, S_1^1, S_2^0, S_2^1, S_3^0, S_3^1, Y_1^0, Y_1^1, Y_2^0, Y_2^1, Y_3^0, Y_3^1\right\}$$

Para facilitar la notación nombraremos las concentraciones de las especies de acuerdo al siguiente listado:

$$e = [E],\ f = [F],\ g = [F_1],\ h = [F_2]$$
$$x_1 = [S_1^0],\ x_2 = [S_1^1],\ x_3 = [S_2^0],\ x_4 = [S_2^1],\ x_5 = [S_3^0],\ x_6 = [S_3^1]$$
$$y_1 = [Y_1^0],\ y_2 = [Y_1^1],\ y_3 = [Y_2^0],\ y_4 = [Y_2^1],\ y_5 = [Y_3^0],\ y_6 = [Y_3^1]$$

5.2. Una primera aproximación al problema de decidir multiestacionariedad de la red

Para entender un poco la dificultad de decidir multiestacionariedad en una red, es decir, si existen dos o más soluciones positivas en la intersección de la variedad de estados estacionarios y alguna clase de compatibilidad estequiométrica, lo primero que podemos hacer es, a partir del sistema EDO asociado a la red $\dot{x} = f(x)$, intentaremos resolver $f(x) = 0$ habiendo fijado previamente los parámetros de las reacciones (coeficientes que aparecen en las ecuaciones polinomiales del sistema asociado). Mostraremos la primera aproximación analizando la Versión 1, en la cual actúa la misma enzima fosfatasa F en todos los niveles. Y aprovechamos para mostrar algunos elementos de *Redes de reacciones químicas* que definimos en el Capítulo 1 del presente trabajo a modo de ejemplo.

5.2.1. Versión 1:

Consideramos el conjunto de especies en el siguiente orden:

$$\mathcal{X} = \left\{E, F, S_1^0, S_1^1, S_2^0, S_2^1, S_3^0, S_3^1, Y_1^0, Y_1^1, Y_2^0, Y_2^1, Y_3^0, Y_3^1\right\} \quad \#\mathcal{X} = 14$$

El sistema de ecuaciones diferenciales asociado, cuando modelamos bajo la hipótesis de acción de masas, queda determinado por:

$$\begin{cases}
\dot{e} &= -\kappa_{11}\, e\, x_1 + (\kappa_{12} + \kappa_{13})\, y_1 \\
\dot{f} &= -t_{11}\, f\, x_2 - t_{21}\, f\, x_4 - t_{31}\, f\, x_6 + (t_{12} + t_{13})\, y_2 + (t_{22} + t_{23})\, y_4 + (t_{32} + t_{33})\, y_6 \\
\dot{x}_1 &= -\kappa_{11}\, e\, x_1 + \kappa_{12}\, y_1 + t_{13}\, y_2 \\
\dot{x}_2 &= -t_{11}\, f\, x_2 - \kappa_{21}\, x_2\, x_3 + \kappa_{13}\, y_1 + t_{12}\, y_2 + (\kappa_{22} + \kappa_{23})\, y_3 \\
\dot{x}_3 &= -\kappa_{21}\, x_2\, x_3 + \kappa_{22}\, y_3 + t_{23}\, y_4 \\
\dot{x}_4 &= -t_{21}\, f\, x_4 - \kappa_{31}\, x_4\, x_5 + \kappa_{23}\, y_3 + t_{22}\, y_4 + (\kappa_{32} + \kappa_{33})\, y_5 \\
\dot{x}_5 &= -\kappa_{31}\, x_4\, x_5 + \kappa_{32}\, y_5 + t_{33}\, y_6 \\
\dot{x}_6 &= -t_{31}\, f\, x_6 + \kappa_{33}\, y_5 + t_{32}\, y_6 \\
\dot{y}_1 &= \kappa_{11}\, e\, x_1 - (\kappa_{12} + \kappa_{13})\, y_1 \\
\dot{y}_2 &= t_{11}\, f\, x_2 - (t_{12} + t_{13})\, y_2 \\
\dot{y}_3 &= \kappa_{21}\, x_2\, x_3 - (\kappa_{22} + \kappa_{23})\, y_3 \\
\dot{y}_4 &= t_{21}\, f\, x_4 - (t_{22} + t_{23})\, y_4 \\
\dot{y}_5 &= \kappa_{31}\, x_4\, x_5 - (\kappa_{32} + \kappa_{33})\, y_5 \\
\dot{y}_6 &= t_{31}\, f\, x_6 - (t_{32} + t_{33})\, y_6
\end{cases}$$

La matriz de estequiometría de la red, $N \in \mathbb{R}^{14\times 12}$ (sus columnas generan el subespacio

estequiométrico S):

$$N = \begin{pmatrix} -1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 1 & 0 & 0 & -1 & 1 & 0 & 0 & -1 & 1 \\ -1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 & -1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & -1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 \\ 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & -1 \end{pmatrix}$$

$dim(S) = 9$. Podemos eliminar, por ejemplo, las columnas 4, 8 y 12 que se pueden escribir como combinación lineal del resto de las columnas, y tendremos una base del subespacio estequiométrico. Como el $rango(N) = 9$, se sabe que hay 9 ecuaciones del sistema que forman un conjunto linealmente independiente. En este caso, como cada componente conexa del grafo tiene una única componente terminal fuertemente conexa, por la Proposición 3.2.2 presentada en el Capítulo 3, el subespacio cinético y el subespacio estequiométrico de la red coinciden, y entonces todas las leyes de conservación provienen de $S^{\perp}$. Dado que $dim(S^{\perp}) = 5$, en este sistema quedarán definidas 5 leyes de conservación, a saber:

$$\left.\begin{aligned} e + y_1 &= T_1 \\ f + y_2 + y_4 + y_6 &= T_2 \\ x_1 + x_2 + y_1 + y_2 + y_3 &= T_3 \\ x_3 + x_4 + y_3 + y_4 + y_5 &= T_4 \\ x_5 + x_6 + y_5 + y_6 &= T_5 \end{aligned}\right\}$$

donde los valores $T_i, i = 1, ..., 5$ representan las cantidades totales de la enzima E, de la enzima fosfatasa F y de los sustratos S_1, S_2, S_3 respectivamente.

La idea que podemos usar para analizar la multiestacionariedad de la red, es parametrizar el sistema usando las leyes de conservación y la concentración de las especies en estados estacionarios. El beneficio es que quedará un sistema con menos ecuaciones (tantas como leyes de conservación) pero el problema es que la cantidad de términos es, en general, grande, lo que dificulta su resolución.

Si despejamos las concentraciones de las especies intermedias en estados estacionarios, es decir

$$\dot{y}_i = 0,\ i = 1, \ldots, 6,$$

por ejemplo,

$$\dot{y}_1 = \kappa_{11}\, e\, x_1 - (\kappa_{12} + \kappa_{13})\, y_1$$

$$0 = \kappa_{11}\, e\, x_1 - (\kappa_{12} + \kappa_{13})\, y_1$$

$$\Rightarrow y_1 = \frac{\kappa_{11}}{\kappa_{12} + \kappa_{13}}\, e\, x_1$$

Las ecuaciones de las especies intermedias en estados estacionarios dan lugar a los siguientes binomios:

$$\begin{array}{rclrcl} y_1 - K_1\, x_1\, e & = & 0, & y_4 - L_2\, x_4\, f & = & 0, \\ y_2 - L_1\, x_2\, f & = & 0, & y_5 - K_3\, x_5\, x_4 & = & 0, \\ y_3 - K_2\, x_3\, x_2 & = & 0, & y_6 - L_3\, x_6\, f & = & 0. \end{array} \tag{5.1}$$

donde las constantes K_i, L_i corresponden a las inversas de las constantes de Michaelis-Menten:

$$K_i = \frac{\kappa_{i1}}{\kappa_{i2} + \kappa_{i3}};\ \ L_i = \frac{t_{i1}}{t_{i2} + t_{i3}},\quad \text{para } i = 1, 2, 3.$$

Por otro lado, las ecuaciones correspondientes a las enzimas y sustratos

$$E, F, S_i^0, S_i^1 \text{ para } i = 1, 2, 3,$$

en estados estacionarios, $\dot{e} = \dot{f} = \dot{x_1} = \dot{x_2} = \dot{x_3} = \dot{x_4} = \dot{x_5} = \dot{x_6} = 0$, reemplazando las concentraciones de las especies intermedias en estados estacionarios calculadas en (5.1), dan lugar a las siguientes ecuaciones binomiales *linealmente independientes*:

$$\begin{array}{rcl} x_1\, e - c_1\, f\, x_2 & = & 0, \\ x_2\, x_3 - c_2\, f\, x_4 & = & 0, \\ x_4\, x_5 - c_3\, f\, x_6 & = & 0, \end{array}$$

donde las constantes c_1, c_2, c_3 son funciones racionales de los parámetros κ_{ij}, t_{ij}.

Obtenemos la parametrización al reemplazar en las ecuaciones de las leyes de conservación la información de las concentraciones de las especies en estados estacionarios, escribimos todo en función de las variables e, f, x_2, x_4, x_6. En este caso queda un sistema de 5 ecuaciones en 5 variables con 14 parámetros:

$$\left.\begin{array}{rcl} e + c_1\, K_1\, f\, x_2 - T_1 & = & 0 \\ f + L_1\, x_2\, f + L_2\, x_4\, f + L_3\, x_6\, f - T_2 & = & 0 \\ c_1\, x_2\, f + e\, x_2 + c_1\, K_1\, e\, x_2\, f + L_1\, e\, x_2\, f + c_2\, K_2\, e\, x_4\, f - e\, T_3 & = & 0 \\ c_2\, x_4\, f + x_2\, x_4 + c_2\, K_2\, x_2\, x_4\, f + L_2\, x_2\, x_4\, f + c_3\, K_3\, x_2\, x_6\, f - x_2\, T_4 & = & 0 \\ c_3\, x_6\, f + x_4\, x_6 + c_3\, K_3\, x_4\, x_6\, f + L_3\, x_4\, x_6\, f - x_4\, T_5 & = & 0 \end{array}\right\}$$

Una primera prueba fue ingresar en Singular [DGPS13] [DL06] el sistema, definiendo los valores de los parámetros, para calcular raíces comunes de estos 5 polinomios. Eliminamos variables con orden dp y calculamos una base de Groebner reducida del ideal formado por ellos [CLO07]. Si bien logramos acotar *por arriba* la cantidad de soluciones positivas, no logramos sin un método más específico, definir exactamente la cantidad de soluciones positivas del sistema. Tampoco nos sirve esta prueba para analizar para qué valores de los parámetros existen (sabemos que las hay) múltiples soluciones positivas.
Al calcular una base de Groebner reducida, eliminamos 4 de las 5 variables, y encontramos dentro del ideal un polinomio en una variable, lo que garantiza (Shape Lemma) que el cardinal de la variedad es finito, y usamos la Regla de los signos de Descartes para acotar la cantidad de estados estacionarios positivos. Recordamos esta regla que sirve para acotar la cantidad de raíces reales positivas de un polinomio *en una variable*:

Teorema 5.2.1 (Regla de los signos de Descartes)**.** *Sea* $p(x) \in \mathbb{R}[x]$,

$$p(x) = a_n\, x^n + a_{n-1}\, x^{n-1} + \cdots + a_1\, x + a_0$$

un polinomio de grado n en una variable. Sea $\sigma(p)$ *la cantidad de cambios de signo entre los coeficientes del polinomio p,* $(a_n, a_{n-1}, \ldots, a_1, a_0)$ *omitiendo los coeficientes nulos, entonces:*

- *La cantidad de raíces reales positivas de* $p(x)$ *es menor o igual que* $\sigma(p)$*.*
- *La cantidad de raíces reales positivas tiene la misma paridad que el número* $\sigma(p)$*. Son iguales módulo* 2*.*

Primero ingresamos en SINGULAR los polinomios y fijamos los valores de los parámetros:

```
> ring r=(0,c1,c2,c3,c4,c5,c6,c7,c8,c9,t1,t2,t3,t4,t5),(x2, x4, x6, e, f), dp;
> poly h1=e+c4*f*x2-t1;
> poly h2=f+c5*f*x2+c7*f*x4+c9*f*x6-t2;
> poly h3=c1*f*x2+e*x2+c4*e*f*x2+c5*e*f*x2+c6*e*f*x4-e*t3;
> poly h4=c2*f*x4+x2*x4+c6*x2*f*x4+c7*x2*f*x4+c8*x2*f*x6-x2*t4;
> poly h5=c3*f*x6+x4*x6+c8*f*x4*x6+c9*f*x4*x6-x4*t5;

> ideal i=h1,h2,h3,h4,h5;
> subst(i,c1,2,c2,1,c3,4,c4,6,c5,1,c6,1,c7,8,c8,10,c9,6,t1,2,
t2,7,t3,5,t4,4,t5,1);
```

Definimos el nuevo anillo de polinomios con los coeficientes fijos, calculamos una base de Groebner reducida y eliminamos las variables e, x_2, x_4, x_6:

```
> ring r=(0), (x2,x4,x6,e,f), dp;
> poly H1=6*x2*f+e-2;
> poly H2=x2*f+8*x4*f+6*x6*f+f-7;
> poly H3=7*x2*e*f+x2*e+2*x2*f+x4*e*f-5*e;
> poly H4=9*x2*x4*f+x2*x4+10*x2*x6*f-4*x2+x4*f;
> poly H5=16*x4*x6*f+x4*x6-x4+4*x6*f;

> option(redSB);
> ideal I=H1,H2,H3,H4,H5;
> ideal J=eliminate(I, e*x2*x4*x6);
> J;

J[1]=4473004032*f^15-9082088064*f^14-239985698112*f^13+267318062400*f^12
+4773671117328*f^11-2265638623260*f^10-37641210609474*f^9-6471534764679*f^8
+93115284899853*f^7+86503727465129*f^6+33812660551852*f^5+7115233670558*f^4
+863163818420*f^3+60145128920*f^2+2229513120*f+34003200
```

Obtuvimos un polinomio de grado 15 en una variable. La cantidad de raíces reales positivas de este polinomio será una cota superior para la cantidad de estados estacionarios positivos de la red. Si contamos la cantidad de variaciones de signo que hay entre los términos del polinomio:

$$V(+,-,-,+,+,-,-,-,+,+,+,+,+,+,+,+) = 4$$

Entonces, por el Teorema 5.2.1, la cantidad de raíces reales positivas de este polinomio es $0, 2$ o 4. Si calculamos las raíces del polinomio con MAPLE obtenemos 4 raíces reales positivas y 9 raíces reales negativas:

```
2.554847607, 3.672720403, 4.090589046, 5.534386648, -2.804368763,
-1.541539528,-0.2476494318,-0.2261640954,-0.1739274970,-0.1341995692,
-0.07366067399,-0.07225842296,-0.06198277193.
```

Sabemos que esta es sólo una cota superior para las posibles soluciones positivas del sistema: de las raíces positivas deberíamos analizar cuáles son, si hay una o más de una, que también resuelva el resto de las ecuaciones del sistema de forma *positiva*, es decir, que al despejar una a una el resto de las variables también tomen valores reales positivos.

Si usamos el comando **firstoct** de SINGULAR, calcula la cantidad de raíces reales positivas comunes a todos los polinomios del sistema (con los parámetros que fijamos antes). Llegamos a que este sistema tiene una única solución positiva:

```
>ring r=(0), (x2,x4,x6,e,f), dp;
>poly H1=6*x2*f+e-2;
>poly H2=x2*f+8*x4*f+6*x6*f+f-7;
>poly H3=7*x2*e*f+x2*e+2*x2*f+x4*e*f-5*e;
>poly H4=9*x2*x4*f+x2*x4+10*x2*x6*f-4*x2+x4*f;
>poly H5=16*x4*x6*f+x4*x6-x4+4*x6*f;

>option(redSB);
>ideal I=H1,H2,H3,H4,H5;
>firstoct(I);
1
```

Ahora bien, sabemos que la cascada enzimática es multiestacionaria si dos o más niveles comparten la misma enzima fosfatasa F. Lo que está *fallando* es que elegimos al azar los valores de los parámetros de las reacciones que definen la variedad de estados estacionarios. Podemos ver, entonces, que sin un análisis más específico de los posibles parámetros del sistema será difícil obtener múltiples soluciones positivas *por tanteo*.

5.3. Levantando multiestacionariedad desde subredes

5.3.1. Subred que comparte el subespacio estequiométrico con la red original

En este ejemplo analizamos una subred de la cascada enzimática (Versión 1) que comparte el subespacio estequiométrico con la red original. Como vimos en el Capítulo 2, si

una subred admite múltiples estados estacionarios positivos, entonces podremos encontrar, en un entorno de esos puntos, estados estacionarios positivos de la red original. Entonces, si la subred resulta multiestacionaria, la red original también lo será. El beneficio de estudiar subredes es que la cantidad de términos que aparecen en las ecuaciones del sistema será menor, y por lo tanto, baja la dificultad del problema.

Como la subred tiene estructura MESSI s-tórica, usamos la implementación del algoritmo que figura en el Capítulo 3.

La subred que analizamos es la que se muestra en el siguiente grafo:

$$S_1^0 + E \overset{\kappa_{11}}{\to} Y_1^0 \overset{\kappa_{13}}{\to} S_1^1 + E \qquad S_2^0 + S_1^1 \overset{\kappa_{21}}{\to} Y_2^0 \overset{\kappa_{23}}{\to} S_2^1 + S_1^1 \qquad S_3^0 + S_2^1 \overset{\kappa_{31}}{\to} Y_3^0 \overset{\kappa_{33}}{\to} S_3^1 + S_2^1$$

$$S_1^1 + F \overset{t_{11}}{\to} Y_1^1 \overset{t_{13}}{\to} S_1^0 + F \qquad S_2^1 + F \overset{t_{21}}{\to} Y_2^1 \overset{t_{23}}{\to} S_2^0 + F \qquad S_3^1 + F \overset{t_{31}}{\to} Y_3^1 \overset{t_{33}}{\to} S_3^0 + F$$

A diferencia de la red original esta (sub)red no tiene reacciones reversibles, entonces tiene 6 reacciones menos y, por ende, 6 parámetros menos. Las especies involucradas en la red son las mismas y el subespacio estequiométrico S coincide con el de la red original.

Mostramos a continuación los resultados de la aplicación del algoritmo y más adelante compararemos estos valores con los resultados obtenidos para la red original.

```
Input:
(S01+E,Y01,k11)
(Y01,S11+E,k13)
(S11+F,Y11,t11)
(Y11,S01+F,t13)
(S02+S11,Y02,k21)
(Y02,S12+S11,k23)
(S12+F,Y12,t21)
(Y12,S02+F,t23)
(S03+S12,Y03,k31)
(Y03,S13+S12,k33)
(S13+F,Y13,t31)
(Y13,S03+F,t33)
END

Estructura MESSI:

Y01
Y11
Y02
Y12
Y03
Y13
END
E
```

```
END
F
END
S01
S11
END
S02
S12
END
S03
S13
END_CORES

Output:
Sigma is mixed! This system is multistationary.

Two vectors with the same sign, corresponding to the orthant
(-1, 1, -1, -1, -1, -1, 1, 1, 1, 1, -1, -1, 1, -1),
are [-11, 6, -5, -3, -2, -5, 4, 1, 3, 1, -4, -1, 1, -1], from M1,
and [-1, 1, -1, -1, -1, -1, 1, 4, 1, 3, -3, -9, 13, -1], from M2.

We have found multistationarity witnesses.

Concentrations for x1:
E: 0.0024849116568445855 | F: 1.1565176427496657   |
S01: 1.0000167019797417  | S11: 1.052395696491256  |
S02: 0.01865736036377405 | S12: 0.05239569649125595|
S03: 3.0559720810913222  | S13: 7.565697189301244  |
Y01: 1.0067836549063043  | Y11: 1.0067836549063043 |
Y02: 2.327906827477306   | Y12: 1.7459301206079794 |
Y03: 14.237790361823938  | Y13: 1.5819767068693265

Concentrations for x2:
E: 1.0024849116568446     | F: 0.15651764274966568   |
S01: 1.670197974171391e-05| S11: 0.05239569649125595 |
S02: 1.018657360363774    | S12: 1.052395696491256   |
S03: 0.05597208109132214  | S13: 20.565697189301243  |
Y01: 0.006783654906304231 | Y11: 0.006783654906304231|
Y02: 6.327906827477306    | Y12: 4.745930120607979   |
Y03: 5.237790361823938    | Y13: 0.5819767068693265

Reaction constants:
k11: 804.8441444948737  | k13: 1.986524106001829  |
t11: 1.6432311907892174 | t13: 1.986524106001829  |
```

```
k21: 101.8593105461061  | k23: 0.8591409142295225 |
t21: 33.00518075593047  | t23: 1.1455212189726969 |
k31: 12.490648747269972 | k33: 0.14047123529523503|
t31: 0.22857502623449466| t33: 1.2642411176571153

Total Amounts:
Y01 + E =  1.009269
Y11 + Y12 + Y13 + F =  5.491208
Y01 + Y11 + Y02 + S01 + S11 =  6.393887
Y02 + Y12 + Y03 + S02 + S12 =  18.382680
Y03 + Y13 + S03 + S13 =  26.441436
Total Amounts were calculated with both x1 and x2 and the result did not change.
```

Al ser multiestacionaria, sabemos que la red original con la misma enzima fosfatasa actuando en todos los niveles también lo será.

5.4. Estructura MESSI de la red

5.4.1. Versión 1: misma enzima fosfatasa actuando en los tres niveles

- La partición minimal que define una estructura MESSI de la red es:

$$\mathscr{S}^{(0)} = \{Y_1^0, Y_1^1, Y_2^0, Y_2^1, Y_3^0, Y_3^1\},\ \mathscr{S}^{(1)} = \{E\},\ \mathscr{S}^{(2)} = \{F\}$$
$$\mathscr{S}^{(3)} = \{S_1^0, S_1^1\},\ \mathscr{S}^{(4)} = \{S_2^0, S_2^1\},\ \mathscr{S}^{(5)} = \{S_3^0, S_3^1\}$$

- Los grafos asociados a esta red son:

G_1:

$$\begin{aligned}
S_1^0 + E &\xrightarrow{\tau_1} S_1^1 + E\\
S_1^1 + F &\xrightarrow{\tau_2} S_1^0 + F\\
S_2^0 + S_1^1 &\xrightarrow{\tau_3} S_2^1 + S_1^1\\
S_2^1 + F &\xrightarrow{\tau_4} S_2^0 + F\\
S_3^0 + S_2^1 &\xrightarrow{\tau_5} S_3^1 + S_2^1\\
S_3^1 + F &\xrightarrow{\tau_6} S_3^0 + F
\end{aligned}$$

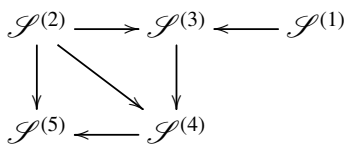
G_2°:

$$S_1^0 \underset{\tau_2 f}{\overset{\tau_1 e}{\rightleftarrows}} S_1^1$$

$$S_2^0 \underset{\tau_4 f}{\overset{\tau_3 x_2}{\rightleftarrows}} S_2^1$$

$$S_3^0 \underset{\tau_6 f}{\overset{\tau_5 x_4}{\rightleftarrows}} S_3^1$$

G_E:



El grafo G_2 es débilmente reversible y G_E no contiene ciclos dirigidos, lo que garantiza, por el Teorema 3.4.1 que existe una parametrización racional de los estados estacionarios positivos que se puede calcular algorítmicamente.

El grafo G_2 tiene, además de las componentes conexas presentes en G_2°, dos componentes conexas correspondientes a los nodos aislados E y F. De acuerdo con el Teorema 3.4.4 los siguientes $14 - 5 = 9$ binomios parametrizan los estados estacionarios positivos:

$$\begin{array}{lllllllll} e\,x_1 - \nu_1\,f\,x_2 & = & 0, & y_1 - \mu_1\,x_1\,e & = & 0, & y_4 - \mu_4\,x_4\,f & = & 0, \\ x_3\,x_2 - \nu_2\,f\,x_4 & = & 0, & y_2 - \mu_2\,x_2\,f & = & 0, & y_5 - \mu_5\,x_5\,x_4 & = & 0, \\ x_5\,x_4 - \nu_3\,f\,x_6 & = & 0, & y_3 - \mu_3\,x_3\,x_2 & = & 0, & y_6 - \mu_6\,x_6\,f & = & 0. \end{array} \tag{5.2}$$

Donde

$$\nu_1 = \frac{t_{13}}{\kappa_{13}}\frac{\mu_2}{\mu_1},\ \nu_2 = \frac{t_{23}}{\kappa_{23}}\frac{\mu_4}{\mu_3},\ \nu_3 = \frac{t_{33}}{\kappa_{33}}\frac{\mu_6}{\mu_5}$$

y

$$\mu_1 = \frac{\kappa_{11}}{\kappa_{12}+\kappa_{13}},\ \mu_2 = \frac{t_{11}}{t_{12}+t_{13}},\ \mu_3 = \frac{\kappa_{21}}{\kappa_{22}+\kappa_{23}},$$

$$\mu_4 = \frac{t_{21}}{t_{22}+t_{23}},\ \mu_5 = \frac{\kappa_{31}}{\kappa_{32}+\kappa_{33}},\ \mu_6 = \frac{t_{31}}{t_{32}+t_{33}}$$

Los primeros tres binomios en (5.2) corresponden a la fórmula (3.5) y los últimos seis a las especies intermedias, según la fórmula (3.4). Notamos que los binomios correspondientes a las especies intermedias en (5.2) son los mismos que nos habían quedado en (5.1) cuando hicimos las cuentas *a mano*.

Si nos basamos en las ecuaciones que definen las leyes de conservación ℓ_α definidas por (3.3) junto a los Teoremas 3.2.1 y 3.2.2 que presentamos en el Capítulo 3, quedan determinadas 5 leyes de conservación por las siguientes ecuaciones lineales:

$$\left.\begin{aligned} e + y_1 &= T_1 \\ f + y_2 + y_4 + y_6 &= T_2 \\ x_1 + x_2 + y_1 + y_2 + y_3 &= T_3 \\ x_3 + x_4 + y_3 + y_4 + y_5 &= T_4 \\ x_5 + x_6 + y_5 + y_6 &= T_5 \end{aligned}\right\}$$

donde los valores $T_i, i = 1, ..., 5$ representan las cantidades totales de las enzimas E y F, y de los sustratos S_1, S_2, S_3 respectivamente.

Al ser un sistema MESSI consistente y tórico, podemos usar la implementación del algoritmo presentado en el Capítulo 3. Mostramos a continuación los resultados obtenidos:

```
Input:
(S01+E,Y01,k11)
(Y01,S01+E,k12)
(Y01,S11+E,k13)
(S11+F,Y11,t11)
(Y11,S11+F,t12)
(Y11,S01+F,t13)
(S02+S11,Y02,k21)
(Y02,S02+S11,k22)
(Y02,S12+S11,k23)
(S12+F,Y12,t21)
(Y12,S12+F,t22)
```

```
(Y12,S02+F,t23)
(S03+S12,Y03,k31)
(Y03,S03+S12,k32)
(Y03,S13+S12,k33)
(S13+F,Y13,t31)
(Y13,S13+F,t32)
(Y13,S03+F,t33)

Estructura MESSI:
Y01
Y11
Y02
Y12
Y03
Y13
END
E
END
F
END
S01
S11
END
S02
S12
END
S03
S13
END_CORES

Output:
Sigma is mixed! This system is multistationary.

Two vectors with the same sign, corresponding to the orthant
(-1, 1, -1, -1, -1, -1, 1, 1, 1, 1, -1, -1, 1, -1),
are [-1, 1, -1, -1, -1, -1, 1, 4, 1, 3, -3, -9, 13, -1], from M1,
and [-11, 6, -5, -3, -2, -5, 4, 1, 3, 1, -4, -1, 1, -1], from M2.

We have found multistationarity witnesses:

Concentrations for x1:
E: 0.0024849116568445855 |F: 1.1565176427496657   |
S01: 1.0000167019797417  |S11: 1.052395696491256  |
S02: 0.01865736036377405 |S12: 0.05239569649125595|
```

```
S03: 3.0559720810913222  |S13: 7.565697189301244  |
Y01: 1.0067836549063043  |Y11: 1.0067836549063043 |
Y02: 2.327906827477306   |Y12: 1.7459301206079794 |
Y03: 14.237790361823938  |Y13: 1.5819767068693265 |

Concentrations for x2:
E: 1.0024849116568446     |F: 0.15651764274966568   |
S01: 1.670197974171391e-05|S11: 0.05239569649125595 |
S02: 1.018657360363774    |S12: 1.052395696491256   |
S03: 0.05597208109132214  |S13: 20.565697189301243  |
Y01: 0.006783654906304231 |Y11: 0.006783654906304231|
Y02: 6.327906827477306    |Y12: 4.745930120607979   |
Y03: 5.237790361823938    |Y13: 0.5819767068693265  |

Reaction constants:
k11: 6438.75315595899  |k12: 7.946096424007316 |k13: 7.946096424007316 |
t11: 13.14584952631374 |t12: 7.946096424007317 |t13: 7.946096424007316 |
k21: 814.8744843688488 |k22: 3.43656365691809  |k23: 3.43656365691809  |
t21: 264.04144604744374|t22: 4.5820848758907875|t23: 4.5820848758907875|
k31: 99.92518997815978 |k32: 0.5618849411809401|k33: 0.5618849411809401|
t31: 1.8286002098759573|t32: 5.056964470628461 |t33: 5.056964470628461 |

Total Amounts:
Y01 + E =  1.009269
Y11 + Y12 + Y13 + F =  5.491208
Y01 + Y11 + Y02 + S01 + S11 =  6.393887
Y02 + Y12 + Y03 + S02 + S12 =  18.382680
Y03 + Y13 + S03 + S13 =  26.441436
Total Amounts were calculated with both x1 and x2 and the result did not change.
```

Lo que nos dice que la cascada enzimática con tres niveles, en la cual actúa la misma enzima F en todos los niveles es multiestacionaria y nos muestra testigos de multiestacionariedad: el vector de parámetros que define la variedad de estados estacionarios, junto con dos puntos que pertenecen a la misma clase de compatibilidad estequiométrica.

Como vimos en el ejemplo anterior (5.3.1) de la subred que comparte el subespacio estequiométrico, ya sabíamos que la red original resulta multiestacionaria. Las concentraciones de las especies en estados estacionarios dan los mismos valores, y por lo tanto, también coinciden las cantidades totales de las leyes de conservación. Lo que cambia son los valores de los parámetros presentes en las etiquetas de las reacciones. Recordemos que en la subred había 6 reacciones menos que en la red original, y por lo tanto, 6 parámetros menos. Se puede observar que cambia el orden de los valores de los parámetros: mientras en la subred la mayoría de los parámetros tienen orden de 1 a 10, en la red original hay parámetros del orden de 1000.

5.4.2. Versión 2: dos enzimas fosfatasa iguales actuando en niveles consecutivos

- La partición minimal que define una estructura MESSI de la red es:

$$\mathscr{S}^{(0)} = \{Y_1^0, Y_1^1, Y_2^0, Y_2^1, Y_3^0, Y_3^1\},$$
$$\mathscr{S}^{(1)} = \{E\},\ \mathscr{S}^{(2)} = \{F\},\ \mathscr{S}^{(3)} = \{F_1\}$$
$$\mathscr{S}^{(4)} = \{S_1^0, S_1^1\},\ \mathscr{S}^{(5)} = \{S_2^0, S_2^1\},\ \mathscr{S}^{(6)} = \{S_3^0, S_3^1\}$$

- Los grafos asociados a esta red son:

G_1:

$$\begin{array}{lcl} S_1^0 + E & \xrightarrow{\tau_1} & S_1^1 + E \\ S_1^1 + F & \xrightarrow{\tau_2} & S_1^0 + F \\ S_2^0 + S_1^1 & \xrightarrow{\tau_3} & S_2^1 + S_1^1 \\ S_2^1 + F & \xrightarrow{\tau_4} & S_2^0 + F \\ S_3^0 + S_2^1 & \xrightarrow{\tau_5} & S_3^1 + S_2^1 \\ S_3^1 + F_1 & \xrightarrow{\tau_6} & S_3^0 + F_1 \end{array}$$

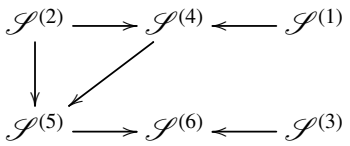
G_2°:

$$S_1^0 \underset{\tau_2 f}{\overset{\tau_1 e}{\rightleftarrows}} S_1^1$$

$$S_2^0 \underset{\tau_4 f}{\overset{\tau_3 x_2}{\rightleftarrows}} S_2^1$$

$$S_3^0 \underset{\tau_6 g}{\overset{\tau_5 x_4}{\rightleftarrows}} S_3^1$$

G_E:



El grafo G_2 es débilmente reversible y G_E no contiene ciclos dirigidos, lo que garantiza, por el Teorema 3.4.1 que existe una parametrización racional de los estados estacionarios positivos que se puede calcular algorítmicamente. El grafo G_2 tiene, además de las componentes conexas presentes en el grafo G_2° tres componentes conexas correspondientes a los nodos aislados E, F y F_1. De acuerdo con el Teorema 3.4.4 los siguientes $15 - 6 = 9$ binomios parametrizan los estados estacionarios positivos:

$$\begin{array}{lllllllll} e\,x_1 - \nu_1\,f\,x_2 & = & 0, & y_1 - \mu_1\,x_1\,e & = & 0, & y_4 - \mu_4\,x_4\,f & = & 0, \\ x_3\,x_2 - \nu_2\,f\,x_4 & = & 0, & y_2 - \mu_2\,x_2\,f & = & 0, & y_5 - \mu_5\,x_5\,x_4 & = & 0, \\ x_5\,x_4 - \nu_3\,g\,x_6 & = & 0, & y_3 - \mu_3\,x_3\,x_2 & = & 0, & y_6 - \mu_6\,x_6\,g & = & 0. \end{array} \tag{5.3}$$

Donde, al igual que en la versión anterior,

$$\nu_1 = \frac{t_{13}}{\kappa_{13}}\frac{\mu_2}{\mu_1},\ \nu_2 = \frac{t_{23}}{\kappa_{23}}\frac{\mu_4}{\mu_3},\ \nu_3 = \frac{t_{33}}{\kappa_{33}}\frac{\mu_6}{\mu_5}$$

y

$$\mu_1 = \frac{\kappa_{11}}{\kappa_{12} + \kappa_{13}},\ \mu_2 = \frac{t_{11}}{t_{12} + t_{13}},\ \mu_3 = \frac{\kappa_{21}}{\kappa_{22} + \kappa_{23}},$$
$$\mu_4 = \frac{t_{21}}{t_{22} + t_{23}},\ \mu_5 = \frac{\kappa_{31}}{\kappa_{32} + \kappa_{33}},\ \mu_6 = \frac{t_{31}}{t_{32} + t_{33}}$$

La diferencia con la Versión 1 analizada en el caso anterior es que en el tercer y noveno binomios de la parametrización de los estados estacionarios aparece la concentración de $[F_1] = g$, en vez de la concentración de la enzima fosfatasa F.

Usamos la implementación del algoritmo ya mencionado. A continuación mostramos los resultados:

```
Input:
(S01+E,Y01,k11)
(Y01,S01+E,k12)
(Y01,S11+E,k13)
(S11+F,Y11,t11)
(Y11,S11+F,t12)
(Y11,S01+F,t13)
(S02+S11,Y02,k21)
(Y02,S02+S11,k22)
(Y02,S12+S11,k23)
(S12+F,Y12,t21)
(Y12,S12+F,t22)
(Y12,S02+F,t23)
(S03+S12,Y03,k31)
(Y03,S03+S12,k32)
(Y03,S13+S12,k33)
(S13+F1,Y13,t31)
(Y13,S13+F1,t32)
(Y13,S03+F1,t33)
END

Y01
Y11
Y02
Y12
Y03
Y13
END
E
END
F
END
F1
END
S01
S11
END
S02
S12
END
S03
S13
END_CORES
```

```
Output:
Sigma is mixed! This system is multistationary.

Two vectors with the same sign, corresponding to the orthant
(-1, 1, -1, -1, 1, -1, 1, 1, -1, 1, 1, -1, -1, 1, -1),
are [-2, 2, -2, -2, 2, -4, 2, 10, -7, 2, 13, -7, -3, 3, -3], from M1,
and [-4, 3, -1, -4, 3, -1, 5, 1, -2, 1, 1, -1, -4, 3, -1], from M2.

We have found multistationarity witnesses.
Concentrations for x1:
E: 0.1047913929825119  | F: 0.1047913929825119 | F1:0.15718708947376786   |
S01: 2.037314720727548 | S11: 2.037314720727548| S02: 0.013567309812608463|
S12: 8.09562349924766  | S03: 7.565697189301244| S13: 3.0559720810913222  |
Y01: 3.163953413738653 | Y11: 6.327906827477306|
Y02: 5.819767068693265 | Y12: 1.163953413738653|
Y03: 11.073836948085285| Y13: 4.745930120607979

Concentrations for x2:
E: 2.104791392982512     | F: 2.104791392982512     | F1: 3.157187089473768   |
S01: 0.037314720727548094| S11: 0.037314720727548094| S02: 2.0135673098126086 |
S12: 1.0956234992476597  | S03: 20.565697189301243  | S13: 0.05597208109132214|
Y01: 1.163953413738653   | Y11: 2.327906827477306   |
Y02: 15.819767068693265  | Y12: 3.163953413738653   |
Y03: 4.073836948085285   | Y13: 1.7459301206079794

Reaction constants:
k11: 9.36798656045248    | k12: 0.31606027941427883 | k13: 0.31606027941427883|
t11: 9.36798656045248    | t12: 0.15803013970713942 | t13: 0.15803013970713942|
k21: 72.35659645650314   | k22: 0.1718281828459045  | k23: 0.1718281828459045 |
t21: 2.3575129111378907  | t22: 0.8591409142295225  | t23: 0.8591409142295225 |
k31: 0.032653575176356385| k32: 0.09030293697550824 | k33: 0.09030293697550824|
t31: 4.163549582423324   | t32: 0.21070685294285257 | t33: 0.21070685294285257

Total Amounts:
Y01 + E =  3.268745
Y11 + Y12 + F =  7.596652
Y13 + F1 =  4.903117
Y01 + Y11 + Y02 + S01 + S11 =  19.386257
Y02 + Y12 + Y03 + S02 + S12 =  26.166748
Y03 + Y13 + S03 + S13 =  26.441436
Total Amounts were calculated with both x1 and x2 and the result did not change.
```

5.4.3. Versión 3: dos enzimas fosfatasa iguales actuando en niveles no consecutivos

- La partición minimal que define una estructura MESSI de la red es:

$$\mathscr{S}^{(0)} = \{Y_1^0, Y_1^1, Y_2^0, Y_2^1, Y_3^0, Y_3^1\},$$
$$\mathscr{S}^{(1)} = \{E\},\ \mathscr{S}^{(2)} = \{F\},\ \mathscr{S}^{(3)} = \{F_1\}$$
$$\mathscr{S}^{(4)} = \{S_1^0, S_1^1\},\ \mathscr{S}^{(5)} = \{S_2^0, S_2^1\},\ \mathscr{S}^{(6)} = \{S_3^0, S_3^1\}$$

- Los grafos asociados a esta red son:

G_1:

$$\begin{array}{lcl} S_1^0 + E & \xrightarrow{\tau_1} & S_1^1 + E \\ S_1^1 + F & \xrightarrow{\tau_2} & S_1^0 + F \\ S_2^0 + S_1^1 & \xrightarrow{\tau_3} & S_2^1 + S_1^1 \\ S_2^1 + F_1 & \xrightarrow{\tau_4} & S_2^0 + F_1 \\ S_3^0 + S_2^1 & \xrightarrow{\tau_5} & S_3^1 + S_2^1 \\ S_3^1 + F & \xrightarrow{\tau_6} & S_3^0 + F \end{array}$$

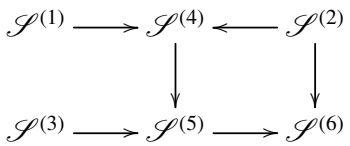
G_2°:

$$S_1^0 \underset{\tau_2 f}{\overset{\tau_1 e}{\rightleftarrows}} S_1^1$$

$$S_2^0 \underset{\tau_4 g}{\overset{\tau_3 x_2}{\rightleftarrows}} S_2^1$$

$$S_3^0 \underset{\tau_6 f}{\overset{\tau_5 x_4}{\rightleftarrows}} S_3^1$$

G_E:



El grafo G_2 es débilmente reversible y G_E no contiene ciclos dirigidos, lo que garantiza, por el Teorema 3.4.1 que existe una parametrización racional de los estados estacionarios positivos que se puede calcular algorítmicamente. El grafo G_2 tiene, además de las componentes conexas presentes en G_2°, tres componentes conexas correspondientes a los nodos aislados E, F y F_1. De acuerdo con el Teorema 3.4.4 los siguientes $15 - 6 = 9$ binomios parametrizan los estados estacionarios positivos del sistema:

$$\begin{array}{llllll} e\,x_1 - \nu_1\, f\, x_2 = 0, & y_1 - \mu_1\, x_1\, e = 0, & y_4 - \mu_4\, x_4\, g = 0, \\ x_3\, x_2 - \nu_2\, g\, x_4 = 0, & y_2 - \mu_2\, x_2\, f = 0, & y_5 - \mu_5\, x_5\, x_4 = 0, \\ x_5\, x_4 - \nu_3\, f\, x_6 = 0, & y_3 - \mu_3\, x_3\, x_2 = 0, & y_6 - \mu_6\, x_6\, f = 0. \end{array} \tag{5.4}$$

Donde

$$\nu_1 = \frac{t_{13}}{\kappa_{13}}\frac{\mu_2}{\mu_1},\ \nu_2 = \frac{t_{23}}{\kappa_{23}}\frac{\mu_4}{\mu_3},\ \nu_3 = \frac{t_{33}}{\kappa_{33}}\frac{\mu_6}{\mu_5}$$

y

$$\mu_1 = \frac{\kappa_{11}}{\kappa_{12} + \kappa_{13}}, \mu_2 = \frac{t_{11}}{t_{12} + t_{13}}, \mu_3 = \frac{\kappa_{21}}{\kappa_{22} + \kappa_{23}},$$
$$\mu_4 = \frac{t_{21}}{t_{22} + t_{23}}, \mu_5 = \frac{\kappa_{31}}{\kappa_{32} + \kappa_{33}}, \mu_6 = \frac{t_{31}}{t_{32} + t_{33}}$$

coinciden con los coeficientes de las parametrizaciones de los casos anteriores.

Usamos la implementación del algoritmo ya mencionado. A continuación mostramos los resultados:

```
Input:
(S01+E,Y01,k11)
(Y01,S01+E,k12)
(Y01,S11+E,k13)
(S11+F,Y11,t11)
(Y11,S11+F,t12)
(Y11,S01+F,t13)
(S02+S11,Y02,k21)
(Y02,S02+S11,k22)
(Y02,S12+S11,k23)
(S12+F1,Y12,t21)
(Y12,S12+F1,t22)
(Y12,S02+F1,t23)
(S03+S12,Y03,k31)
(Y03,S03+S12,k32)
(Y03,S13+S12,k33)
(S13+F,Y13,t31)
(Y13,S13+F,t32)
(Y13,S03+F,t33)
END


Y01
Y11
Y02
Y12
Y03
Y13
END
E
END
F
END
F1
END
S01
S11
END
S02
S12
END
S03
S13
END_CORES
```

```
Output:
Sigma is mixed! This system is multistationary.

Two vectors with the same sign, corresponding to the orthant
 (-1, 1, -1, 1, -1, -1, -1, 1, 1, -1, 1, -1, 1, 1, 1),
 are [-4, 3, -1, 3, -4, -1, -1, 2, 4, -2, 2, -2, 2, 6, 2], from M1,
 and [-2, 2, -2, 3, -1, -2, -6, 3, 1, -1, 1, -5, 1, 1, 3], from M2.

We have found multistationarity witnesses.
Concentrations for x1:
E: 0.1047913929825119   | F: 1.018657360363774  | F1: 1.1565176427496657 |
S01: 2.037314720727548  | S11: 0.15718708947376786  |
S02: 9.491860241215958  | S12: 0.01865736036377405  |
S03: 5.782588213748328  | S13: 0.0024849116568445855|
Y01: 3.163953413738653  | Y11: 3.163953413738653    |
Y02: 0.4695529282489969 | Y12: 0.15651764274966565  |
Y03: 0.15651764274966565| Y13: 0.4695529282489969

Concentrations for x2:
E: 2.104791392982512 | F: 0.018657360363774047 |F1: 0.15651764274966568 |
S01: 0.037314720727548094| S11: 3.157187089473768 |
S02: 3.4918602412159587  | S12: 1.018657360363774 |
S03: 0.7825882137483283  | S13: 1.0024849116568446|
Y01: 1.163953413738653   | Y11: 1.163953413738653 |
Y02: 3.4695529282489965  | Y12: 1.1565176427496657|
Y03: 1.1565176427496657  | Y13: 3.4695529282489965

Reaction constants:
k11: 9.36798656045248  | k12: 0.31606027941427883| k13: 0.31606027941427883 |
t11: 12.490648747269972| t12: 0.31606027941427883| t13: 0.31606027941427883 |
k21: 1.3404844739364954| k22: 2.129685366310217  | k23: 2.129685366310217   |
t21: 92.68885843490038 | t22: 6.38905609893065   | t23: 6.38905609893065    |
k31: 18.53777168698008 | k32: 6.38905609893065   | k33: 6.38905609893065    |
t31: 790.1161060653865 | t32: 2.129685366310217  | t33: 2.129685366310217

Total Amounts:
Y01 + E =  3.268745
Y11 + Y13 + F =  4.652164
Y12 + F1 =  1.313035
Y01 + Y11 + Y02 + S01 + S11 =  8.991962
Y02 + Y12 + Y03 + S02 + S12 =  10.293106
Y03 + Y13 + S03 + S13 =  6.411144
```

```
Total Amounts were calculated with both x1 and x2 and the result did not change.
```

5.4.4. Versión 4: tres enzimas fosfatasa distintas actuando, una en cada nivel

- La partición minimal que define una estructura MESSI de la red es:

$$\mathscr{S}^{(0)} = \{Y_1^0, Y_1^1, Y_2^0, Y_2^1, Y_3^0, Y_3^1\},$$
$$\mathscr{S}^{(1)} = \{E\},\ \mathscr{S}^{(2)} = \{F\},\ \mathscr{S}^{(3)} = \{F_1\},\ \mathscr{S}^{(4)} = \{F_2\},$$
$$\mathscr{S}^{(5)} = \{S_1^0, S_1^1\},\ \mathscr{S}^{(6)} = \{S_2^0, S_2^1\},\ \mathscr{S}^{(7)} = \{S_3^0, S_3^1\}$$

- Los grafos asociados a esta red son:

G_1:

$$\begin{array}{lcl} S_1^0 + E & \xrightarrow{\tau_1} & S_1^1 + E \\ S_1^1 + F & \xrightarrow{\tau_2} & S_1^0 + F \\ S_2^0 + S_1^1 & \xrightarrow{\tau_3} & S_2^1 + S_1^1 \\ S_2^1 + F_1 & \xrightarrow{\tau_4} & S_2^0 + F_1 \\ S_3^0 + S_2^1 & \xrightarrow{\tau_5} & S_3^1 + S_2^1 \\ S_3^1 + F_2 & \xrightarrow{\tau_6} & S_3^0 + F_2 \end{array}$$

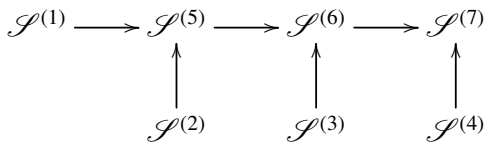
G_2°:

$$S_1^0 \underset{\tau_2 f}{\overset{\tau_1 e}{\rightleftarrows}} S_1^1$$

$$S_2^0 \underset{\tau_4 g}{\overset{\tau_3 x_2}{\rightleftarrows}} S_2^1$$

$$S_3^0 \underset{\tau_6 h}{\overset{\tau_5 x_4}{\rightleftarrows}} S_3^1$$

G_E:



El grafo G_2 es débilmente reversible y G_E no contiene ciclos dirigidos, lo que garantiza, por el Teorema 3.4.1 que existe una parametrización racional de los estados estacionarios positivos que se puede calcular algorítmicamente. El grafo G_2 tiene, además de las componentes conexas presentes en G_2°, cuatro componentes conexas correspondientes a los nodos aislados E, F, F_1 y F_2.

De acuerdo con el Teorema 3.4.4 los siguientes $16 - 7 = 9$ binomios parametrizan los estados estacionarios positivos:

$$\begin{array}{llllllll} e\,x_1 - \nu_1\,f\,x_2 = 0, & y_1 - \mu_1\,x_1\,e = 0, & y_4 - \mu_4\,x_4\,g = 0, \\ x_3\,x_2 - \nu_2\,g\,x_4 = 0, & y_2 - \mu_2\,x_2\,f = 0, & y_5 - \mu_5\,x_5\,x_4 = 0, \\ x_5\,x_4 - \nu_3\,h\,x_6 = 0, & y_3 - \mu_3\,x_3\,x_2 = 0, & y_6 - \mu_6\,x_6\,h = 0. \end{array} \tag{5.5}$$

Donde

$$\nu_1 = \frac{t_{13}}{\kappa_{13}}\frac{\mu_2}{\mu_1},\ \nu_2 = \frac{t_{23}}{\kappa_{23}}\frac{\mu_4}{\mu_3},\ \nu_3 = \frac{t_{33}}{\kappa_{33}}\frac{\mu_6}{\mu_5}$$

y

$$\mu_1 = \frac{\kappa_{11}}{\kappa_{12}+\kappa_{13}}, \mu_2 = \frac{t_{11}}{t_{12}+t_{13}}, \mu_3 = \frac{\kappa_{21}}{\kappa_{22}+\kappa_{23}},$$
$$\mu_4 = \frac{t_{21}}{t_{22}+t_{23}}, \mu_5 = \frac{\kappa_{31}}{\kappa_{32}+\kappa_{33}}, \mu_6 = \frac{t_{31}}{t_{32}+t_{33}}$$

coinciden con los coeficientes de la parametrización de los casos anteriores.

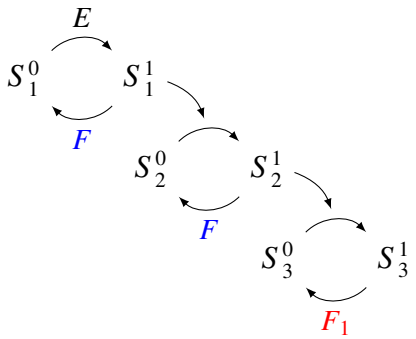
Usamos la implementación del algoritmo ya mencionado y la red resulta monoestacionaria, no admite múltiples estados estacionarios positivos. Es decir, en cada clase de compatibilidad estequiométrica hay un único estado estacionario (positivo).

```
Input:
(S01+E,Y01,k11)
(Y01,S01+E,k12)
(Y01,S11+E,k13)
(S11+F,Y11,t11)
(Y11,S11+F,t12)
(Y11,S01+F,t13)
(S02+S11,Y02,k21)
(Y02,S02+S11,k22)
(Y02,S12+S11,k23)
(S12+F1,Y12,t21)
(Y12,S12+F1,t22)
(Y12,S02+F1,t23)
(S03+S12,Y03,k31)
(Y03,S03+S12,k32)
(Y03,S13+S12,k33)
(S13+F2,Y13,t31)
(Y13,S13+F2,t32)
(Y13,S03+F2,t33)
END


Y01
Y11
Y02
Y12
Y03
Y13
END
E
END
F
END
F1
END
F2
END
S01
S11
END
S02
```

```
S12
END
S03
S13
END_CORES

Output:
Sigma is NOT mixed. This system is monostationary.
```

5.5. Regiones de Multiestacionariedad

5.5.1. Analizamos la Versión 2: misma F actuando en niveles consecutivos (1er y 2do nivel)



El sistema EDO asociado, cuando modelamos bajo la hipótesis de cinética de acción de masas:

$$
\begin{cases}
\dot{e} &= -\kappa_{11}\, e\, x_1 + (\kappa_{12} + \kappa_{13})\, y_1 \\
\dot{f} &= -t_{11}\, f\, x_2 - t_{21}\, f\, x_4 + (t_{12} + t_{13})\, y_2 + (t_{22} + t_{23})\, y_4 \\
\dot{g} &= -t_{31}\, g\, x_6 + (t_{32} + t_{33})\, y_6 \\
\dot{x}_1 &= -\kappa_{11}\, e\, x_1 + \kappa_{12}\, y_1 + t_{13}\, y_2 \\
\dot{x}_2 &= -t_{11}\, f\, x_2 - \kappa_{21}\, x_2\, x_3 + \kappa_{13}\, y_1 + t_{12}\, y_2 + (\kappa_{22} + \kappa_{23})\, y_3 \\
\dot{x}_3 &= -\kappa_{21}\, x_2\, x_3 + \kappa_{22}\, y_3 + t_{23}\, y_4 \\
\dot{x}_4 &= -t_{21}\, f\, x_4 - \kappa_{31}\, x_4\, x_5 + \kappa_{23}\, y_3 + t_{22}\, y_4 + (\kappa_{32} + \kappa_{33})\, y_5 \\
\dot{x}_5 &= -\kappa_{31}\, x_4\, x_5 + \kappa_{32}\, y_5 + t_{33}\, y_6 \\
\dot{x}_6 &= -t_{31}\, g\, x_6 + \kappa_{33}\, y_5 + t_{32}\, y_6 \\
\dot{y}_1 &= \kappa_{11}\, e\, x_1 - (\kappa_{12} + \kappa_{13})\, y_1 \\
\dot{y}_2 &= t_{11}\, f\, x_2 - (t_{12} + t_{13})\, y_2 \\
\dot{y}_3 &= \kappa_{21}\, x_2\, x_3 - (\kappa_{22} + \kappa_{23})\, y_3 \\
\dot{y}_4 &= t_{21}\, f\, x_4 - (t_{22} + t_{23})\, y_4 \\
\dot{y}_5 &= \kappa_{31}\, x_4\, x_5 - (\kappa_{32} + \kappa_{33})\, y_5 \\
\dot{y}_6 &= t_{31}\, g\, x_6 - (t_{32} + t_{33})\, y_6
\end{cases}
$$

Las leyes de conservación quedan determinadas por las siguientes relaciones lineales:

$$\left.\begin{aligned} e + y_1 &= T_1 \\ f + y_2 + y_4 &= T_2 \\ x_1 + x_2 + y_1 + y_2 + y_3 &= T_3 \\ x_3 + x_4 + y_3 + y_4 + y_5 &= T_4 \\ x_5 + x_6 + y_5 + y_6 &= T_5 \\ g + y_6 &= T_6 \end{aligned}\right\}$$

Podemos parametrizar las concentraciones de las especies en estados estacionarios con monomios en función de las variables e, x_2, x_4, x_6, f, g:

$$\begin{array}{llll} x_1 = & G_1 \frac{f\,x_2}{e}, & y_1 = & G_1\,K_1\,f\,x_2, \quad y_4 = \quad L_2\,f\,x_4 \\ x_3 = & G_2 \frac{f\,x_4}{x_2}, & y_2 = & L_1\,f\,x_2, \qquad\quad y_5 = \quad G_3\,K_3\,g\,x_6 \\ x_5 = & G_3 \frac{g\,x_6}{x_4}, & y_3 = & G_2\,K_2\,f\,x_4, \quad y_6 = \quad L_3\,g\,x_6 \end{array} \tag{5.6}$$

donde

$$K_i = \frac{\kappa_{i1}}{\kappa_{i2} + \kappa_{i3}}, \quad L_i = \frac{t_{i1}}{t_{i2} + t_{i3}}, \quad G_i = \frac{t_{i3}}{\kappa_{i3}} L_i, \quad i = 1, 2, 3.$$

Cuando reemplazamos la parametrización (5.6) en las leyes de conservación obtenemos un sistema de 6 ecuaciones polinomiales de Laurent en 6 variables e, x_2, x_4, x_6, f, g:

$$\left.\begin{aligned} e + G_1\,K_1\,f\,x_2 - T_1 &= 0 \\ f + L_1\,f\,x_2 + L_2\,f\,x_4 - T_2 &= 0 \\ x_2 + G_1\,K_1\,f\,x_2 + L_1\,f\,x_2 + G_2\,K_2\,f\,x_4 + G_1\,f\,x_2\,e^{-1} - T_3 &= 0 \\ x_4 + G_2\,K_2\,f\,x_4 + L_2\,f\,x_4 + G_3\,K_3\,g\,x_6 + G_2\,f\,x_4\,x_2^{-1} - T_4 &= 0 \\ x_6 + G_3\,K_3\,g\,x_6 + L_3\,g\,x_6 + G_3\,g\,x_6\,x_4^{-1} - T_5 &= 0 \\ g + L_3\,g\,x_6 - T_6 &= 0 \end{aligned}\right\} \tag{5.7}$$

Podemos escribir al sistema (5.7) en forma matricial:

$$C\left(e, f, x_2, x_4, x_6, g, f\,x_2, f\,x_4, g\,x_6, f\,x_2\,e^{-1}, f\,x_4\,x_2^{-1}, g\,x_6\,x_4^{-1}, 1\right)^t = 0$$

donde la matriz de coeficientes $C \in \mathbb{R}^{6\times 13}$ es

$$C = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & G_1K_1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -T_1 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & L_1 & L_2 & 0 & 0 & 0 & 0 & -T_2 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & G_1K_1 + L_1 & G_2K_2 & 0 & G_1 & 0 & 0 & -T_3 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & G_2K_2 + L_2 & G_3K_3 & 0 & G_2 & 0 & -T_4 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & G_3K_3 + L_3 & 0 & 0 & G_3 & -T_5 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & L_3 & 0 & 0 & 0 & -T_6 \end{pmatrix}$$

Para encontrar las regiones de parámetros que garantizan la multiestacionariedad de la red, ordenamos la información de la siguiente manera: consideramos $\mathcal{M}$ el conjunto de todos los monomios que aparecen en la parametrización de las concentraciones en estados estacionarios de las especies que están involucradas en los niveles que comparten la enzima fosfatasa F, en este caso niveles 1 y 2:

$$\mathcal{M} = \left\{e, f, x_2, x_4, f\,x_2, f\,x_4, f\,x_2\,e^{-1}, f\,x_4\,{x_2}^{-1}, 1\right\}.$$

Luego agregamos al conjunto los monomios de las especies que figuran en la red en el nivel 3:

$$\mathcal{M}' = \mathcal{M} \cup \{x_6, g\}$$

Y luego completamos con el resto de los monomios y construimos el conjunto que contiene todos los monomios que aparecen en la parametrización de la red:

$$\mathcal{M}'' = \mathcal{M}' \cup \left\{ g\, x_6, g\, x_6\, {x_4}^{-1} \right\}.$$

Tenemos 6 variables que las consideramos en el siguiente orden: e, x_2, x_4, x_6, f, g. Sean $\mathcal{A}, \mathcal{A}', \mathcal{A}'' \subset \mathbb{R}^6$ los soportes correspondientes a los conjuntos $\mathcal{M}, \mathcal{M}', \mathcal{M}''$ respectivamente, esto es, los exponentes de los monomios de cada conjunto.

$$\mathcal{A} = \{e_1,\ e_5,\ e_2,\ e_3,\ e_2 + e_5,\ e_3 + e_5,\ e_2 + e_5 - e_1,\ e_3 + e_5 - e_2,\ 0\}$$

$$\mathcal{A}' = \mathcal{A} \cup \{e_4,\ e_6\}$$

$$\mathcal{A}'' = \mathcal{A}' \cup \{e_4 + e_6,\ e_4 + e_6 - e_3\}$$

donde e_i representa el i-ésimo vector canónico de $\mathbb{R}^6$. Consideramos el orden en $\mathcal{A}''$ dado por el orden en el que construimos $\mathcal{M}''$. En total hay 13 monomios involucrados.

Ahora elegimos dos 6-simplices con vértices en $\mathcal{A}''$ que compartan una faceta:

$$\Delta_1 = \{e_1,\ e_2 + e_5,\ e_3 + e_5,\ e_3,\ 0, e_4, e_6\}$$
$$\Delta_2 = \{e_1,\ e_2 + e_5,\ e_3 + e_5,\ e_3 + e_5 - e_2,\ 0, e_4, e_6\}$$

La matriz de coeficientes restringida a cada 6-simplex tiene la forma:

$$C_{\Delta_j} = \left(\begin{array}{ccc|cc} & C_j & & 0 & 0 \\ \hline 0 & \dots & -T_5 & 1 & 0 \\ 0 & \dots & -T_6 & 0 & 1 \end{array}\right),$$

donde

$$C_j = \begin{pmatrix} 1 & G_1K_1 & 0 & 0 & -T_1 \\ 0 & L_1 & L_2 & 0 & -T_2 \\ 0 & G_1K_1 + L_1 & G_2K_2 & 0 & -T_3 \\ 0 & 0 & G_2K_2 + L_2 & (C_j)_{44} & -T_4 \end{pmatrix},$$

y $(C_1)_{44} = 1$ y $(C_2)_{44} = G_2$.

Notamos que la matriz C_{Δ_j} está generada positivamente si y sólo si C_j está generada positivamente para $j = 1, 2$. Además, C_1 y C_2 están generadas positivamente si y sólo si se verifican las condiciones del Teorema 4.2.1, esto es,

$$A_1 + 1 > A_2 \ \text{ y } \ \alpha_{1,1}, \alpha_{2,1}, \alpha_{3,1}, \alpha_{4,1} > 0; \ \text{ ó}$$

$$A_1 + 1 < A_2 \ \text{ y } \ \alpha_{1,1}, \alpha_{2,1}, \alpha_{3,1}, \alpha_{4,1} < 0.$$

Recordemos que, por definición, con la notación que usamos en nuestra red,

$$A_1 = \frac{t_{13}}{\kappa_{13}} = \frac{G_1}{L_1} \quad \text{y} \quad A_2 = \frac{t_{23}}{\kappa_{23}} = \frac{G_2}{L_2}$$

y las funciones que dependen de los parámetros de las reacciones y las cantidades totales de las leyes de conservación quedan definidas:

$$\begin{aligned}
\alpha_{1,1} =& \frac{T_3}{T_2} - A_2, \\
\alpha_{2,1} =& (A_1 + 1) - \frac{T_3}{T_2}, \\
\alpha_{3,1} =& \frac{A_1 + 1 - A_2}{A_1} \frac{T_1}{T_2} - \left(\frac{T_3}{T_2} - A_2\right), \\
\alpha_{4,1} =& \frac{A_1 + 1 - A_2}{A_2 + 1} \frac{T_4}{T_2} - \left(A_1 + 1 - \frac{T_3}{T_2}\right).
\end{aligned}$$

Entonces, para que el sistema tenga al menos dos soluciones positivas, buscamos dos 6-simplices que estén decorados positivamente por C. Y esto sucede si y sólo si se verifican las condiciones del Teorema 4.2.1. Entonces, daremos valores a los parámetros involucrados tal que se verifiquen las condiciones y reescalaremos el sistema original usando las técnicas mostradas en la demostración del teorema que pueden verse en [GBD19].

El hecho de que las funciones $\alpha_{i,1}, i = 1, \ldots 4$ sean positivas, y que además se verifiquen las condiciones sobre los valores de A_1, A_2 se pueden resumir en las siguientes desigualdades:

$$\begin{aligned}
& A_1 + 1 > \frac{T_3}{T_2} > A_2, \\
& \frac{T_1}{T_2} > \left(\frac{T_3}{T_2} - A_2\right) \frac{A_1}{A_1 + 1 - A_2}, \\
& \frac{T_4}{T_2} > \left(A_1 + 1 - \frac{T_3}{T_2}\right) \frac{A_2 + 1}{A_1 + 1 - A_2}.
\end{aligned} \tag{5.8}$$

Dado $h \in C_{\Delta_1, \Delta_2}$ por el Teorema 4.1.9 sabemos que existe $\tau_0 \in \mathbb{R}_{>0}$ tal que para todo $0 < \tau < \tau_0$ el sistema (5.7) reescalado

$$f_{i,\tau}(x) = \sum_{j=1}^{13} c_{ij}\, \tau^{h_j}\, x^{a_j},\ i = 1, \ldots, 6, \tag{5.9}$$

tiene al menos dos soluciones positivas (no degeneradas).

Recordamos que cada coeficiente c_{ij} de la matriz de coeficientes C es una función racional en $k = (\kappa, t, T)$, donde κ y t son los vectores de parámetros de las reacciones y T el vector de cantidades totales de las leyes de conservación. Podemos enfatizar esto escribiendo $c_{ij} = c_{ij}(k)$. Si notamos $\gamma_j = \tau^{h_j}$ para todo $j = 1, \ldots, 13$, tenemos que resolver el siguiente sistema de ecuaciones polinomiales de Laurent:

$$\sum_{j=1}^{13} c_{ij}(k)\, \gamma_j\, x^{a_j} = 0,\ i = 1, \ldots, 6. \tag{5.10}$$

Ahora bien, la red de reacciones químicas que estamos considerando satisface las hipótesis del Teorema 5.4 del trabajo de Bihan, Dickenstein y Giaroli ya citado [BDG18],

lo que garantiza que existe un vector de parámetros $\bar{k}$ tal que la cantidad de soluciones positivas del sistema (5.10) coincide con la cantidad de soluciones positivas del sistema

$$\sum_{j=1}^{13} c_{ij}(\bar{k})\, x^{a_j} = 0,\ i = 1, \ldots, 6. \tag{5.11}$$

Es decir, que basta con reescalar los coeficientes de las reacciones que tienen como fuente un complejo core.

Si pensamos al vector de alturas h como una función $\mathcal{A} \to \mathbb{R}$ definida por $h(a_j) := h_j$, (le asigna a cada punto del soporte la altura correspondiente):

$$h_1 = h(1,0,0,0,0,0),\ \ h_2 = h(0,0,0,0,1,0),\ \ h_3 = h(0,1,0,0,0,0),$$

$$h_4 = h(0,0,1,0,0,0),\ \ h_5 = h(0,1,0,0,1,0),\ \ h_6 = h(0,0,1,0,1,0),$$

$$h_7 = h(-1,1,0,0,1,0),\ \ h_8 = h(0,-1,1,0,1,0),\ \ h_9 = h(0,0,0,0,0,0),$$

$$h_{10} = h(0,0,0,1,0,0),\ \ h_{11} = h(0,0,0,0,0,1),\ \ h_{12} = h(0,0,0,1,0,1),$$

$$h_{13} = h(0,0,-1,1,0,1).$$

Calculamos el cono C_{Δ_1,Δ_2}: sean las funciones lineales afines φ_1 y φ_2 que coinciden con h en los simplices Δ_1 y Δ_2 respectivamente.

Tomamos $h_1 = h_4 = h_5 = h_6 = h_9 = h_{10} = h_{11} = 0$,

$$\begin{cases} \varphi_1(e, x_2, x_4, x_6, f, g) &= 0 \\ \varphi_2(e, x_2, x_4, x_6, f, g) &= -h_8\, x_2 - h_8\, x_4 + h_8\, f \end{cases}$$

Condiciones para que $0 \equiv \varphi_1(\alpha) < h(\alpha), \alpha \notin \Delta_1$:

$$h_2 > 0,\ h_3 > 0,\ h_7 > 0,\ h_8 > 0,\ h_{12} > 0,\ h_{13} > 0$$

Más condiciones para que $\varphi_2(\alpha) < h(\alpha), \alpha \notin \Delta_1, \Delta_2$:

$$\begin{aligned} \varphi_2(a_2) = \varphi_2(e_5) &= h_8 < h_2; \\ \varphi_2(a_3) = \varphi_2(e_2) &= -h_8 < h_3; \\ \varphi_2(a_7) = \varphi_2(e_2 + e_5 - e_1) &= 0 < h_7; \\ \varphi_2(a_{12}) = \varphi_2(e_4 + e_6) &= 0 < h_{12}; \\ \varphi_2(a_{13}) = \varphi_2(e_4 + e_6 - e_3) &= h_8 < h_{13}. \end{aligned}$$

Entonces

$$C_{\Delta_1} = \{h \in (h_1, \ldots, h_{13}) : h_2 > 0,\ h_3 > 0,\ h_7 > 0,\ h_8 > 0,\ h_{12} > 0,\ h_{13} > 0\}$$
$$C_{\Delta_2} = \{h \in (h_1, \ldots, h_{13}) : h_2 - h_8 > 0,\ h_3 + h_8 > 0,\ h_7 > 0,\ h_{12} > 0,\ h_{13} - h_8 > 0\}$$

El cono definido por la intersección queda determinado por las desigualdades:

$$C_{\Delta_1,\Delta_2} = \{h \in (h_1, \ldots, h_{13}) : h_2 > 0,\ h_3 > 0,\ h_8 > 0,\ h_{13} > 0,\ h_2 - h_8 > 0,\ h_3 + h_8 > 0,$$

$$h_7 > 0,\ h_{12} > 0,\ h_{13} - h_8 > 0\}$$

Observamos que las desigualdades $h_3 > 0$ y $h_8 > 0$ implican que $h_3 + h_8 > 0$.

Establecemos las constantes:

$$\begin{array}{c} T_1 = T_3 = T_4 = 40;\ \ T_2 = T_5 = T_6 = 20 \\ A_1 = 3;\ A_2 = 1;\ A_3 = 1;\ G_1 = 3;\ G_2 = G_3 = 1 \\ K_1 = K_2 = K_3 = L_1 = L_2 = L_3 = 1 \end{array}$$

Un posible vector h que define una partición regular en la cápsula convexa definida por el soporte del sistema (h que pertenece a C_{Δ_1,Δ_2}):

$$\begin{array}{c} h_1 = h_4 = h_5 = h_6 = h_9 = h_{10} = h_{11} = 0 \\ h_2 = 3;\ h_3 = h_7 = h_8 = h_{12} = 1;\ h_{13} = 3 \end{array}$$

Probamos que se verifican las hipótesis para que la submatriz correspondiente a los 6-simplices que comparten una faceta esté generada positivamente y esto garantiza la existencia de soluciones positivas del sistema:

$$4 = A_1 + 1 > \frac{T_3}{T_2} = 2 > A_2 = 1$$

$$2 = \frac{T_1}{T_2} > \left(\frac{T_3}{T_2} - A_2\right)\frac{A_1}{A_1 + 1 - A_2} = (2-1).\frac{3}{3} = 1$$

$$2 = \frac{T_4}{T_2} > \left(A_1 + 1 - \frac{T_3}{T_2}\right)\frac{A_2 + 1}{A_1 + 1 - A_2} = (4-2)\frac{2}{3} = \frac{4}{3}$$

El sistema parametrizado reescalado con $\tau > 0$ en forma matricial:

$$C\left(e,\ \tau^3 f,\ \tau^1 x_2,\ x_4,\ x_6,\ g,\ f x_2,\ f x_4,\ \tau^1 g x_6,\ \tau^1 f x_2 e^{-1},\ \tau^1 f x_4 x_2^{-1},\ \tau^3 g x_6 x_4^{-1},\ 1\right)^t = 0$$

Reemplazamos por las constantes elegidas y el sistema polinomial resulta:

$$\left.\begin{array}{rcl} e + 3 f x_2 - 40 & = & 0 \\ \tau^3 f + f x_2 + f x_4 - 20 & = & 0 \\ \tau^1 x_2 + \tau^1 3\,\frac{f x_2}{e} + 4 f x_2 + f x_4 - 40 & = & 0 \\ x_4 + \tau^1\,\frac{f x_4}{x_2} + 2 f x_4 + \tau^1 g x_6 - 40 & = & 0 \\ x_6 + \tau^3\,\frac{x_6 g}{x_4} + \tau^1 2 g x_6 - 20 & = & 0 \\ g + \tau^1 g x_6 - 20 & = & 0 \end{array}\right\}$$

Multiplicamos por los monomios que aparecen con exponentes negativos para evitar las variables dividiendo, las soluciones son las mismas:

$$\left.\begin{array}{rcl} e + 3 f x_2 - 40 & = & 0 \\ \tau^3 f + f x_2 + f x_4 - 20 & = & 0 \\ \tau^1 e x_2 + \tau^1 3 f x_2 + 4 e f x_2 + e f x_4 - 40 e & = & 0 \\ x_4 x_2 + \tau^1 f x_4 + 2 f x_2 x_4 + \tau^1 g x_2 x_6 - 40 x_2 & = & 0 \\ x_6 x_4 + \tau^3 g x_6 + \tau^1 2 g x_4 x_6 - 20 x_4 & = & 0 \\ g + \tau^1 g x_6 - 20 & = & 0 \end{array}\right\} \qquad (5.12)$$

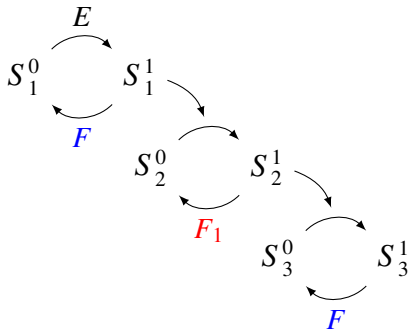
Verificamos, usando SINGULAR (2013) [DGPS13] con la librería "signcond.lib", que el sistema (5.12) tiene 3 soluciones positivas para $\tau = \frac{1}{5}$:

```
t=1/5
LIB "signcond.lib";
ring r=(0,t),(e,x2,x4,x6,f,g), dp;
poly f1=e+3*f*x2-40;
poly f2=(t^3)*f+f*x2+f*x4-20;
poly f3=(t^1)*e*x2+(t^1)*3*f*x2+4*e*f*x2+e*f*x4-e*40;
poly f4=x4*x2+(t^1)*f*x4+2*x2*f*x4+(t^1)*x2*x6*g-x2*40;
poly f5=x6*x4+(t^3)*x6*g+(t^1)*2*x4*x6*g-x4*20;
poly f6=g+(t^1)*x6*g-20;
poly g1=subst(f1,t,1/5);
poly g2=subst(f2,t,1/5);
poly g3=subst(f3,t,1/5);
poly g4=subst(f4,t,1/5);
poly g5=subst(f5,t,1/5);
poly g6=subst(f6,t,1/5);
ideal i=g1,g2,g3,g4,g5,g6;
ideal j=std(i);
firstoct(j);
3
```

Para un valor más grande del parámetro $\tau = \frac{1}{4}$, salimos de la región de multiestacionariedad, el sistema tiene una única solución positiva:

```
t=1/4
LIB "signcond.lib";
ring r=(0,t),(e,x2,x4,x6,f,g), dp;
poly f1=e+3*f*x2-40;
poly f2=(t^3)*f+f*x2+f*x4-20;
poly f3=(t^1)*e*x2+(t^1)*3*f*x2+4*e*f*x2+e*f*x4-e*40;
poly f4=x4*x2+(t^1)*f*x4+2*x2*f*x4+(t^1)*x2*x6*g-x2*40;
poly f5=x6*x4+(t^3)*x6*g+(t^1)*2*x4*x6*g-x4*20;
poly f6=g+(t^1)*x6*g-20;
poly g1=subst(f1,t,1/4);
poly g2=subst(f2,t,1/4);
poly g3=subst(f3,t,1/4);
poly g4=subst(f4,t,1/4);
poly g5=subst(f5,t,1/4);
poly g6=subst(f6,t,1/4);
ideal i=g1,g2,g3,g4,g5,g6;
ideal j=std(i);
firstoct(j);
1
```

5.5.2. Analizamos la Versión 3: misma F actuando en niveles no consecutivos (1er y 3er nivel)



El sistema EDO asociado, cuando modelamos bajo la hipótesis de cinética de acción de masas:

$$\begin{cases}
\dot{e} &= -\kappa_{11}\, e\, x_1 + (\kappa_{12}+\kappa_{13})\, y_1 \\
\dot{f} &= -t_{11}\, f\, x_2 + (t_{12}+t_{13})\, y_2 - t_{31}\, f\, x_6 + (t_{32}+t_{33})\, y_6 \\
\dot{g} &= -t_{21}\, g\, x_4 + (t_{23}+t_{22})\, y_4 \\
\dot{x}_1 &= -\kappa_{11}\, e\, x_1 + \kappa_{12}\, y_1 + t_{13}\, y_2 \\
\dot{x}_2 &= -t_{11}\, f\, x_2 - \kappa_{21}\, x_2\, x_3 + \kappa_{13}\, y_1 + t_{12}\, y_2 + (\kappa_{22}+\kappa_{23})\, y_3 \\
\dot{x}_3 &= -\kappa_{21}\, x_2\, x_3 + \kappa_{22}\, y_3 + t_{23}\, y_4 \\
\dot{x}_4 &= -t_{21}\, g\, x_4 - \kappa_{31}\, x_4\, x_5 + \kappa_{23}\, y_3 + t_{22}\, y_4 + (\kappa_{32}+\kappa_{33})\, y_5 \\
\dot{x}_5 &= -\kappa_{31}\, x_4\, x_5 + \kappa_{32}\, y_5 + t_{33}\, y_6 \\
\dot{x}_6 &= -t_{31}\, f\, x_6 + \kappa_{33}\, y_5 + t_{32}\, y_6 \\
\dot{y}_1 &= \kappa_{11}\, e\, x_1 - (\kappa_{12}+\kappa_{13})\, y_1 \\
\dot{y}_2 &= t_{11}\, f\, x_2 - (t_{12}+t_{13})\, y_2 \\
\dot{y}_3 &= \kappa_{21}\, x_2\, x_3 - (\kappa_{22}+\kappa_{23})\, y_3 \\
\dot{y}_4 &= t_{21}\, g\, x_4 - (t_{22}+t_{23})\, y_4 \\
\dot{y}_5 &= \kappa_{31}\, x_4\, x_5 - (\kappa_{32}+\kappa_{33})\, y_5 \\
\dot{y}_6 &= t_{31}\, f\, x_6 - (t_{32}+t_{33})\, y_6
\end{cases}$$

Las leyes de conservación quedan determinadas por las siguientes relaciones lineales:

$$\left.\begin{aligned}
e + y_1 &= T_1 \\
f + y_2 + y_6 &= T_2 \\
g + y_4 &= T_3 \\
x_1 + x_2 + y_1 + y_2 + y_3 &= T_4 \\
x_3 + x_4 + y_3 + y_4 + y_5 &= T_5 \\
x_5 + x_6 + y_5 + y_6 &= T_6
\end{aligned}\right\}$$

Podemos parametrizar las concentraciones de las especies en estados estacionarios con monomios en función de las variables e, x_2, x_4, x_6, f, g:

$$\begin{array}{llllll}
x_1 = & G_1 \frac{f\, x_2}{e}, & y_1 = & G_1 K_1\, f\, x_2, & y_4 = & L_2\, g\, x_4 \\
x_3 = & G_2 \frac{g\, x_4}{x_2}, & y_2 = & L_1\, f\, x_2, & y_5 = & G_3 K_3\, f\, x_6 \\
x_5 = & G_3 \frac{f\, x_6}{x_4}, & y_3 = & G_2 K_2\, g\, x_4, & y_6 = & L_3\, f\, x_6
\end{array} \tag{5.13}$$

donde, al igual que en el caso anterior,

$$K_i = \frac{\kappa_{i1}}{\kappa_{i2} + \kappa_{i3}}, \quad L_i = \frac{t_{i1}}{t_{i2} + t_{i3}}, \quad G_i = \frac{t_{i3}}{\kappa_{i3}} L_i, \quad i = 1, 2, 3.$$

Cuando reemplazamos la parametrización (5.13) en las leyes de conservación, obtenemos un sistema de 6 ecuaciones polinomiales de Laurent en 6 variables: e, x_2, x_4, x_6, f, g.

$$\left.\begin{array}{rcl} e + G_1 K_1 f x_2 - T_1 &=& 0 \\ f + L_1 f x_2 + L_3 f x_6 - T_2 &=& 0 \\ g + L_2 g x_4 - T_3 &=& 0 \\ x_2 + G_1 K_1 f x_2 + L_1 f x_2 + G_2 K_2 g x_4 + G_1 f x_2 e^{-1} - T_4 &=& 0 \\ x_4 + G_2 K_2 g x_4 + L_2 g x_4 + G_3 K_3 f x_6 + G_2 g x_4 x_2^{-1} - T_5 &=& 0 \\ x_6 + G_3 K_3 f x_6 + L_3 f x_6 + G_3 f x_6 x_4^{-1} - T_6 &=& 0 \end{array}\right\} \tag{5.14}$$

Podemos escribir al sistema (5.14) en forma matricial:

$$C \left(e, f, g, x_2, x_4, x_6, f x_2, g x_4, f x_6, f x_2 e^{-1}, g x_4 x_2^{-1}, f x_6 x_4^{-1}, 1\right)^t = 0$$

donde la matriz de coeficientes $C \in \mathbb{R}^{6\times 13}$ es

$$C = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & G_1K_1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -T_1 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & L_1 & 0 & L_3 & 0 & 0 & 0 & -T_2 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & L_2 & 0 & 0 & 0 & 0 & -T_3 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & G_1K_1 + L_1 & G_2K_2 & 0 & G_1 & 0 & 0 & -T_4 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & G_2K_2 + L_2 & G_3K_3 & 0 & G_2 & 0 & -T_5 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & G_3K_3 + L_3 & 0 & 0 & G_3 & -T_6 \end{pmatrix}$$

En la parametrización hay 13 monomios distintos que los consideramos en el siguiente orden: $\mathcal{M} = \left\{e, x_2, x_4, x_6, f, g, f x_2, g x_4, f x_6, f x_2 e^{-1}, g x_4 x_2^{-1}, f x_6 x_4^{-1}, 1\right\}$.

Llamamos $\mathcal{A}$ al soporte del sistema y consideramos los puntos del soporte en el mismo orden que definimos los monomios, esto es,

$$\mathcal{A} = \{e_1,\ e_2,\ e_3,\ e_4,\ e_5,\ e_6,\ e_2 + e_5,\ e_3 + e_6,\ e_4 + e_5,\ e_2 + e_5 - e_1,\ e_3 + e_6 - e_2,\ e_4 + e_5 - e_3,\ 0\}$$

donde e_i representa al i-ésimo vector canónico de $\mathbb{R}^6$.

Ahora elegimos dos 6-simplices con vértices en $\mathcal{A}$ que compartan una faceta:

$$\Delta_1 = \{e_1,\ e_2 + e_5,\ e_4 + e_5,\ e_3 + e_6 - e_2,\ e_4, 0, e_6\}$$
$$\Delta_2 = \{e_1,\ e_2 + e_5,\ e_4 + e_5,\ e_3 + e_6 - e_2,\ e_4 + e_5 - e_3, 0, e_6\}$$

La matriz de coeficientes restringida a cada 6-simplex tiene la forma:

$$C_{\Delta_j} = \left(\begin{array}{ccc|c} & C_j & & 0 \\ \hline 0 & \ldots & -T_3 & 1 \end{array}\right),$$

donde

$$C_j = \begin{pmatrix} 1 & G_1K_1 & 0 & 0 & 0 & -T_1 \\ 0 & L_1 & L_3 & 0 & 0 & -T_2 \\ 0 & G_1K_1 + L_1 & 0 & 0 & 0 & -T_4 \\ 0 & 0 & G_3K_3 & G_2 & 0 & -T_5 \\ 0 & 0 & G_3K_3 + L_3 & 0 & (C_j)_{55} & -T_6 \end{pmatrix},$$

y $(C_1)_{55} = 1$ y $(C_2)_{55} = G_3$.

Nuevamente, la matriz C_{Δ_j} está generada positivamente si y sólo si C_j está generada positivamente para $j = 1, 2$. Además C_1 y C_2 están generadas positivamente si y sólo si las constantes de reacción y las cantidades totales de las leyes de conservación verifican la hipótesis del Teorema 4.2.2 $\beta_{1,1,3}, \beta_{2,1,3}, \beta_{3,1,3}, \beta_{4,1,3} > 0$, que en este caso y con la notación elegida las funciones $\beta_{i,1,3}, i = 1, \ldots, 4$, quedan definidas:

$$\begin{aligned} \beta_{1,1,3} =& \frac{T_1}{T_4} - \frac{A_1}{A_2}, \\ \beta_{2,1,3} =& (A_1 + 1) - \frac{T_4}{T_2}, \\ \beta_{3,1,3} =& \frac{T_5}{T_2} - (A_1 + 1)\frac{T_6}{T_2}, \\ \beta_{4,1,3} =& \frac{T_4}{T_2} - \frac{A_1 + 1}{A_3 + 1}\left(A_3 + 1 - \frac{T_6}{T_2}\right) \end{aligned}$$

Dado $h \in C_{\Delta_1,\Delta_2}$ por el Teorema 4.1.9 sabemos que existe $\tau_0 \in \mathbb{R}_{>0}$ tal que para todo $0 < \tau < \tau_0$ el sistema (5.14) reescalado

$$f_{i,\tau}(x) = \sum_{j=1}^{13} c_{ij}\, \tau^{h_j}\, x^{a_j},\ i = 1, \ldots, 6, \tag{5.15}$$

tiene al menos dos soluciones positivas (no degeneradas).

De la misma manera que en el caso anterior, dado que la red verifica las hipótesis del Teorema 5.4 en [BDG18], sabemos que basta con reescalar los parámetros de las reacciones que tienen como fuente una especie core y además sabemos que existe un vector de parámetros (reescalado) para el cual la cantidad de soluciones positivas del sistema original coincide con la cantidad de soluciones positivas del sistema reescalado.

Nuevamente notamos $h_j = h(a_j)$ con $a_j \in \mathcal{A}$, $j = 1, \ldots, 13$. En este caso:

$$h_1 = h(1,0,0,0,0,0),\ \ h_2 = h(0,1,0,0,0,0),\ \ h_3 = h(0,0,1,0,0,0),$$

$$h_4 = h(0,0,0,1,0,0),\ \ h_5 = h(0,0,0,0,1,0),\ \ h_6 = h(0,0,0,0,0,1),$$

$$h_7 = h(0,1,0,0,1,0),\ \ h_8 = h(0,0,1,0,0,1),\ \ h_9 = h(0,0,0,1,1,0),$$

$$h_{10} = h(-1,1,0,0,1,0),\ \ h_{11} = h(0,-1,1,0,0,1),\ \ h_{12} = h(0,0,-1,1,1,0),$$

$$h_{13} = h(0,0,0,0,0,0).$$

Calculamos el cono C_{Δ_1,Δ_2}: sean las funciones lineales afines φ_1 y φ_2 que coinciden con h en los simplices Δ_1 y Δ_2 respectivamente.

Tomamos $h_1 = h_4 = h_6 = h_7 = h_9 = h_{11} = h_{13} = 0$

$$\begin{cases} \varphi_1(e, x_2, x_4, x_6, f, g) &= 0 \\ \varphi_2(e, x_2, x_4, x_6, f, g) &= -h_{12}\, x_2 - h_{12}\, x_4 + h_{12}\, f \end{cases}$$

Condiciones para que $0 \equiv \varphi_1(\alpha) < h(\alpha), \alpha \notin \Delta_1$:

$$h_2 > 0,\ h_3 > 0,\ h_5 > 0,\ h_8 > 0,\ h_{10} > 0,\ h_{12} > 0$$

Más condiciones para que $\varphi_2(\alpha) < h(\alpha), \alpha \notin \Delta_1, \Delta_2$:

$$\begin{aligned} \varphi_2(a_2) = \varphi_2(e_2) &= -h_{12} < h_2; \\ \varphi_2(a_3) = \varphi_2(e_3) &= -h_{12} < h_3; \\ \varphi_2(a_5) = \varphi_2(e_5) &= h_{12} < h_5; \\ \varphi_2(a_8) = \varphi_2(e_3 + e_6) &= -h_{12} < h_8; \\ \varphi_2(a_{10}) = \varphi_2(e_2 + e_5 - e_1) &= 0 < h_{10}. \end{aligned}$$

Entonces

$$C_{\Delta_1} = \{h \in (h_1, \ldots, h_{13}) : h_2 > 0,\ h_3 > 0,\ h_5 > 0,\ h_8 > 0,\ h_{10} > 0,\ h_{12} > 0\}$$
$$C_{\Delta_2} = \{h \in (h_1, \ldots, h_{13}) : h_2 + h_{12} > 0,\ h_3 + h_{12} > 0,\ h_5 - h_{12} > 0,\ h_{10} > 0,\ h_8 + h_{12} > 0\}$$

El cono de la intersección queda determinado por las desigualdades:

$$C_{\Delta_1,\Delta_2} = \{h \in (h_1, \ldots, h_{13}) : h_2 > 0,\ h_3 > 0,\ h_5 > 0,\ h_8 > 0,\ h_{10} > 0,\ h_{12} > 0,\ h_2 + h_{12} > 0,$$
$$h_3 + h_{12} > 0,\ h_5 - h_{12} > 0,\ h_8 + h_{12} > 0\}$$

Podemos observar que hay desigualdades que no agregan restricciones (por ejemplo si $h_2 > 0$ y $h_{12} > 0$ entonces se verifica $h_2 + h_{12} > 0$). Si eliminamos esas desigualdades, el cono queda descripto por

$$C_{\Delta_1,\Delta_2} = \{h \in (h_1, \ldots, h_{13}) : h_2 > 0,\ h_3 > 0,\ h_5 > 0,\ h_8 > 0,\ h_{10} > 0,\ h_{12} > 0,\ h_5 - h_{12} > 0\}$$

Fijaremos los valores de las constantes para que se verifiquen las hipótesis y así encontraremos una región de parámetros para los cuales la red resulta multiestacionaria. Establecemos las constantes:

$$\begin{gathered} T_1 = T_3 = 2;\ T_4 = T_6 = 1;\ T_2 = \tfrac{1}{4};\ T_5 = 6 \\ A_1 = 4;\ A_2 = 3;\ A_3 = 5;\ G_1 = 4;\ G_2 = 3;\ G_3 = 5; \\ K_1 = K_2 = K_3 = L_1 = L_2 = L_3 = 1 \end{gathered}$$

Un posible vector h que define una partición regular en la cápsula convexa definida por el soporte del sistema (h que pertenece a C_{Δ_1,Δ_2}):

$$\begin{gathered} h_1 = h_4 = h_6 = h_7 = h_9 = h_{11} = h_{13} = 0 \\ h_2 = h_3 = h_8 = h_{10} = h_{12} = 1;\ h_5 = 2 \end{gathered}$$

Verificamos que se cumplen las hipótesis que garantizan que los 6-simplices que comparten una faceta estén decorados positivamente por C:

$$\begin{aligned}
\frac{T_1}{T_4} - \frac{A_1}{A_2} &= \frac{2}{1} - \frac{4}{3} = \frac{2}{3} > 0,\\
(A_1 + 1) - \frac{T_4}{T_2} &= 5 - \frac{1}{1/4} = 1 > 0,\\
\frac{T_5}{T_2} - (A_1 + 1)\frac{T_6}{T_2} &= \frac{6}{1/4} - 5\frac{1}{1/4} = 4 > 0,\\
\frac{T_4}{T_2} - \frac{A_1 + 1}{A_3 + 1}\left(A_3 + 1 - \frac{T_6}{T_2}\right) &= \frac{1}{1/4} - \frac{5}{6}\left(6 - \frac{1}{1/4}\right) = \frac{7}{3} > 0
\end{aligned}$$

El sistema parametrizado reescalado con $\tau > 0$ en forma matricial:

$$C\left(e, \tau^1 x_2, \tau^1 x_4, x_6, \tau^2 f, g, f x_2, \tau^1 g x_4, f x_6, \tau^1 f x_2 e^{-1}, g x_4 x_2^{-1}, \tau^1 f x_6 x_4^{-1}, 1\right)^t = 0$$

Reemplazamos por las constantes elegidas y el sistema polinomial resulta:

$$\left.\begin{aligned}
e + 4 f x_2 - 2 &= 0\\
\tau^2 f + f x_2 + f x_6 - \tfrac{1}{4} &= 0\\
g + \tau^1 g x_4 - 2 &= 0\\
\tau^1 x_2 + \tau^1 4\tfrac{f x_2}{e} + 5 f x_2 + \tau^1 3 g x_4 - 1 &= 0\\
\tau^1 x_4 + 3\tfrac{g x_4}{x_2} + \tau^1 4 g x_4 + 5 f x_6 - 6 &= 0\\
x_6 + \tau^1 5\tfrac{f x_6}{x_4} + 6 f x_6 - 1 &= 0
\end{aligned}\right\}$$

Multiplicamos por los monomios con exponente negativo para que no aparezcan dividiendo, las soluciones son las mismas:

$$\left.\begin{aligned}
e + 4 f x_2 - 2 &= 0\\
\tau^2 4 f + 4 f x_2 + 4 f x_6 - 1 &= 0\\
g + \tau^1 g x_4 - 2 &= 0\\
\tau^1 e x_2 + \tau^1 4 f x_2 + 5 e f x_2 + \tau^1 3 e g x_4 - e &= 0\\
\tau^1 x_4 x_2 + 3 g x_4 + \tau^1 4 g x_2 x_4 + 5 f x_2 x_6 - 6 x_2 &= 0\\
x_6 x_4 + \tau^1 5 f x_6 + 6 f x_4 x_6 - x_4 &= 0
\end{aligned}\right\} \tag{5.16}$$

Verificamos, usando Singular (2013) [DGPS13] con la librería "signcond.lib", que el sistema (5.16) con $\tau = \frac{1}{50}$ tiene 3 soluciones positivas:

```
t=1/50
LIB "signcond.lib";
ring r=(0,t),(e,x2,x4,x6,f,g), dp;
poly f1=e+4*f*x2-2;
poly f2=4*(t^2)*f+4*f*x2+4*f*x6-1;
poly f3=g+(t^1)*x4*g-2;
poly f4=(t^1)*e*x2+(t^1)*4*f*x2+5*e*f*x2+3*(t^1)*e*g*x4-e*1;
poly f5=(t^1)*x4*x2+3*g*x4+(t^1)*4*x2*g*x4+5*x2*x6*f-x2*6;
```

```
poly f6=x6*x4+(t^1)*5*x6*f+6*x4*x6*f-x4*1;

poly g1=subst(f1,t,1/50);
poly g2=subst(f2,t,1/50);
poly g3=subst(f3,t,1/50);
poly g4=subst(f4,t,1/50);
poly g5=subst(f5,t,1/50);
poly g6=subst(f6,t,1/50);
ideal i=g1,g2,g3,g4,g5,g6;
ideal j=std(i);
firstoct(j);
3
```

Para un valor un poco más grande del parámetro τ, salimos de la región de multiestacionariedad:

```
t=1/45
LIB "signcond.lib";
ring r=(0,t),(e,x2,x4,x6,f,g), dp;
poly f1=e+4*f*x2-2;
poly f2=4*(t^2)*f+4*f*x2+4*f*x6-1;
poly f3=g+(t^1)*x4*g-2;
poly f4=(t^1)*e*x2+(t^1)*4*f*x2+5*e*f*x2+3*(t^1)*e*g*x4-e*1;
poly f5=(t^1)*x4*x2+3*g*x4+(t^1)*4*x2*g*x4+5*x2*x6*f-x2*6;
poly f6=x6*x4+(t^1)*5*x6*f+6*x4*x6*f-x4*1;

poly g1=subst(f1,t,1/45);
poly g2=subst(f2,t,1/45);
poly g3=subst(f3,t,1/45);
poly g4=subst(f4,t,1/45);
poly g5=subst(f5,t,1/45);
poly g6=subst(f6,t,1/45);
ideal i=g1,g2,g3,g4,g5,g6;
ideal j=std(i);
firstoct(j);
1
```

Bibliografía

[AF] Torres A. and E. Feliu. Symbolic proof of bistability in reaction networks. *Applied Dynamical Systems*, (To appear).

[AL01] A.R. Asthagiri and D.A. Lauffenburger. A computational study of feedback effects on signal dynamics in a mitogen-activated protein kinase (mapk) pathway model. *Biotechnol. Prog.*, 17:227–239, 2001.

[BDG18] F. Bihan, A. Dickenstein, and M. Giaroli. Lower bounds for positive roots and regions of multistationarity in chemical reaction networks. *Preprint, available at: arXiv:1807.05157*, 2018.

[BG19] A. Barabanschikov and J. Gunawardena. Monostationarity and multistationarity in tree networks of goldbeter-koshland loops. *Bull Math Biol*, 81(2):463–509, 2019.

[BI64] A. Ben-Israel. Notes on linear inequalities, 1: The intersection of the nonnegative orthant with complementary orthogonal subspaces. *J. Math. Anal. Appl.*, 1(9):303–314, 1964.

[BM93] Dave Bayer and David Mumford. What can be computed in algebraic geometry. *Computational algebraic geometry and commutative algebra (Cortona, 1991)*, 1:D48, 1993.

[BP18] M. Banaji and C. Pantea. The inheritance of nondegenerate multistationarity in chemical reaction networks. *J. Appl. Math.*, 78(2):1105–1130, 2018.

[BSS18] F. Bihan, F. Santos, and PJ. Spaenlehauer. A polyhedral method for sparse systems with many positive solutions. *J Appl Algebra Geom*, 2(4):620–645, 2018.

[CAT19] Conradi C., Iosif A., and Kahle T. Multistationarity in the space of total concentrations for systems that admit a monomial parametrization. *Bull Math Biol*, pages 1–36, 2019.

[CC18] Conradi Carsten and Pantea Casian. *Multistationarity in Biochemical Networks: Results, Analysis and Examples*, volume Chapter 9. Elsevier, 2018.

[CDSS09] Gheorghe Craciun, Alicia Dickenstein, Anne Shiu, and Bernd Sturmfels. Toric dynamical systems. *Journal of Symbolic Computation*, 44(11):1551 – 1565, 2009. In Memoriam Karin Gatermann.

[CEMC17] Conradi C., Feliu E., Mincheva M., and Wiuf C. Identifying parameter regions for multistationarity. *PLOS Computational Biology*, 13(10), 2017.

[CFR08] C. Conradi, D. Flockerzi, and J. Raisch. Multistationarity in the activation of a MAPK: Parametrizing the relevant region in parameter space. *Math. Biosci.*, 211(1):105–131, 2008.

[CFRS07] Carsten Conradi, Dietrich Flockerzi, Jörg Raisch, and Jörg Stelling. Subnetwork analysis reveals dynamic features of complex (bio) chemical networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(49):19175–19180, 2007.

[CFW20a] D. Cappelletti, E. Feliu, and C. Wiuf. Addition of flow reactions preserving multistationarity and bistability. *Mathematical Biosciences*, 320(108295), 2020.

[CFW20b] Daniele Cappelletti, Elisenda Feliu, and Carsten Wiuf. Addition of flow reactions preserving multistationarity and bistability. *Math. Biosci.*, 320:108295, 8, 2020.

[CHW08] Gheorghe Craciun, J William Helton, and Ruth J Williams. Homotopy methods for counting reaction network equilibria. *Mathematical biosciences*, 216(2):140–149, 2008.

[CK01] L. Chang and M. Karin. Mammalian map kinase signaling cascades. *Nature*, 410:37–40, 2001.

[CLO07] D.A. Cox, J. Little, and D. O'Shea. *Ideals, Varieties, and Algorithms: An Introduction to Computational Algebraic Geometry and Commutative Algebra*. Springer, 2007.

[CNP13] Gheorghe Craciun, Fedor Nazarov, and Casian Pantea. Persistence and permanence of mass-action and power-law dynamical systems. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 73(1):305–329, 2013.

[Cox20] D. A Cox. *Applications of Polynomial Systems, with contributions by D'Andrea C., Dickenstein A., Hauenstein J., Schenck H., and Sidman,J.*, volume 134 of *CBMS Regional Conference Series in Mathematics*. American Mathematical Society, 2020.

[DF21] A. Dickenstein and E. Feliu. *Algebraic Methods for Biochemical Reaction Networks*. In preparation, 2021.

[DGPS13] W. Decker, G.-M. Greuel, G. Pfister, and H. Schönemann. SINGULAR 3-1-6 — A computer algebra system for polynomial computations. 2013. http://www.singular.uni-kl.de.

[DGRPM19] A. Dickenstein, M. Giaroli, R. Rischter, and M. Pérez Millán. Parameter regions that give rise to 2[n/2]+1 positive steady states in the n-site phosphorylation system. *Mathematical Biosciences and Engineering*, 16(6):7589–7615, 2019.

[Dic16] A. Dickenstein. Biochemical reaction networks: an invitation for algebraic geometers. *Contemporary Mathematics*, (656):65–83, 2016.

[Dic19] A. Dickenstein. *Algebra and geometry in the study of enzymatic cascades*, volume 656 of *World Women in Mathematics 2018 - Proceedings of the First World Meeting for Women in Mathematics* $(WM)^2$. Springer, 2019. Araujo, C., Benkart, G., Praeger, C., Tanbay, B. (Eds.

[DL06] W. Decker and C. Lossen. *Computing in Algebraic Geometry: A Quick Start Using SINGULAR*. Algorithms and Computation in Mathematics. Springer, 2006.

[DPM11] Alicia Dickenstein and Mercedes Pérez Millán. How far is complex balancing from detailed balancing? *Bulletin of Mathematical Biology*, 73(4):811–828, 2011.

[DPMSX19] A. Dickenstein, M. Pérez Millán, A. Shiu, and Tang X. Multistationarity in structured reaction networks. *Bulletin of Mathematical Biology*, 81(5):1527–1581, 2019.

[ea] Feinberg M. et al. Chemical reaction network toolbox.

[Fei72] Martin Feinberg. Complex balancing in general kinetic systems. *Archive for Rational Mechanics and Analysis*, 49(3):187–194, 1972.

[Fei77] Martin Feinberg. Mathematical aspects of mass action kinetics. *Chemical Reactor Theory: A Review*, pages 1–78, 1977.

[Fei79] Martin Feinberg. Lectures on chemical reaction networks. notes of lectures given at the mathematics research center of the university of wisconsin in 1979, 1979.

[Fei89] Martin Feinberg. Necessary and sufficient conditions for detailed balancing in mass action systems of arbitrary complexity. *Chemical Engineering Science*, 44(9):1819 – 1827, 1989.

[Fei95a] Martin Feinberg. The existence and uniqueness of steady states for a class of chemical reaction networks. *Archive for Rational Mechanics and Analysis*, 132(4):311–370, 1995.

[Fei95b] Martin Feinberg. Multiple steady states for chemical reaction networks of deficiency one. *Archive for Rational Mechanics and Analysis*, 132(4):371–406, 1995.

[Fei19] M. Feinberg. *Foundations of Chemical Reaction Network Theory*. Springer Nature Switzerland, 2019.

[FH77] Martin Feinberg and F.J.M. Horn. Chemical mechanism structure and the coincidence of the stoichiometric and kinetic subspaces. *Archive for Rational Mechanics and Analysis*, 66(1):83–97, 1977.

[FKdWY20] E. Feliu, N. Kaihnsa, T. de Wolff, and O. Yürük. The kinetic space of multistationarity in dual phosphorylation. *Dynamics and Differential Equations*, 2020.

[FKLW12] E Feliu, M Knudsen, Andersen LN, and C Wiuf. An algebraic approach to signaling cascades with n layers. *Bull Math Biol*, 1(74):45–72, 2012.

[FRW20] Elisenda Feliu, Alan D. Rendall, and Carsten Wiuf. A proof of unlimited multistability for phosphorylation cycles. *Nonlinearity*, 33(11):5629–5658, 2020.

[FS19] E. Feliu and A. Sadeghimanesh. The multistationarity structure of networks with intermediates and a binomial core network. *Bulletin of Mathematical Biology*, 81:2428–2462, 2019.

[FW12a] Elisenda Feliu and Carsten Wiuf. Enzyme-sharing as a cause of multistationarity in signalling systems. *Journal of The Royal Society Interface*, 9(71):1224–1232, 2012.

[FW12b] Elisenda Feliu and Carsten Wiuf. Variable elimination in chemical reaction networks with mass-action kinetics. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 72(4):959–981, 2012.

[FW13a] Elisenda Feliu and Carsten Wiuf. Simplifying biochemical models with intermediate species. *Journal of The Royal Society Interface*, 10(87):20130484, 2013.

[FW13b] Elisenda Feliu and Carsten Wiuf. Variable elimination in post-translational modification reaction networks with mass-action kinetics. *Journal of mathematical biology*, 66(1-2):281–310, 2013.

[FW15] Elisenda Feliu and Carsten Wiuf. Finding the positive feedback loops underlying multi-stationarity. *BMC Systems Biology*, 9(22), 2015.

[Gat01] Karin Gatermann. Counting stable solutions of sparse polynomial systems in. In *Symbolic Computation: Solving Equations in Algebra, Geometry, and Engineering, 2000*, volume 286, page 53. American Mathematical Soc., 2001.

[GBD19] M. Giaroli, F. Bihan, and A. Dickenstein. Regions of multistationarity in cascades of goldbeter-koshland loops. *Journal of Mathematical Biology*, 78:1115–1145, 2019.

[GH02] Karin Gatermann and Birkett Huber. A family of sparse polynomial systems arising in chemical reaction systems. *Journal of Symbolic Computation*, 33(3):275 – 305, 2002.

[Gun03] Jeremy Gunawardena. Chemical reaction network theory for in-silico biologists. *Notes available for download at http://vcp. med. harvard. edu/papers/crnt. pdf*, 2003.

[Gun07] Jeremy Gunawardena. Distributivity and processivity in multisite phosphorylation can be distinguished through steady-state invariants. *Biophysical journal*, 93(11):3828–3834, 2007.

[Gun12] Jeremy Gunawardena. A linear framework for time-scale separation in nonlinear biochemical systems. *PloS one*, 7(5):e36321, 2012.

[GW05] Karin Gatermann and Matthias Wolfrum. Bernstein's second theorem and viro's method for sparse polynomial systems in chemistry. *Advances in Applied Mathematics*, 34(2):252 – 294, 2005.

[HFWS13] Heather A Harrington, Elisenda Feliu, Carsten Wiuf, and Michael PH Stumpf. Cellular compartments cause multistability and allow cells to process more information. *Biophysical journal*, 104(8):1824–1831, 2013.

[HJ72] F. Horn and R. Jackson. General mass action kinetics. *Archive for Rational Mechanics and Analysis*, 47(2):81–116, 1972.

[Hor72] F. Horn. Necessary and sufficient conditions for complex balancing in chemical kinetics. *Archive for Rational Mechanics and Analysis*, 49(3):172–186, 1972.

[Hor73] Fritz Horn. Stability and complex balancing in mass-action systems with three short complexes. *Proceedings of the Royal Society of London. A. Mathematical and Physical Sciences*, 334(1598):331–342, 1973.

[Hor74] Fritz Horn. The dynamics of open reaction systems. In *Mathematical aspects of chemical and biochemical problems and quantum chemistry (Proc. SIAM-AMS Sympos. Appl. Math., New York, 1974)*, pages 125–137, 1974.

[HT79] V. Hárs and J. Tóth. On the inverse problem of reaction kinetics. *Colloquia Mathematica Societatis János Bolyai. Qualitative Theory of Differential Equations, Szeged (Hungary)*, 30:363–379, 1979.

[JS13] Badal Joshi and Anne Shiu. Atoms of multistationarity in chemical reaction networks. *Journal of Mathematical Chemistry*, 51(1):153–178, 2013.

[KFW12] Michael Knudsen, Elisenda Feliu, and Carsten Wiuf. Exact analysis of intrinsic qualitative features of phosphorelays using mathematical models. *Journal of theoretical biology*, 300:7–18, 2012.

[KPMD+12] Robert L Karp, Mercedes Pérez Millán, Tathagata Dasgupta, Alicia Dickenstein, and Jeremy Gunawardena. Complex-linear invariants of biochemical networks. *Journal of theoretical biology*, 311:130–138, 2012.

[MD18] M. Pérez Millán and A. Dickenstein. The structure of MESSI biological systems. *J. Appl. Dyn. Syst.*, 17(2):1650–1682, 2018.

[MFR+16] S. Müller, E. Feliu, G. Regensburger, C. Conradi, A. Shiu, and A. Dickenstein. Sign conditions for injectivity of generalized polynomials maps with applications to chemical reaction networks and a real algebraic geometry. *Found. Comput. Math.*, 6(1):69–97, 2016.

[MG08] Arjun Kumar Manrai and Jeremy Gunawardena. The geometry of multisite phosphorylation. *Biophysical journal*, 95(12):5533–5543, 2008.

[Mos20] G. Mosse. Lio messi: Little input-output modifications of type enzyme-substrate or swap with intermediates analyze. 2020.

[NGA+20] K. Nam, B. Gyori, S. Amethyst, D. Bates, and J. Gunawardena. Robustness and parameter geography in post-translational modification systems. *PLoS Comput Biol*, 16(e1007573), 2020.

[OSTT19] N. Obatake, A. Shiu, X. Tang, and A. Torres. Oscillations and bistability in a model of erk regulation. *Mathematical Biology*, 79(4):1515–1549, 2019.

[PGRC14] Casian Pantea, Ankur Gupta, James B Rawlings, and Gheorghe Craciun. The qssa in chemical kinetics: As taught and as practiced. In *Discrete and Topological Models in Molecular Biology*, pages 419–442. Springer, 2014.

[PMDSC12] M. Pérez Millán, A. Dickenstein, A. Shiu, and C. Conradi. Chemical reaction systems with toric steady states. *Bulletin of mathematical biology*, 74(5):1027–1065, 2012.

[RGZ97] J. Richter-Gebert and G. M. Ziegler. Oriented matroids. *Handbook of Discrete and Computational Geometry, J. E. Goodman and J. O'Rourke, eds.*, pages 111–132, 1997.

[RMBS16] Boris Y. Rubinstein, Henry H. Mattingly, Alexander M. Berezhkovskii, and Stanislav Y. Shvartsman. Long-term dynamics of multisite phosphorylation. *Mol Biol Cell*, 27(14):2331–2340, 2016.

[Roc69] R. T. Rockafellar. The elementary vectors of a subspace of r^n. *Combinatorial Mathematics and its Applications*, pages 104–127, 1969.

[SF19a] A. Sadeghimanesh and E. Feliu. Groebner bases of reaction networks with intermediate species. *Advances in Applied Mathematics*, 107:74–101, 2019.

[SF19b] A. Sadeghimanesh and E. Feliu. The multistationarity structure of networks with intermediates and a binomial core network. *Bulletin of Mathematical Biology*, 81:2428–2462, 2019.

[SOMMU02] SS Shen-Orr, R Milo, S Mangan, and Alon U. Network motifs in the transcriptional regulation network of escherichia coli. *Nat. Genet.*, (31):64–68, 2002.

[Son01] Eduardo D Sontag. Structure and stability of certain chemical networks and applications to the kinetic proofreading model of t-cell receptor signal transduction. *Automatic Control, IEEE Transactions on*, 46(7):1028–1047, 2001.

[Stu96] B. Sturmfels. *GrÃ¶bner Bases and Convex Polytopes*, volume 8 of *University Lecture Series*. American Mathematical Society, 1996.

[SWF19] M. Sáez, C. Wiuf, and E. Feliu. Nonnegative linear elimination for chemical reaction networks. *Applied Mathematics*, 79(6):2434–2455, 2019.

[TG09a] Matthew Thomson and Jeremy Gunawardena. The rational parameterisation theorem for multisite post-translational modification systems. *Journal of theoretical biology*, 261(4):626–636, 2009.

[TG09b] Matthew Thomson and Jeremy Gunawardena. Unlimited multistability in multisite phosphorylation systems. *Nature*, 460(7252):274–277, 2009.

[VK75] A. I. Vol'pert and S. I. Khudiaev. Analysis in classes of discontinuous functions and the equations of mathematical physics. *Moscow Izdatel Nauka*, 1975.

[Wig03] Stephen Wiggins. *Introduction to Applied Nonlinear Dynamical Systems and Chaos.2nd Edition*. Springer, 2003.

[WS07] Liming Wang and Eduardo Sontag. On the number of steady states in a multiple futile cycle. *Math. Biol., DOI 10.1007/s00285-007-0145-z*, 57:29–52, 2007.