

**UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE CIENCIAS**

**DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA
MOLECULAR**



UNIVERSIDAD DE GRANADA
Facultad de Ciencias
Fecha 23-7-98
ENTRADA NUM. 2403

**Aplicación de la metodología de superficies de
respuesta a la Teoría de los Sistemas Bioquímicos**

**Pedro Femia Marzo
Tesis doctoral**



GRANADA - 1998

D. José Antonio Lupiáñez Cara
Catedrático del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la
Universidad de Granada

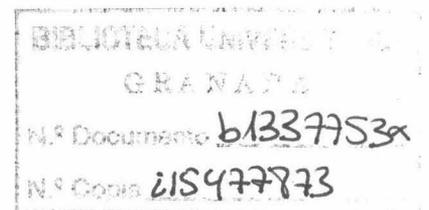
Y

D. Juan de Dios Luna del Castillo
Profesor Titular del Departamento de Estadística e Investigación Operativa
de la Universidad de Granada

CERTIFICAN

Que **D. Pedro Femia Marzo**, Licenciado en Ciencias Biológicas por la Universidad de Granada, ha realizado bajo nuestra dirección los trabajos de su tesis doctoral titulada “**Aplicación de la metodología de las superficies de respuesta a la Teoría de los Sistemas Bioquímicos**”, y que dicha tesis ha sido revisada por los que suscriben, quienes estiman que reúne las condiciones necesarias para ser presentada ante Tribunal y poder obtener el grado de Doctor.

Granada a 14 de Julio de 1998



José Antonio Lupiáñez Cara

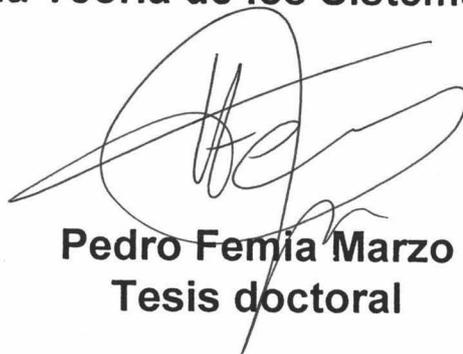
Juan de Dios Luna del Castillo

**UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE CIENCIAS**

**DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA
MOLECULAR**



**Aplicación de la metodología de superficies de
respuesta a la Teoría de los Sistemas Bioquímicos**



**Pedro Femia Marzo
Tesis doctoral**

GRANADA - 1998



A mis padres, Ángel y Gloria

A mis hermanos Gloria, Ana y Ángel

Y de manera especial, a mi querida Concha

Agradecimientos

De la manera mas sincera, quiero expresar mi agradecimiento a los directores de este trabajo, **José Antonio Lupiáñez** y **Juan de Dios Luna**, quienes primero me honraron con su confianza, y después con su amistad.

A los dos ¡gracias!.

Índice

Símbolos y abreviaturas.....	vii
Prólogo.....	xi
Capítulo 1. Introducción a la Teoría de los Sistemas Bioquímicos	1
1.1. Introducción.....	3
1.1.1. Perspectiva histórica de la Teoría de los Sistemas Bioquímicos (BST).....	3
1.1.2. Convenios sobre la notación.....	6
1.2. El formalismo de la ley potencial.....	9
1.2.1. Desarrollo.....	9
1.2.2. Representación de un sistema bioquímico.....	12
1.3. Caracterización de los componentes del sistema.....	15
1.3.1. Descripción de las propiedades locales.....	15
1.3.2. Criterios para caracterizar las propiedades sistémicas.....	16
1.3.2.1. Ganancia logarítmica.....	16
1.3.2.2. Sensibilidad paramétrica.....	17
1.4. Representaciones alternativas basadas en el formalismo de la ley potencial.....	21
1.4.1. Agregación de procesos elementales.....	22
1.4.2. Comparación entre las representaciones.....	25
1.5. Descripción de los sistemas bioquímicos sobre la base de los sistemas S.....	29
1.5.1. Estrategias de agregación de flujos.....	29
1.5.2. Agregación de variables.....	32
1.5.3. Caracterización del estado estacionario.....	33
1.5.3.1. Solución explícita respecto a las variables de concentración.....	33
1.5.3.2. Solución explícita respecto a las variables de flujo.....	36
1.5.4. Caracterización del comportamiento del sistema en el estado estacionario.....	36
1.5.4.1. Factores relacionando las variables de concentración con los parámetros cinéticos.....	36
1.5.4.2. Factores relacionando las variables de flujo con los parámetros cinéticos.....	39
1.5.5. Estabilidad local.....	44
1.5.6. Fórmulas computacionales.....	48
1.6. Aplicaciones de la teoría.....	51
1.6.1. Análisis de sistemas abstractos.....	51
1.6.2. Aspectos experimentales.....	52
1.6.2.1. Determinación de parámetros locales.....	52
1.6.2.2. Determinación de propiedades sistémicas.....	53
1.6.2.3. Validación del modelo.....	55

Capítulo 2. Formalismo de la ley potencial de segundo grado	57
2.1. Introducción	59
2.2. El modelo potencial de segundo grado	61
2.2.1. Formulación	61
2.2.1.1. Un ejemplo para el caso de dos variables	64
2.2.1.2. La ley potencial de segundo grado como superficie cuadrática.....	65
2.2.1.3. Representación de segundo grado de sistemas generales de orden n	67
2.2.1.4. Espacios Π_1^L y Π_2^L de aproximaciones polinómicas	68
2.2.1.5. Algunas consideraciones comparativas entre las aproximaciones de primer y segundo grado.....	69
2.3. Representación de segundo grado de mecanismos cinéticos con una variable de concentración.....	73
2.3.1. Formulación del modelo PL2 para la ecuación de Hill.....	73
2.3.2. Una función no monótona: la cinética de inhibición por sustrato	79
2.4. Aproximaciones de segundo grado a cinéticas multireactivas.....	85
2.4.1. Crítica a la metodología clásica de análisis de las cinéticas multireactivas	85
2.4.2. Caracterización de la superficie PL2 en las cinéticas multireactivas	91
2.4.2.1. Magnitud relativa entre los coeficientes de la aproximación cuadrática.....	96
2.5. Análisis canónico de la ley potencial de segundo grado.....	99
2.5.1. Principios básico del análisis canónico de superficies de respuesta.....	99
2.5.2. Análisis canónico de las superficies w_{PL2}	104
2.5.3. Aplicaciones de la representación canónica.....	105
2.5.4. Variables canónicas.....	105
2.5.4.1. Análisis de las variables canónicas	108
2.5.4.2. Contribución de las variables canónicas al eje canónico ξ_i	109
2.5.4.3. Agregados canónicos	110
2.5.5. Clasificación de la respuesta	111
2.5.5.1. Importancia de cada dirección canónica sobre la respuesta	113
2.5.5.2. Reducción de las dimensiones canónicas de la respuesta	115
2.5.5.3. Recuperación de coeficientes.....	116
2.5.5.4. Análisis canónico para valorar la calidad de la aproximación PL1	117
2.5.6. Ejemplos de análisis.....	118
2.5.6.1. Ejemplo 1: Análisis canónico del modelo de inhibición acompetitiva.....	118
2.5.6.2. Ejemplo 2: Control de la fosfofructokinasa	123

2.5.6.3. Ejemplo 3: Comparación entre las estrategias reversible e irreversible de agregación. Análisis de la cinética de la fumarasa.....	129
2.6. Cambio de aproximación por reducción del grado	135
2.7. Formulación respecto a centros de aproximación alternativos	143
2.8. Agregación en Π_2^L	147
2.9. Consideraciones sobre la reformulación de los modelos generales de segundo grado a modelos de primer grado	153
2.9.1. Introducción. Reformulación de ecuaciones diferenciales como sistemas S	153
2.9.2. Consideraciones sobre la reformulación de sistemas PL2	154
2.9.2.1. Expresión v_{PL1} de una función v_{PL2}	154
2.9.2.2. Reformulación de sistemas GMA_{PI2} en sistemas GMA_{PI1}	155
2.9.2.3. Valoración del criterio de reformulación considerado.....	158
2.10. Estudio de un modelo teórico mediante el formalismo de segundo grado	159
2.10.1. Ciclo de sustrato de la PFK-FBPasa	159
2.10.2. Modelo de regulación de Boiteux, Hess y Sel'kov	161
2.10.3. Modelo PL2 del ciclo de la PFK-FBPasa	164
2.10.3.1. Formulación del modelo	166
2.10.3.2. Valoración y análisis del modelo	170
2.10.3.3. Consideraciones sobre la aproximación de primer grado	175
2.11. Fórmulas computacionales para la representación de segundo grado	177
2.11.1. Implementación de las ecuaciones de segundo grado	177
2.11.2. Resolución numérica por el método de Taylor	179
2.12. Aportaciones del formalismo de segundo grado a la caracterización del estado estacionario sobre la base de los sistemas S.....	185
2.12.1. Introducción. Condición de estado estacionario en términos de las variables l_i	185
2.12.2. Determinación del estado estacionario sobre la base del modelo de segundo grado.....	186
2.12.2.1. Justificación del método.....	189
2.12.2.2. Acotación del error en el estado estacionario de primer grado por truncamiento de la serie PL1	191
2.12.2.3. Un ejemplo de aplicación.....	193
Capítulo 3. El proyecto SPL2	199
3.1. Introducción	201
3.1.1. El diseño orientado al objeto.....	201
3.2. Implementación de un sistema bioquímico.....	205
3.2.1. Introducción	205

3.2.2.	Implementación de los nodos del sistema: el objeto <i>tNodo</i> y sus descendientes.....	206
3.2.3.	Implementación de las leyes de velocidad: los objetos <i>tArista</i> y <i>tVPL2</i>	213
3.2.4.	Ensamblaje de los componentes: el objeto <i>tSPL2</i>	217
3.3.	El interfaz <i>SPL2</i>	221
3.3.1.	Inicio del programa. Gestión de archivos	221
3.3.2.	Simulación de un sistema.....	222
3.3.3.	Resultados	225
3.4.	Codificación de los archivos de sistema SBQ	231
Capítulo 4. Consideraciones desde una perspectiva estadística		239
4.1.	Introducción	241
4.2.	Estructura aleatoria de la ley de velocidad.....	243
4.2.1.	Hipótesis básicas sobre el componente aleatorio	244
4.2.1.1.	Las hipótesis del modelo.....	244
4.2.1.2.	Revisión de la estructura del error en los ensayos enzimáticos.....	247
4.2.2.	Efecto de la transformación logarítmica implícita en el formalismo de la ley potencial	248
4.2.2.1.	Deformación de la relación entre las variables	248
4.2.2.2.	Efecto sobre la distribución del error	251
4.3.	El formalismo de la ley potencial de primer grado como modelo de regresión lineal	257
4.3.1.	Observaciones experimentales. Especificación del modelo.....	257
4.3.2.	Estimación de parámetros	259
4.3.2.1.	Caracterización de las propiedades de los estimadores: el teorema de Gauss-Markov	259
4.3.2.2.	Estimación del modelo PL1 bajo los supuestos del teorema de Gauss-Markov.....	260
4.3.3.	Inferencia sobre el valor de la velocidad de reacción	263
4.3.3.1.	Propiedades del estimador.....	263
4.3.3.2.	Inferencia de la velocidad en términos de su escala original.....	264
4.3.3.3.	Una consecuencia del indeterminismo del flujo	266
4.3.4.	Errores del modelo	269
4.3.4.1.	Errores de especificación. Planteamiento general del problema.....	271
4.3.4.2.	Indeterminismo de las variables regresoras	272
4.4.	Una aproximación a la propagación del error en las estimaciones analíticas	277
4.4.1.	Aproximación al valor media y a la varianza de una función de k variables.....	277
4.4.1.1.	Método de Taylor para caracterizar los momentos de una función de variables aleatorias.....	278

4.4.1.2. Un ejemplo: propagación del error de \hat{k}_m y \hat{x}_0 a \hat{g}_1 y \hat{g}_2 respecto a una cinética michaeliana	280
4.4.1.3. Intervalos de confianza	283
4.4.2. Aproximación al error de los valores de estado estacionario de un sistema S sobre la base del error de los parámetros locales	285
4.4.2.1. Especificación del problema	285
4.4.2.2. Análisis de los elementos	286
4.4.2.3. Relaciones entre los elementos	289
4.4.2.4. Obtención de la matriz de varianzas y covarianzas de \hat{y}_{dep}	291
4.5. Sistemas S y modelos de ecuaciones simultáneas	297
4.5.1. El modelo analítico y el modelo estadístico	298
4.5.1.1. El modelo analítico de la BST	298
4.5.1.2. Concepción del modelo estadístico	298
4.5.2. Las formas estructural y reducida	302
4.5.2.1. Hipótesis básicas relativas a la forma estructural	302
4.5.2.2. La forma reducida	303
4.5.2.3. El problema de la identificación	305
4.6. Comentarios finales sobre la necesidad del planteamiento estadístico	309
4.6.1. La aproximación analítica y el ajuste estadístico	309
4.6.2. Crítica a la metodología clásica de experimentación	311
4.6.3. Algunas cuestiones sobre el diseño factorial	312
4.6.3.1. Algunos comentarios sobre diseños para ajustar el modelo de primer grado	314
4.6.3.2. Algunos comentarios sobre diseños para ajustar el modelo de segundo grado	314
4.6.3.3. Ajuste alternativo de una superficie PL2 al modelo de Ritcher y Betz	316
Resumen de las aportaciones realizadas	323
Bibliografía	329

Símbolos y abreviaturas

\approx, \cong	Aproximado
$\hat{}$	Indica 'estimador de'. Por ejemplo: $\hat{\theta}$ representa al estimador del parámetro genérico θ .
$\dot{}$	Indica derivada respecto al tiempo. Por ejemplo: \dot{x} es dx/dt
\rightarrow	Se aproxima, se distribuye o converge
$ $	Condicionamiento. Por ejemplo: $v(x) _{x=x_k}$ equivale a expresar $v(x_k)$
$ x $	Valor absoluto de x .
$\ \mathbf{u}\ $	Norma euclídea del vector \mathbf{u}
α	Error de tipo I asociado a la inferencia estadística. $(1-\alpha)$ representa el nivel de confianza.
α_i	En la BST. Constante aparente de velocidad en el influjo de x_i (o relativa a una etapa v_i).
β_i	En la BST. Constante aparente de velocidad en el eflujo de x_i (o relativa a una etapa v_i).
Δ	Determinante asociado a una matriz cuadrada
Δ_{ij}	Cofactor del elemento a_{ij}
$\Delta^{(k)}$	Numerador de Cramer para la k -ésima solución de un sistema de ecuaciones lineales (algebraicas).
$\gamma_{ij}, \gamma_{ij}(I)$	Coefficiente canónico de primer grado
γ	Gradiente canónico. Vector columna de componentes γ_{ij}
λ_i	Autovalor (o valor propio) i -ésimo asociado a una matriz cuadrada.
$\sigma(\mathbf{G})$	Espectro de la matriz cuadrada \mathbf{G}
Λ	Matriz diagonal (genéricamente, obtenida por diagonalización)
$\nabla f(x)$	Gradiente de la función $f(x)$
$\theta, \boldsymbol{\theta}$	Parámetro y vector de parámetros (genéricos)
d, ∂	Derivada y derivada parcial
Π	Símbolo producto
Π_1^L, Π_2^L	Anillo de los polinomios de primer y segundo grado en espacio doble logarítmico
Σ	Símbolo sumatoria.
$\Sigma_{\mathbf{x}}$	Matriz de varianzas-covarianzas poblacional relativa al vector \mathbf{x} .
ξ	Vector de variables canónicas con coordenadas ξ_i
a_{ij}	En la BST diferencia entre los ordenes cinéticos aparentes relativos al influjo y eflujo sobre y desde una variable x_i cuando su variación se expresa en forma de sistema S.
\mathbf{A}	Matriz de elementos a_{ij}

$\mathbf{A}_{\text{dep}}, \mathbf{A}_{\text{ind}}$	Matrices relativas de coeficientes relativas al estado estacionario de los sistemas S. La primera alude a las variables dependientes y la segunda a las independientes.
CAV	Constante aparente de velocidad
$\text{Cov}(x, y)$	Operador covarianza entre las variables x e y
CV_x	Coefficiente de variación muestral para la variable x .
ε	Perturbación aleatoria
$E(x), E(\mathbf{x})$	Esperanza matemática (de la variable aleatoria x o del vector aleatorio \mathbf{x})
ECM	Error cuadrático medio
EMCO	Estimación o estimador de mínimos cuadrados ordinarios
g_{ij}	Órdenes cinéticos aparentes relativos a un influjo sobre la variable x_i en la BST
g_{ij0}	Coefficientes de primer grado del ajuste cuadrático
g_{ijk}	Coefficientes de segundo grado del ajuste cuadrático
\mathbf{G}, \mathbf{G}_i	Matrices de elementos g_{jk} . La segunda alude a la etapa i -ésima.
$G_j(I)$	Función que actúa como orden cinético aparente en los modelos de segundo grado (genérica o relativa a influjos)
\tilde{g}_{ij}	Coefficiente agregado.
\hat{g}_{ij}	Estimador puntual del coeficiente g_{ij}
h_{ij}	Órdenes cinéticos aparentes relativos a un eflujo desde la variable x_i en la BST
GMA	Acción de masas generalizadas
GMA_{PL1}	Representación de primer grado para un sistema GMA
GMA_{PL2}	Representación de segundo grado para un sistema GMA
h_{ij0}	Coefficientes de primer grado del ajuste cuadrático (eflujo)
h_{ijk}	Coefficientes de segundo grado del ajuste cuadrático (eflujo)
\mathbf{H}, \mathbf{H}_i	Matriz de elementos h_{jk} . La segunda alude a la etapa i -ésima.
$H_j(I)$	Función que actúa como orden cinético aparente en los modelos de segundo grado (relativa a eflujos)
k_I	Constante de inhibición
k_m	Constante de Michaelis-Menten
k_1, k_2, \dots	Constantes cinéticas
I	Vector columna de componentes l_i
l_i	Logaritmo natural de la variable x_i estandarizada por su valor nominal x_{i0} .
\mathbf{L}	Matriz de observaciones de $l_{(t)}$
\mathbf{L}_x	Matriz de ganancias logarítmicas respecto a las variables
$L(X_i, X_j)$	Ganancia logarítmica de la variable de concentración (dependiente) X_i respecto a la variable de concentración (independiente) X_j .
\mathbf{L}_v	Matriz de ganancias logarítmicas respecto a los flujos.
$L(v_i, X_j)$	Ganancia logarítmica del flujo v_i respecto a la variable de concentración (independiente) X_j .

ℓ	Función de verosimilitud
m	Número de variables independientes que constituyen un sistema.
m_{ij}	Elemento de la posición (i,j) de la matriz de incidencia.
M_{inc}	Matriz de incidencia (con elementos m_{ij})
n	Número de variables dependientes que constituyen un sistema.
N	Número de observaciones que constituyen una muestra
$N(\mu, \Sigma)$	Distribución normal de parámetros μ y Σ .
OCA	Siglas de orden cinético aparente
PL1	Modelos basados en el formalismo de la ley potencial desarrollando (en serie de Taylor) hasta los términos de primer grado.
PL2	Modelos basados en el formalismo de la ley potencial desarrollando (en serie de Taylor) hasta los términos de segundo grado.
S_x^2	Varianza muestral de la variable x (denominador N)
s_x^2	Cuasivarianza muestral de la variable x (denominador: $N-1$)
S_{xy}	Covarianza muestral entre las variables x e y
S_x	Matriz de varianzas y covarianzas muestral relativa al vector \mathbf{x}
t	Se utiliza indistintamente para aludir a la variable <i>tiempo</i> o las observaciones experimentales. Como superíndice indica trasposición.
$t_0, t_{inicial}$	Valor inicial de la variable tiempo
t_f, t_{final}	Valor final de la variable tiempo
$\upsilon, \upsilon(t)$	Perturbación aleatoria del modelo lineal (vectorial y puntualmente)
$v_i(\mathbf{x})$	Etapas de velocidad (en escala cartesiana) i -ésima como función del vector de variables \mathbf{x} .
$v_i _{\mathbf{x}=\mathbf{x}_k}$	Valor de v_i condicionado a que el vector de variables \mathbf{x} toma el valor \mathbf{x}_k
$V(\mathbf{x})$	Velocidad neta (como agregación de etapas parciales) en escala cartesiana y como función del vector de variables \mathbf{x} .
V_{max}	Velocidad máxima (según la formulación de Michaelis-Menten)
v_{PL1}	Aproximación potencial de primer grado en escala cartesiana
v_{PL2}	Aproximación potencial de segundo grado en escala cartesiana
$w = \ln v(\mathbf{x})$	Transformación logarítmica de la variable velocidad de reacción.
W	Velocidad neta en coordenadas logarítmicas (como agregación de etapas parciales)
w_{PL1}	Aproximación potencial de primer grado en espacio logarítmico
w_{PL2}	Aproximación potencial de segundo grado en espacio logarítmico
w°	Matriz de observaciones de w
w_i°	observación de w en el instante t

$X_i = x_i / x_{i0}$	Cada nodo se identifica con x (minúscula). X representa su estandarización con el valor nominal
x_{i0}	Valor nominal (centro de aproximación) del nodo x_i

Convenios

- Los vectores y matrices se escriben siempre en negrita
- La explicación de las tablas y figuras, se hace siempre en el texto. Aunque siempre se acompaña, a pie de figura o como cabecera de tabla, una indicación de lo presentado.
- La numeración de las figuras, tablas y ecuaciones es como sigue:
[capítulo].[apartado].[número de ecuación, tabla o figura]

Prólogo

Desde que Wilhelm Kühne acuñó en 1878 el término *enzima*, los espectaculares avances en el campo de la Bioquímica, han llevado a detectar y purificar cientos de estas moléculas que soportan gran parte de la responsabilidad de hacer que la vida sea vida.

Durante más de un siglo de investigación, se ha puesto de manifiesto su implicación en prácticamente todos los procesos que suponen el trasiego de materia y energía que deben realizar los organismos vivos. Así mismo, se ha evidenciado el efecto de millones de años de evolución —fuerza impulsora de la optimización de estos procesos. Como resultado, los seres vivos aparecen organizados a modo de una compleja red de reacciones catalizadas enzimáticamente, en donde tienen lugar sofisticados sistemas de control.

En este siglo de investigación bioquímica, se ha conseguido desenmarañar esta red hasta el punto de poder identificar conjuntos de procesos con cierta identidad funcional. Son lo que hoy conocemos como *rutras metabólicas*.

Sin embargo, hasta ahora la investigación se ha llevado a cabo desde un punto de vista analítico, según el cual, el entramado metabólico se descompone en partes que se puedan analizar de forma aislada. Tal proceder, ha conducido a caracterizar el mecanismo de acción de multitud de enzimas. Desde luego, la *fase analítica* (reduccionista) es una fase obligada, puesto que gracias a ella es posible llegar a un nivel de entendimiento suficientemente vasto como para afrontar una subsiguiente *fase sintética* (construccionista), que permita conocer de qué forma se ensamblan los componentes para constituir *el todo*.

Sin embargo, esta fase sintética no ha despuntado hasta finales de los años 60. Los primeros trabajos se deben a Higgins (1959; 1965; 1963), quién asume que la mayor parte del esfuerzo en el conocimiento de la célula se ha hecho en un sentido descriptivo y desde un punto de vista estático. Higgins (1963), propone la *dinámica celular* como punto de partida para el estudio del conjunto de fenómenos que tienen lugar a nivel celular y que son eminentemente dinámicos (por ejemplo, la división celular, la absorción y eliminación controlada de sustancias, etc.).

Para Higgins (1965), la dinámica celular puede tratarse en los mismos términos que los usados en otras disciplinas científicas para estudiar a los sistemas dinámicos. Una de estas disciplinas, especialmente apropiada, es la ingeniería electrónica y de sistemas de control. El fundamento de la analogía, reside en que la descripción formal del sistema bajo estudio viene dada de la misma forma: en términos de ecuaciones diferenciales. Por tanto, el lenguaje (matemático) es el mismo, y a partir de él se podrán derivar aspectos que serán comunes a todos los sistemas —con independencia de su naturaleza—, pues formalmente, todos son *sistemas dinámicos*.

La introducción de conceptos tomados de la ingeniería electrónica ha sido paulatina. En un principio, términos como *control* o *retroinhibición*, tienen un significado más vago. En este sentido, Higgins (1965) destaca la necesidad de establecer definiciones precisas, en el terreno de la bioquímica, de manera que sea posible aplicar los conceptos acuñados en otras disciplinas al estudio de la dinámica celular.

Sin embargo, la idea de desarrollar una disciplina que aborde la dinámica celular, tal y como propone Higgins, no es (en los años 60) totalmente nueva. A finales de los años 20 Ludwig von Bertalanffy escribía:

“Ya que el carácter fundamental de un objeto vivo es su organización, el acostumbrado examen de las partes y procesos aislados no puede darnos una explicación completa de los fenómenos vitales. Este examen no nos informa acerca de la coordinación de partes y procesos”.

(véase Bertalanffy, 1978). Este principio se plasmó en lo que Bertalanffy denominó una *biología organísmica*, preocupada por descubrir las leyes de los sistemas biológicos y que fue el germen de una nueva corriente científica: La *Teoría General de Sistemas*.

El concepto de *Teoría General de Sistemas*, fue formulado por Bertalanffy tras la Segunda Guerra Mundial, para aludir al desarrollo de una teoría lógico-matemática en base a la cual sea posible la formulación y derivación de aquellos principios generales aplicables a *todos los sistemas*. Desde luego, habría que concretar ahora qué es lo que se entiende por *sistema*—algo que no de momento no es tarea fácil, ya que de acuerdo con Savageau (1976), puede que sea uno de los términos que más significados admite en el vocabulario científico. Baste aquí con la acepción dada por Klir (1972):

“[...] entenderemos como sistema a la disposición de componentes ligados por interacciones y que forman un todo.”

Muchos de los aspectos de la *Teoría General de Sistemas* son asumidos por otros autores en un intento de descubrir y formular conceptos generales y relaciones lógicas peculiares de los sistemas vivos. Un claro ejemplo se puede encontrar en los simposios organizados desde 1966 a 1968 por la Unión Internacional de Ciencias Biológicas (véase la compilación de Waddington, 1969). En estas sesiones toma cuerpo la identidad de *sistema biológico* como *sistema complejo*. El significado de *sistema complejo* se puede establecer a partir de la clasificación sugerida por Levins (1969), quien propone dividir a los sistemas complejos como:

- *Sistemas agregados*: en el que las propiedades del conjunto son el resultado estadístico de las propiedades de las partes individuales. Las propiedades individuales afectan a las propiedades del conjunto solo en tanto que son parte de un promedio o de una varianza.
- *Sistemas compuestos*: en estos sistemas, el modo en que las diferentes partes se ensamblan para formar el sistema determina las propiedades de éste, de

modo que las propiedades sistémicas no son ya meras derivaciones estadísticas de sus componentes.

- *Sistemas en desarrollo*: se trata de sistemas en los que los subsistemas componentes se han desarrollado conjuntamente y ya no son siquiera separables de una manera obvia; sistemas en los que resulta conceptualmente difícil decidir cuáles son los subsistemas componentes.

En esta clasificación está implícita la clara delimitación del sistema, sin embargo, de acuerdo con von Bertalanffy, los sistemas biológicos se caracterizan por presentar un alto grado de interacción con el medio en el que se encuentran, es decir, son sistemas abiertos. Un problema esencial al estudiar un sistema (complejo) abierto es su propia delimitación, ya que la necesidad de mantener la totalidad pugna con la de reducir su complejidad. Como apunta Savageau (1976), el requerimiento de la totalidad induce a considerar el mayor número posible de elementos e interacciones para caracterizar al sistema, lo que puede hacer que, una vez conseguida esta caracterización, el resultado sea inabordable desde un punto de vista interpretativo. Esta idea es la misma que transmite Pattee (1969) al afirmar:

“[...] desde luego necesitamos conocer el mecanismo de los procesos; pero cuantos mas detalles aprendemos sobre ellos, menos razonable parece cualquier teoría acerca del origen de la organización que integra esos mecanismos”.

Savageau (1976) sugiere tres tipos de simplificaciones que ayudan a delimitar el sistema mediante la reducción de su complejidad:

- *Simplificaciones espaciales*: basadas en las restricciones espaciales o topológicas, por ejemplo la especificidad del enzima por su sustrato o la compartimentación de procesos.
- *Simplificaciones temporales*: basadas en los niveles de actividad en el tiempo sugeridos por Waddington y que van desde el nivel evolutivo, cuya escala viene dada en millones de años, al nivel bioquímico y biomolecular, cuya escala viene dada en milésimas de segundo.
- *Simplificaciones funcionales*: basadas en el hecho de que ciertos procesos de naturaleza reguladora tienen como resultado de su funcionamiento el mantenimiento de ciertas constantes que, por no aportar información, pueden ser eliminadas en la especificación del sistema.

Estas simplificaciones están basadas en una organización jerárquica que parece ser inherente a los sistemas biológicos. De acuerdo con Pattee (1969), la existencia de funciones dependientes del tiempo constituye la característica esencial de la organización jerárquica y una de las funciones generales de las jerarquías es simplificar una situación compleja, puesto que a los niveles de organización de los sistemas jerárquicos, se asocian los niveles de descripción, (Mesarovic, 1970).

A las simplificaciones consideradas por Savageau, habría que añadir la necesidad de una más. Dado que a la *complejidad ontológica*, la inherente a los sistemas *reales*, va íntimamente ligada la complejidad *semiótica*, la de nuestra descripción, es necesario considerar una forma adicional de simplificación: aquella que permita hacer una representación, a través de la formalización, del sistema bajo estudio. Aquí es donde entra el concepto de *modelo*, algo que Levins (1969) sitúa muy bien al decir:

“[...] el único modo de comprender un sistema complejo es estudiar, a cambio de lo anterior, alguna otra cosa. Y esa otra cosa es un *modelo*.“

Actualmente, las ideas aquí expresadas han sido objeto de un notable desarrollo. Desde las propuestas de Higgins, se ha avanzado mucho en la incorporación de los principios propios de la ingeniería de los sistemas de control electrónico en el campo de la bioquímica. En este sentido, a principios de los años 70 comenzó a despuntar una metodología que, a lo largo de estos casi 30 años, se ha consolidado en lo que hoy se conoce como la *Teoría de los Sistemas Bioquímicos* (BST).

Las directrices de esta teoría son las mismas que indicaba Higgins. Pero sobre todo, son las propias de la Teoría General de Sistemas, ya que se puede considerar a la BST como una respuesta a la *biología organísmica* de Bertalanffy.

Los instrumentos de la BST nacen de la teoría de control de sistemas, pero pronto cobran identidad propia. Tal identidad la da el *formalismo de la ley potencial*, verdadera piedra angular de la BST.

De manera fundamental, el formalismo resuelve el problema de la complejidad *semiótica*, y pone a disposición del investigador una serie de elementos que, en principio, van a permitir caracterizar de manera eficiente, la forma en que operan los sistemas bioquímicos.

La motivación de esta tesis, viene dada por la confianza de su autor en que la BST va a constituir un elemento clave en la investigación bioquímica del siglo que viene.

A nivel teórico, como disciplina, la BST se encuentra en un estadio bien avanzado. Pues sus 30 años de desarrollo ha demostrado ser una *herramienta* apropiada para caracterizar y explicar la forma en que se da buena parte de la *dinámica celular* de Higgins.

Sin embargo, desde el punto de vista empírico, creemos que aún le queda un buen camino por recorrer. Y es que, hoy por hoy, la BST ha incorporado eficientemente las herramientas propias de la ingeniería de sistemas, pero no lo ha hecho, en ningún sentido, con las herramientas propias de la Inferencia Estadística. Algo cuya justificación sobra, si se habla de una disciplina orientada a analizar a los *sistemas vivientes*.

El trabajo presentado está dividido en cuatro capítulos:

En el *capítulo primero* se hace una introducción a la Teoría de los Sistemas Bioquímicos. En ella, se define el formalismo de la ley potencial, tal y como ha sido desarrollado en el marco de esta teoría, y se hace una revisión de sus aplicaciones.

En esta introducción, se pone de manifiesto cómo el *formalismo de la ley potencial* es considerado siempre desde un punto de vista puramente analítico, y no se tiene en cuenta la aleatoriedad implícita en toda investigación experimental.

En base a esta última consideración, en el resto del trabajo se contempla al formalismo de segundo grado desde el punto de vista de la *metodología de las superficies de respuesta*.

Por metodología de las superficies de respuesta (MSR), se entiende a un conjunto de métodos y técnicas de investigación secuencial, en los que se combinan elementos de diseño experimental y de regresión (Box y Draper, 1987).

Una parte importante de esta metodología es el análisis de los modelos polinómicos de segundo grado. El formalismo de la ley potencial puede verse como un modelo polinómico de primer grado (si consideramos la transformación de las variables implicadas), y por tanto, susceptible de ser ampliado a un modelo de segundo grado. Este es el contenido del *segundo capítulo*. En él, se desarrolla el formalismo de segundo grado y se presentan las aportaciones que este tipo de formulación puede representar en el contexto de la BST.

El desarrollo del formalismo de segundo grado, implica la necesidad de disponer de herramientas apropiadas para su análisis y la subsiguiente ampliación de su campo de aplicación. Con este objetivo se ha comenzado a desarrollar un paquete de *software* que se ha denominado *SPL2*. El *tercer capítulo* está dedicado a la presentación de este programa. En él, un punto adicional de interés, es la introducción de la programación orientada a objetos y su aplicación al estudio de los sistemas bioquímicos.

Finalmente, en el *cuarto capítulo* se consideran los principios que, desde un punto de vista estadístico, deberían estar presentes en la BST y mas concretamente en relación con el formalismo de la ley potencial. En este sentido, el campo de investigación es amplio, pues hasta ahora no ha sido considerado en absoluto. Es por tanto necesario, establecer un punto de partida para el desarrollo de la BST de acuerdo con una orientación mas empírica y asumiendo que las bases teóricas, hoy por hoy, están suficientemente consolidadas.



Capítulo 1

Introducción a la Teoría de los Sistemas Bioquímicos

1.1. Introducción

1.1.1 Perspectiva histórica de la Teoría de los Sistemas Bioquímicos

La Teoría de los Sistemas Bioquímicos (BST) se comenzó a desarrollar a partir de los trabajos de Michael A. Savageau¹ publicados en 1969. Inicialmente, se trataba de caracterizar los sistemas multienzimáticos mediante un formalismo que, evitando la complejidad matemática intrínseca de los modelos clásicos que describen la cinética enzimática, permitiera reflejar las principales pautas de comportamiento no lineal que caracterizan a estos sistemas. No obstante, a medida que se iban consolidando sus principios, el campo de aplicación de esta teoría se ha extendido a una diversidad de sistemas biológicos en consonancia con las propuestas realizadas desde la Teoría General de Sistemas.

Los inicios de la BST se rigen por las analogías entre los procesos metabólicos y los sistemas de control electrónico o mecánico, tal y como sugería Higgins (1965), de manera que los principios metodológicos de esta teoría son tomados del consolidado campo de la ingeniería electrónica. Básicamente el problema es el mismo si se contemplan los cambios en la concentración de los metabolitos intermediarios como *señales biológicas* susceptibles de transmitirse a través de la compleja red metabólica (Savageau, 1971b).

Sin embargo, los mayores avances en la ingeniería de los sistemas de control electrónico se basan en el comportamiento lineal de sus componentes, al menos en un margen suficientemente amplio de variación. Este comportamiento lineal, ya sea intrínseco o mediante aproximaciones basadas en desarrollos en serie de Taylor de primer grado, ha permitido utilizar técnicas matemáticas potentes (entiéndase álgebra lineal, teoría de ecuaciones diferenciales lineales, etc.) para llevar a cabo el análisis, diseño y evaluación de los sistemas de control.

De forma simultánea a los primeros trabajos de Savageau, en el contexto de la incipiente BST, otros autores tratan de aplicar los principios desarrollados en el campo de la ingeniería a los sistemas de control metabólico (e.g. Walter, 1972). Sin embargo, la linealización de los procesos participantes no permite tener en cuenta cuestiones importantes, como la saturación enzimática o la interacción entre efectores, que son propias de los sistemas bioquímicos. Por otra parte, la caracterización del sistema mediante el uso de los modelos mecanicistas, establecidos desde principios de siglo a partir de la formulación de Henri-Michaelis-Menten, da lugar a modelos excesivamente complejos cuando se trata de representar a un sistema con cierto número de componentes.

¹ Departamento de Microbiología e Inmunología de la Escuela Médica de la Universidad de Michigan. Ann Arbor. Michigan. USA.

La observación de la forma matemática de estos modelos mecanicistas llevó a Savageau a considerar su simplificación, vía aproximación lineal, pero realizando previamente la transformación logarítmica tanto de la función que describe el proceso como de las variables que intervienen. El modelo resultante da lugar, al expresarlo en coordenadas cartesianas, a un producto de funciones potenciales que, en principio, son capaces de reflejar el comportamiento no lineal propio de los sistemas enzimáticos (Savageau, 1969a,b).

Al procedimiento que lleva a la obtención de este producto de funciones potenciales se vendrá a denominar *formalismo de la ley potencial*¹ (Savageau, 1969b) y va a constituir la base sobre la que se elabora la BST. Según este formalismo, la variación neta en el tiempo de una cantidad x_i , perteneciente a un sistema constituido por n cantidades x_1, \dots, x_n , viene dada por la diferencia entre dos términos, uno que expresa su producción y otro su consumo, de acuerdo con la expresión:

$$\dot{x}_i = \alpha_i \prod_{j=1}^n x_j^{g_{ij}} - \beta_i \prod_{j=1}^n x_j^{h_{ij}} ; \quad i = 1, \dots, n \quad (1.1.1)$$

en donde $\dot{x}_i = dx_i / dt$ y los demás elementos que aparecen en ella son parámetros que, obtenidos a partir del desarrollo en serie, dan cuenta de los aspectos moleculares del sistema.

En el contexto de la BST, la expresión (1.1.1) constituye la *forma fundamental* de representar un sistema complejo (Savageau & Voit, 1987). Esta forma fundamental, resulta muy conveniente para describir el comportamiento dinámico del sistema, ya que, como aproximación, es más exacta que la lineal, capta las pautas de comportamiento no lineal en el rango en que es válida y permite representar, de forma explícita, los valores correspondientes al estado estacionario del sistema según métodos propios del álgebra lineal (Savageau, 1969b). Por otra parte, si bien el sistema dinámico descrito por la expresión (1.1.1) no tiene una solución general analítica, la constancia de su estructura permite realizar de forma eficiente la implementación de métodos numéricos de integración (Savageau, 1970, 1976; Irvine & Savageau, 1990).

La inspiración en los sistemas de control electrónico, sigue estando presente al formalizar los criterios que sirven como base para caracterizar las propiedades de conjunto de los sistemas bioquímicos. Estos criterios son: **(1)** la *sensibilidad paramétrica*, definida como el cambio relativo en una magnitud del sistema como consecuencia de un cambio producido en un parámetro interno del mismo (Savageau, 1971a), y **(2)** la *ganancia logarítmica* o *amplificación*, que se define como el cambio relativo en el valor estacionario de alguna variable sistémica como consecuencia de un cambio producido en una “señal de entrada” al mismo, esto es, un cambio en el ambiente en el que está inmerso (Savageau,

¹ *Power-law formalism* en la literatura original.

1971b). Ambas magnitudes son adimensionales y se calculan según expresiones del tipo:

$$\frac{\partial \phi / \phi}{\partial \theta / \theta}$$

en donde ϕ es la magnitud que cambia como consecuencia de la variación producida en otra magnitud θ . Como se verá, la consideración de estos cambios fraccionales va a ser fundamental en el análisis de los sistemas bioquímicos, pero no solo desde el punto de vista de la BST, sino que otras corrientes, como la Teoría del Control Metabólico (MCT) o la del Flujo Orientado (FOT), basarán su desarrollo en coeficientes obtenidos mediante este tipo de expresiones. Es conveniente puntualizar aquí, que estos cambios fraccionales se han venido contemplando en disciplinas mas diversas, como la Sociología (véase Aracil, 1986), o la Economía (e.g. Martín Pliego, 1987) y que, como apunta Savageau (1976; pág. 156) se relacionan con teorías mas generales relativas a la estabilidad estructural de los sistemas dinámicos (véanse Thom, 1975 y Cruz, 1973).

La capacidad de expresar explícitamente la solución de estado estacionario del sistema dinámico representado por (1.1.1), es fundamental en el subsiguiente desarrollo de la teoría, puesto que permite disponer de los criterios adecuados para analizar las posibles estrategias de control que pueden tener lugar en los sistemas multienzimáticos. Este análisis se realiza fundamentalmente, a partir de abstracciones de los procesos de control, y mediante comparaciones entre los diseños alternativos. La validez de los resultados obtenidos a partir de las comparaciones depende del grado de homogeneidad en que estas se realicen. Para garantizar esta homogeneidad, se introduce el concepto de *equivalencia externa* entre sistemas: dos sistemas son externamente equivalentes si son *intercambiables* en términos del efecto que ejercen en el organismo en el que están inmersos (Savageau, 1972; 1976). La equivalencia externa no requiere necesariamente de la *equivalencia interna*, que se refiere a la identidad entre todos los componentes de los sistemas en cuestión. Formalmente, la equivalencia externa se establece sobre la base de los criterios presentados anteriormente: la ganancia logarítmica y la sensibilidad paramétrica (Savageau, 1976).

La organización de todos estos conceptos y técnicas basados en el formalismo de la ley potencial, lleva a considerar a este nuevo enfoque de los sistemas bioquímicos como algo mas que un simple método de análisis, esto es, una incipiente teoría formal. Para Savageau (1972), tal teoría es necesaria para cubrir la falta de criterios que permitan evaluar y comparar sistemas bioquímicos, y debe

- proporcionar conceptos bien definidos útiles como criterios de comparación
- suministrar técnicas matemáticas precisas que permitan discriminar entre dos sistemas en base a los criterios establecidos

El principal desarrollo de la BST se hace desde un punto de vista abstracto: se analizan formas alternativas de control de procesos bioquímicos genéricos y se comparan bajo los principios desarrollados en la teoría (p.e. Savageau, 1972; 1974a,b; 1975; 1976). Sin embargo, al final de la década de los años 80, comienza a considerarse la proyección de la teoría a la representación de sistemas metabólicos concretos (Savageau y Voit, 1987a,b; Voit y Savageau, 1987; Shiraishi y Savageau, 1992a-d; Ni y Savageau, 1996a,b; Torres *et al.*, 1996; Curto *et al.* 1997).

1.1.2 Convenios sobre la notación

Durante el desarrollo de la BST la notación utilizada ha sufrido pocos cambios, aunque siempre es posible encontrar algunas variaciones. En este apartado, se va a establecer dicha notación al tiempo que se revisan algunos conceptos que, aunque puedan aparecer intuitivamente claros, es preciso definir con el fin de evitar posibles ambigüedades.

Si bien algunos de estos conceptos son definidos explícitamente en el marco de la BST, otros son asumidos de forma tácita, dada su conexión con otras disciplinas (como la teoría del control electrónico, la de sistemas dinámicos, etc.). Nos remitiremos en esas ocasiones a definiciones foráneas, intentando siempre representar la filosofía en que dichos términos aparecen en la BST.

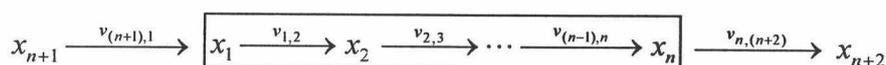
a) Flujos. Un sistema metabólico lineal (o secuencial) viene dado como una sucesión de reacciones enzimáticas en donde cada intermediario actúa, exclusivamente, como producto de una sola reacción y como sustrato de otra (figura 1.1.1a). En un sistema de este tipo v_{ij} representa al flujo desde x_i a x_j y v_{ji} al flujo inverso. Cuando varios procesos inciden en un mismo tipo de intermediario metabólico, se dice que la ruta es *ramificada*. En el caso en que se den reacciones paralelas entre dos *pools*¹ metabólicos se utiliza un tercer subíndice para distinguirlas (figura 1.1.1b).

Cuando se dan varios sustratos y productos en una misma reacción, la identificación de la etapa se hace utilizando sistemáticamente los subíndices más bajos de los sustratos y productos (Ni y Savageau, 1996).

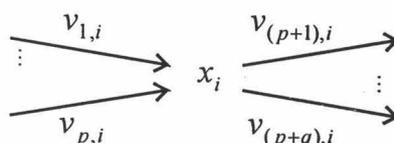
Otra situación que puede presentarse es que varias reacciones se agreguen en un solo proceso. En tal caso se utiliza la notación V_i y V_{-i} para designar respectivamente al proceso total de influjo y al de eflujo que tienen lugar respecto a x_i .

¹ El término *pool* es un anglicismo aceptado en la literatura bioquímica en castellano. Se utiliza para designar a un conjunto de metabolitos (normalmente de la misma especie) cuya agrupación responde a algún criterio funcional o estructural.

b) *Variables*. Conceptualmente, las variables independientes son contempladas como aquellas que son determinadas por factores externos al sistema de interés¹ (Savageau et al 1987b). Desde un punto de vista empírico, las variables independientes son aquellas que pueden ser fijadas o modificadas experimentalmente (Savageau, 1976).



(a)



(b)

Figura 1.1.1.- Dos ejemplos de esquemas metabólicos

Además de las variables dependientes e independientes, un tercer tipo de variables es el que viene definido por relaciones funcionales entre las anteriores (normalmente entre las dependientes). Estas variables se llamarán *agregadas* si representan alguna magnitud de interés del sistema (Savageau, 1979a,b), o *auxiliares* si su introducción responde criterios técnicos orientados a representar ciertas relaciones no lineales (*recasting*, véase Savageau y Voit, 1987)

En adelante se mantendrá la siguiente notación respecto a los subíndices:

$$\underbrace{x_1, \dots, x_n}_n \text{ Variables dependientes}, \underbrace{x_{n+1}, \dots, x_{n+m}}_m \text{ Variables independientes}, \underbrace{x_{n+m+1}, \dots, x_{n+m+p}}_p \text{ Variables agregadas o auxiliares}$$

¹ Queda por concretar si pueden estar afectadas por el funcionamiento del propio sistema.

Describir el *comportamiento del sistema* significa predecir los valores de las variables dependientes en función del conocimiento de las variables independientes y de los parámetros del sistema

c) **Parámetros:** los parámetros (cantidades fijas) deben ser contemplados como valores determinados física o genéticamente (Savageau et al 1987a). La distinción entre parámetros y variables debe ser siempre clara. Una determinada cantidad puede, bajo ciertas circunstancias, ser considerada un parámetro (valor constante que caracteriza al sistema) y bajo otras una variable del sistema (lo que supone un término más en el desarrollo de Taylor, con todo lo que esto implica) o una variable independiente, por ejemplo la temperatura en ciertas reacciones fuertemente exotérmicas puede considerarse, de forma más apropiada, una variable dependiente (Sorribas y Savageau, 1989a).

1.2. El formalismo de la ley potencial

1.2.1 Desarrollo

La observación de que las leyes de velocidad de la mayoría de las reacciones biológicas se expresan en términos de un cociente de polinomios es fundamental en el desarrollo de la BST.

Savageau, basándose en los postulados y propiedades de la cinética de las reacciones enzimáticas (véase Savageau, 1976; Segel, 1993) sugiere que la forma general de la ley de velocidad, cuando esta se considera respecto a la concentración de un único reactivo x , viene dada por (Savageau, 1969a):

$$v = \frac{a_0 x^m + a_1 x^{m-1} + \dots + a_{m-1} x + a_m}{b_0 x^n + b_1 x^{n-1} + \dots + b_{n-1} x + b_n} \quad (1.2.1)$$

en donde x puede ser, indistintamente, un substrato, un producto o un efector de la reacción, y los coeficientes a_i y b_j son números reales.

De forma análoga al tratamiento de las funciones de transferencia propias de la ingeniería electrónica, este cociente de polinomios puede ser expresado de forma factorizada como

$$v = \frac{\alpha_0 \prod_{i=1}^m (x + \alpha_i)}{\beta_0 \prod_{j=1}^n (x + \beta_j)} \quad (1.2.2)$$

Asumiendo que la reacción se lleva a cabo de forma unidireccional, en el sentido de que $v > 0$, la expresión anterior resulta al tomar logaritmos:

$$\ln v = \ln(\alpha_0/\beta_0) + \sum_{i=1}^m \ln(x + \alpha_i) - \sum_{j=1}^n \ln(x + \beta_j) \quad (1.2.3)$$

En consecuencia, la ley de velocidad, al venir dada como una razón de funciones polinómicas, da lugar a una serie de segmentos lineales cuando es representada en coordenadas logarítmicas respecto a los valores de la variable independiente (Savageau, 1969a; véase el apéndice A de Savageau, 1976).

En un intento de caracterizar de un modo general la forma de las leyes de velocidad de las reacciones catalizadas enzimáticamente, Savageau propone el uso de los diagramas de Bode, que tomados nuevamente de la ingeniería

electrónica, utilizan la factorización y transformación descritas para determinar un conjunto de segmentos lineales que describen asintóticamente el comportamiento de la función (por ejemplo, véase el cap. 7 de Dorf, 1989). Si bien este método ha tenido escasa difusión, el aspecto mas interesante que se desprende de su consideración, es el hecho de que las leyes de velocidad, al representarlas en un espacio doble logarítmico (i.e.: $\ln v(x)$ vs $\ln x$) se comportan de forma lineal en tramos muy amplios de su recorrido. Esta observación, es la que condujo a Savageau a considerar las ventajas de una aproximación lineal a la ley de velocidad en coordenadas logarítmicas mejor que cartesianas (Savageau, 1969b).

Conocida la forma de $v(x)$, la aproximación lineal de su logaritmo en un punto $x=x_0$ se obtiene según el polinomio de Taylor

$$T_1(\ln v(x))_{x=x_0} = \ln v(x_0) + \left. \frac{d \ln v(x)}{d \ln x} \right|_{x=x_0} (\ln x - \ln x_0) \quad (1.2.4)$$

en donde

$$T_1(\ln v(x))_{x=x_0}$$

representa al operador lineal de Taylor aplicado sobre la función $\ln v(x)$ y utilizando como centro de aproximación $x=x_0$ (véase Apostol, 1989). Definiendo los términos

$$g = \left. \frac{d \ln v(x)}{d \ln x} \right|_{x=x_0} \quad (1.2.5)$$

$$\ln \alpha = \ln v(x_0) - \left. \frac{d \ln v(x)}{d \ln x} \right|_{x=x_0} \ln x_0$$

se obtiene:

$$T_1(\ln v(x))_{x=x_0} = \ln \alpha + g \ln x, \quad (1.2.6)$$

de manera que en coordenadas cartesianas, la ley de velocidad queda aproximada según una función potencial de parámetros α y g :

$$v(x) \approx \alpha x^g. \quad (1.2.7)$$

Esta expresión es similar a la ley de velocidad que describe la cinética de reacciones químicas elementales (véase Savageau 1976, capítulo 2), por lo que α fue denominada *constante aparente de velocidad* y g es el *orden cinético*

aparente (Savageau, 1969b; véase también Savageau 1974; 1976; y Shiraishi y Savageau, 1992a). Por ejemplo, la aproximación a la ley de velocidad descrita por la ecuación de Michaelis-Menten

$$v = \frac{V_{max}x}{k_m + x} \quad (1.2.8)$$

en un punto $x = x_0$, viene determinada por los parámetros:

$$\alpha = \frac{v(x_0)}{x_0^g}; \quad g = \frac{k_m}{k_m + x_0}. \quad (1.2.9)$$

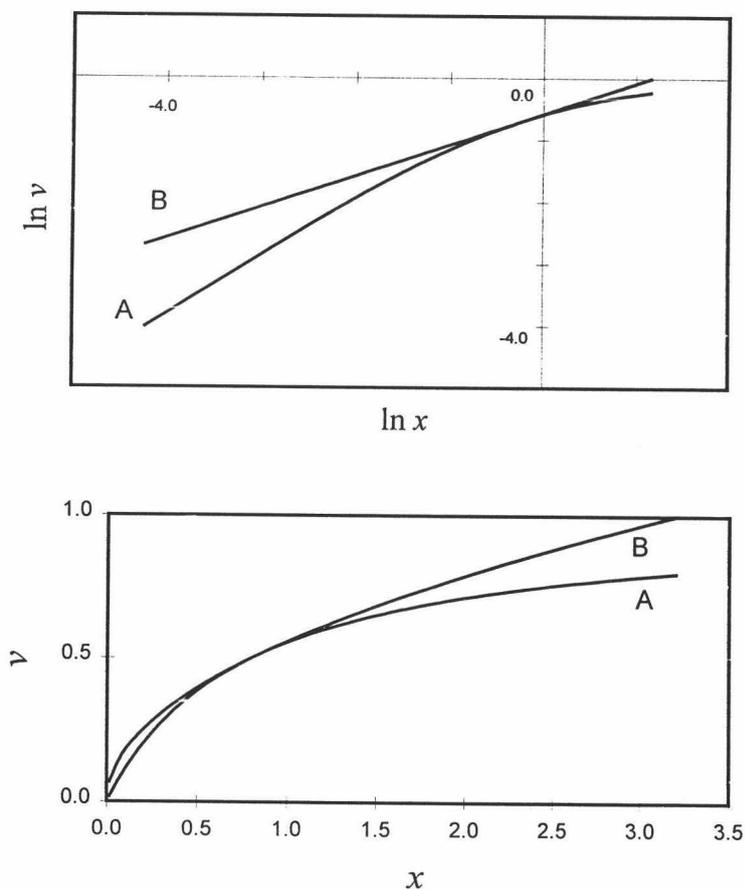


Figura 1.2.1: Curva de saturación hiperbólica según la formulación clásica de Michaelis-Menten (A) y su aproximación potencial (B) en coordenadas logarítmicas (representación superior) y cartesianas (representación inferior). Los parámetros cinéticos utilizados son $V_{max} = 1$ y $k_m = 0.8$. La aproximación potencial se lleva a cabo sobre el punto $x_0 = k_m$, resultando $\alpha = 0.5590$ y $g = 0.5$.

La generalización al caso en que v es función de la concentración de varios metabolitos, es inmediata a partir del desarrollo en serie de Taylor para una función de n variables. Así, si $v = v(x_1, \dots, x_n)$, la aproximación lineal a $\ln v$ en términos de los $\ln x_i$, viene dada por

$$T_1(\ln v(\mathbf{x}))_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0} = \ln v(\mathbf{x}_0) + \sum_{i=1}^n \left. \frac{\partial \ln v(\mathbf{x})}{\partial \ln x_i} \right|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0} (\ln x_i - \ln x_{i_0}) \quad (1.2.10)$$

en donde \mathbf{x} y \mathbf{x}_0 representan, en notación vectorial, al conjunto de variables implicadas, x_1, \dots, x_n , y al centro de la aproximación respectivamente.

Siguiendo un planteamiento análogo al descrito para una sola variable, la expresión anterior se puede escribir

$$T_1(\ln v(\mathbf{x}))_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0} = \ln \alpha + \sum_{i=1}^n g_i \ln x_i, \quad (1.2.11)$$

de modo que en coordenadas cartesianas se obtiene el producto de funciones potenciales de acuerdo con la expresión:

$$v \approx \alpha \prod_{i=1}^n x_i^{g_i}. \quad (1.2.12)$$

1.2.2. Representación de un sistema bioquímico

Si se hace uso de una función potencial para aproximar, separadamente, las velocidades de síntesis y de consumo de una sustancia x_i , el proceso global

$$\dot{x}_i = v_i(x_1, \dots, x_n) - v_{-i}(x_1, \dots, x_n) \quad (1.2.13)$$

queda descrito mediante la expresión

$$\dot{x}_i = \alpha \prod_{j=1}^n x_j^{g_{ij}} - \beta \prod_{j=1}^n x_j^{h_{ij}} \quad (1.2.14)$$

en donde

$$\alpha \prod_{j=1}^n x_j^{g_{ij}} \approx v_i(x_1, \dots, x_n) \quad (1.2.15)$$

$$\beta \prod_{j=1}^n x_j^{h_{ij}} \approx v_{-i}(x_1, \dots, x_n) \quad (1.2.16)$$

representan a los procesos de síntesis y de consumo de x_i respectivamente. Los parámetros α y β tienen el mismo significado: son las *constantes cinéticas aparentes* de cada proceso. Análogamente, cada g_{ij} y h_{ij} se interpreta como el *orden cinético aparente* con respecto a la variable x_j para la síntesis o el consumo respectivamente.

En estos términos, la caracterización de un sistema de n variables resulta inmediata y viene dada por el sistema de ecuaciones diferenciales no lineales

$$\dot{x}_i = \alpha_i \prod_{j=1}^n x_j^{g_{ij}} - \beta_i \prod_{j=1}^n x_j^{h_{ij}} ; \quad i = 1, \dots, n \quad (1.2.17)$$

Es frecuente el caso en que la ley que rige el consumo de una substancia coincide con la que rige la producción de otra. En tal situación se puede utilizar indistintamente la notación basada en los símbolos α y g o β y h para designar a los parámetros, aunque es más utilizada la segunda alternativa (cf. Savageau, 1976).

1.3 Caracterización de los componentes del sistema

1.3.1. Descripción de las propiedades locales

La caracterización de los elementos constituyentes del sistema se establece en base a los principios del formalismo de la ley potencial (e.g. Savageau, 1976; 1985a,b). En consecuencia, hay dos tipos de parámetros relevantes en la descripción de un *proceso* bioquímico: la *constante aparente de velocidad* α (o β) y el *orden cinético aparente* g (o h).

Si bien la *constante aparente de velocidad* (CAV) contempla normalmente aspectos moleculares relacionados con la actividad enzimática (Savageau, 1976; Savageau y Sorribas, 1989), los *órdenes cinéticos aparentes* contemplan el efecto de cada intermediario sobre el proceso en el que intervienen, y por extensión, sobre el proceso total .

En el contexto de la cinética química elemental, el orden cinético de una reacción con respecto a una especie viene dado por la potencia a la cual se eleva la concentración de dicha especie en la ecuación de velocidad (e.g. Savageau, 1976). Normalmente, en una situación *in vitro*, donde los estudios cinéticos se llevan a cabo sobre un volumen tridimensional en el cual la solución es homogénea, los órdenes cinéticos son valores enteros positivos. Sin embargo, las reacciones *in vivo* tienen lugar, sobre todo, en el seno de estructuras macromoleculares como membranas o canales. En estos casos, en que la dimensión espacial se ve reducida y el medio no es homogéneo, los órdenes cinéticos pueden ser números racionales con valores superiores al número de moléculas que entra a formar parte de la reacción (Shiraishi y Savageau, 1992a).

Los *órdenes cinéticos aparentes* (OCA) definidos en la BST se pueden considerar órdenes cinéticos en el sentido habitual de la cinética elemental, solo que no tienen por que tomar valores enteros positivos, pudiendo ser incluso números negativos, de modo que reflejarían la situación *in vivo* propuesta por Shiraishi y Savageau (op. cit.). Por poner un ejemplo, en el fenómeno de inhibición competitiva descrito por el modelo (Segel, 1975).

$$v = \frac{V_{max} x_1}{k_m \left(1 + \frac{x_2}{k_I} \right) + x_1},$$

cuando la concentración del sustrato (x_1) se aproxima al valor de k_m y la de inhibidor (x_2) al valor de k_I , los órdenes cinéticos aparentes respecto a cada una de estas especies son, respectivamente:

$$\frac{\partial \ln v}{\partial \ln x_1} = \frac{2}{3}; \quad \frac{\partial \ln v}{\partial \ln x_2} = -\frac{1}{3}.$$

1.3.2. Criterios para caracterizar las propiedades sistémicas

Por propiedad sistémica debe entenderse aquella propiedad de conjunto que solo puede ser observada en el sistema intacto, y no mediante el estudio aislado de sus partes (véase Bertalanffy, 1987; Savageau, 1976). Para Savageau, la caracterización de las propiedades sistémicas debe hacerse en base a criterios que cumplan, al menos de forma idealizada, los siguientes requisitos (Savageau, 1971a):

1. Deben ser criterios *cuantitativos*.
2. Deben ser *pertinentes*, en el sentido de que deben estar relacionados directamente con la función del sistema bajo estudio.
3. Deben ser *invariantes*, es decir, deben representar una propiedad intrínseca del sistema que relacione los cambios producidos en el seno del mismo, o de su entorno, con los correspondientes cambios en el comportamiento de dicho sistema. Pero tales relaciones no deben verse afectadas por la magnitud del cambio o por la forma particular en que dicho cambio se ha producido.

En la BST se definen dos tipos de criterios sobre los que basar la caracterización de las propiedades sistémicas: la *ganancia logarítmica* y la *sensibilidad paramétrica* (Savageau, 1971a,b; 1972; 1974; 1976).

1.3.2.1.- Ganancia logarítmica. El concepto de ganancia o amplificación es un término procedente de la teoría de circuitos (Bode, 1945), en base al cual se define la influencia de señales externas sobre las variables del sistema. En el contexto de los sistemas bioquímicos, la primera alusión a este concepto se debe a Levine (1966), quien la define como el cociente entre los niveles de las variables de salida respecto a los de entrada cuando el sistema se encuentra en estado estacionario. Savageau (1971b), que entiende que debe tratarse de un coeficiente adimensional, define la *ganancia logarítmica* como la variación relativa que experimentan las variables de salida como respuesta a un cambio porcentual en el nivel de las variables de entrada cuando el sistema se encuentra en estado estacionario:

$$L(x_i, x_k) = \frac{\partial \ln x_i}{\partial \ln x_k} = \frac{x_k}{x_i} \frac{\partial x_i}{\partial x_k}. \quad (1.3.1)$$

En este cociente x_k representa a una variable de entrada o independiente ($k=n+1, \dots, n+m$), x_i es una variable interna ($i=1, \dots, n$) y debe verificarse la condición de estado estacionario: $\dot{x}_i = 0$ ($i=1, \dots, n$). De acuerdo con la literatura original, se escribirá con frecuencia L_{ik} para referirse de forma abreviada a $L(x_i, x_k)$ e indistintamente \mathbf{L} o \mathbf{L}_x para referirse a la matriz de elementos L_{ik} .

De la definición anterior se deduce la relación:

$$\partial \ln x_i = L_{ik} \partial \ln x_k,$$

que pone de manifiesto la dependencia lineal entre la variación de la salida respecto a la variación de la entrada cuando las variables se representan en escala logarítmica. Evidencias empíricas de esta relación se pueden encontrar en Savageau, 1976 y las referencias citadas.

La ganancia también se puede definir respecto a las variables de flujo, de manera que el coeficiente

$$L(v_i, x_k) = \frac{\partial \ln v_i}{\partial \ln x_k} \quad (1.3.2)$$

expresa el cambio que sufre la etapa v_i en su velocidad de reacción como consecuencia de un cambio porcentual de la variable externa x_k . En adelante designaremos \mathbf{L}_v a la matriz de elementos $L(v_i, x_k)$, y reservaremos los símbolos \mathbf{L} y L_{ik} para representar respectivamente a la matriz \mathbf{L}_x y a sus elementos cuando esta notación no introduzca ambigüedad.

Una ganancia logarítmica con un valor superior a 1 indica una amplificación de la señal, mientras que si su magnitud es inferior a 1 supone una atenuación. Por otra parte, si la ganancia es positiva entonces el cambio que experimenta la variable dependiente se da en el mismo sentido que la variación de la variable independiente, mientras que si es negativa, la respuesta se da en sentido contrario (Savageau, 1972).

La influencia *total* del entorno sobre una variable dependiente del sistema, ya sea de concentración o de flujo, viene dada por la suma del valor absoluto de las influencias de todas las variables (Shiraishi y Savageau, 1992c; Ni y Savageau, 1996):

$$\sum_k |L(x_i, x_k)|$$

$$\sum_k |L(v_i, x_k)| \quad (1.3.3)$$

1.3.2.2.- Sensibilidad paramétrica. El concepto de *sensibilidad paramétrica*, tomado de la *teoría de la sensibilidad* (Savageau, 1972; 1974; 1976; Cruz, 1975), surge ante la necesidad de establecer un criterio que permita evaluar la capacidad de un sistema para amortiguar la concentración del producto final frente a cambios que se produzcan en el propio sistema (Savageau, 1971).

La sensibilidad de una variable dependiente del sistema, digamos genéricamente ξ , frente a un cambio en un parámetro del mismo, genéricamente θ , se define según la expresión (Savageau, 1971a):

$$S(\xi, \theta) = \frac{\partial \ln \xi}{\partial \ln \theta} = \frac{\theta}{\xi} \frac{\partial \xi}{\partial \theta}. \quad (1.3.4)$$

La magnitud y el signo de este coeficiente se interpretan de forma análoga a como se hizo con la ganancia logarítmica: valores absolutos superiores a 1 indican una amplificación del cambio mientras que valores inferiores suponen su amortiguación; así mismo, un valor positivo implica un paralelismo en el sentido de los cambios mientras que un valor negativo supone una variación de la variable sistémica en sentido opuesto al cambio del parámetro (Savageau, 1972).

Estos cambios en los parámetros internos del sistema se pueden deber a diferentes causas, por ejemplo, cambios físicos en el ambiente, mutaciones, errores de traducción o transcripción, etc. (e.g. Savageau, 1974a; 1976). En este sentido, una minimización de la sensibilidad paramétrica ha resultado ser un criterio eficaz para basar la forma en que la evolución selecciona un mecanismo de control frente a diseños alternativos (Savageau, 1976).

Según la expresión (1.3.4), en el contexto de la BST, se pueden definir cuatro tipos de coeficientes de sensibilidad:

- Sensibilidad de las concentraciones a las constantes de velocidad: $S(x, \alpha)$ y $S(x, \beta)$
- Sensibilidad de las concentraciones a los órdenes cinéticos aparentes: $S(x, g)$ y $S(x, h)$
- Sensibilidad de los flujos a las constantes de velocidad: $S(V, \alpha)$ y $S(V, \beta)$
- Sensibilidad de los flujos a los órdenes cinéticos aparentes: $S(V, g)$ y $S(V, h)$

La influencia *total* del conjunto de parámetros θ_k que definen el sistema sobre una variable dependiente del mismo ξ_i , viene dada por la suma del valor absoluto de las influencias de todos los parámetros (Shiraishi y Savageau, 1992b,c):

$$\sum_k |S(\xi_i, \theta_k)| \quad (1.3.5)$$

El análisis de la sensibilidad no solo es útil como criterio para caracterizar las propiedades sistémicas, sino que también presenta un gran valor para diagnosticar la validez del modelo. Desde un punto de vista experimental, el estudio de la sensibilidad permite detectar qué valores deben ser estimados con mas precaución (Sorribas y Savageau, 1989c). Por otra parte, la sensibilidad paramétrica sirve como base para comparar entre modelos alternativos obtenidos según diferentes estrategias de modelización: será mas robusto aquel modelo que presente sensibilidades de magnitud mas baja (Sorribas y Savageau, 1989c; Shiraishi y Savageau, 1992c).



1.4. Representaciones alternativas basadas en el formalismo de la ley potencial

La jerarquía intrínseca de los sistemas naturales permite la posibilidad de aplicar el formalismo de la ley potencial a diferentes niveles. La filosofía subyacente es la idea de *simplificación temporal* en el sentido dado por Waddington (1969), Levins (1969) o Savageau (1976). Según este principio, un cambio de nivel jerárquico supone un cambio de la escala temporal, de modo que procesos que a un determinado nivel presentan una dinámica relevante, a un nivel superior transcurren tan rápidos que su apariencia es la de mantenerse constantes por permanecer en un estado estacionario o cuasi estacionario. La retención en el modelo de solo aquellos fenómenos que sean *temporalmente dominantes*, de realización mas lenta, permite reducir la complejidad de descripción del sistema (Savageau, 1979a).

Sin embargo, ésta no es la única estrategia para simplificar la descripción a un nivel dado. Cuando diferentes procesos concurren en un punto común, la dinámica del conjunto se puede caracterizar bien a partir de la representación individual de cada etapa, o bien considerando al agregado constituido por todas ellas.

Savageau *et al.* reconocen, en principio, cuatro niveles de descripción donde los procesos que tienen lugar son susceptibles de ser representados mediante el formalismo de la ley potencial:

- a. Nivel de la cinética química elemental (Savageau, 1976; cap. 3).
- b. Descripción de las reacciones catalizadas enzimáticamente (Savageau, 1969a,b; 1976).
- c. Nivel de procesos fisiológicos (Savageau, 1979a,b; Irvine y Savageau, 1985c,d).
- d. Nivel de la dinámica de poblaciones (Savageau & Voit, 1982a,b,c; Voit y Savageau, 1986).

La necesidad de reducir la complejidad de descripción; basándose en la dimensión temporal, es mas evidente en la medida en que se avanza desde el nivel mas elemental al mas complejo. Pero el aumento de complejidad, también permite llevar a cabo estrategias de agregación que pueden ser muy relevantes a la hora de disponer de un modelo eficiente, en el sentido de su tratabilidad matemática y la capacidad de poder interpretarlo objetivamente.

1.4.1. Agregación de procesos elementales

Supongamos un sistema metabólico como el de la figura (1.4.1), constituido por n variables dependientes y m independientes. Conforme a la notación introducida anteriormente, v_{ji} representa al influjo sobre x_i desde x_j , mientras que v_{ij} es el eflujo desde x_j sobre x_i . En este esquema no se considera la posibilidad de que se den varias reacciones paralelas en el mismo sentido entre dos metabolitos. Para hacerlo, basta con incluir un subíndice adicional que permita discriminar entre estos procesos (véase Sorribas y Savageau, 1989c).

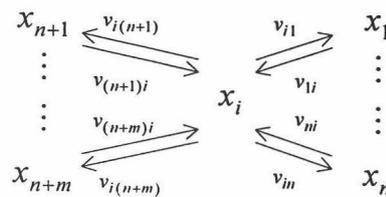


Figura 1.4.1

La aplicación de las leyes de Kirchhoff permite establecer la expresión que describe el cambio neto de cada x_i :

$$\dot{x}_i = \sum_{j=1}^{n+m} \gamma_{ji} v_{ji} - \sum_{j=1}^{n+m} \gamma_{ij} v_{ij}; \quad (i=1, \dots, n) \quad (1.4.1)$$

en donde los elementos γ_{ij} representan al coeficiente estequiométrico de la reacción v_{ij} (c.f. con Savageau, 1976). Sin pérdida de la generalidad, podemos simplificar la expresión anterior considerando a todos estos coeficientes unitarios, de manera que expresaremos el cambio neto de x_i como:

$$\dot{x}_i = \sum_{j=1}^{n+m} v_{ji} - \sum_{j=1}^{n+m} v_{ij}; \quad (i=1, \dots, n) \quad (1.4.2)$$

Consideraremos que no hay ninguna restricción sobre la forma de cada etapa v , de modo que, en general, cada una de ellas se puede expresar como una función de todas las variables de concentración del sistema, es decir:

$$\begin{aligned} v_{ji} &= v(x_1, \dots, x_{n+m}) \\ v_{ij} &= v(x_1, \dots, x_{n+m}) \end{aligned} \quad (1.4.3)$$

1.4. Representaciones alternativas basadas en el formalismo de la ley potencial

con $i = 1, \dots, n$ y $j = 1, \dots, n+m$.

A partir de aquí, el formalismo de la ley potencial se puede aplicar de tres formas alternativas en función de cómo se consideren los flujos netos sobre x_i :

1. **Sin agregación.** En este caso, no hay distinción entre flujos elementales y flujos netos. Cada etapa individual v_{ji} es considerada un flujo sobre x_i , de modo que la sustitución de v por V es trivial y solo supone un cambio de notación:

$$\begin{array}{cc} \underline{\text{Influjos sobre } x_i} & \underline{\text{Eflujos desde } x_i} \\ V_{i,1} = v_{1i} & V_{-i,1} = v_{i1} \\ \vdots & \vdots \\ V_{i,(n+m)} = v_{(n+m)i} & V_{-i,(n+m)} = v_{(n+m)i} \end{array}$$

La aplicación del formalismo de la ley potencial sobre cada V se hace según el esquema:

$$\begin{array}{cc} \underline{\text{Influjos sobre } x_i} & \underline{\text{Eflujos desde } x_i} \\ V_{i,j} \cong \alpha_{ij} \prod_{k=1}^{n+m} x_k^{g_{ijk}} & V_{-i,j} \cong \beta_{ij} \prod_{k=1}^{n+m} x_k^{h_{ijk}} \\ j = 1, \dots, n+m & j = 1, \dots, n+m \end{array}$$

de forma que la variación neta de x_i viene dada por

$$\dot{x}_i = \sum_{j=1}^{n+m} \alpha_{ij} \prod_{k=1}^{n+m} x_k^{g_{ijk}} - \sum_{j=1}^{n+m} \beta_{ij} \prod_{k=1}^{n+m} x_k^{h_{ijk}} \quad (1.4.4)$$

para cada $i=1, \dots, n$. En la BST, se denomina a esta representación *acción de masas generalizadas*, abreviadamente GMA. (Nota al pie: *Generalised mass action* en la literatura original).

2. **Agregación en des procesos.** Como se verá mas adelante, este nivel de agregación es el que mas ventajas ofrece a la hora de describir el comportamiento del sistema. Se trata de agregar las etapas elementales hasta obtener dos flujos netos para cada intermediario, un influjo V_i y un eflujo V_{-i} , de manera que la expresión (1.4.2) tome la forma:

$$\dot{x}_i = V_i - V_{-i}$$

para cada $i=1, \dots, n$. Sin embargo, cuando concurren varios procesos sobre un intermediario, la obtención de esta forma no es única, dado que cada reacción elemental v_{ij} se puede agregar arbitrariamente a V_i o a V_{-i} . Sorribas y Savageau (1989c), señalan las siguientes restricciones en este sentido: (1) cada término de la ecuación (1.4.2) debe ser asignado a uno y solo uno de los flujos netos; (2) a cada flujo neto se debe asignar al menos un término; y (3) los valores resultantes de V_i y V_{-i} deben ser positivos al referirlos al centro de la aproximación, es decir $V_i(x_{10}, \dots, x_{(m+n)0}) > 0$ y $V_{-i}(x_{10}, \dots, x_{(m+n)0}) > 0$. Cumpliendo con estas tres restricciones, el número de posibilidades para representar la variación de un intermediario x_i sobre el que inciden k_i procesos elementales es

$$2^{k_i-1} - 1$$

de manera que al considerar el conjunto de las n variables dependientes, se tiene un total de

$$N = \prod_{i=1}^n (2^{k_i-1} - 1)$$

representaciones posibles del sistema (Sorribas y Savageau, 1989c).

Consideremos el caso en que para cada intermediario x_i , todos los influjos elementales se agregan juntos en V_i y los eflujos en V_{-i} . Mediante esta estrategia, que observa las tres restricciones mencionadas, cada flujo neto viene dado por:

$$V_i = \sum_{j=1}^{n+m} v_{ji}$$

$$V_{-i} = \sum_{j=1}^{n+m} v_{ij}$$

Por tratarse de sumas de funciones racionales, V_i y V_{-i} aparecerán también como funciones racionales de las variables de concentración (Voit y Savageau, 1987a; Sorribas y Savageau, 1989c). La representación en términos del formalismo de la ley potencial de estos flujos netos se hace según el esquema:

$$\begin{array}{cc} \underline{\text{Influjo sobre } x_i} & \underline{\text{Eflujo desde } x_i} \\ \\ V_i \cong \alpha_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{g_{ij}} & V_{-i} \cong \beta_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{h_{ij}} \end{array}$$

de forma que la variación neta de cada x_i viene dada por

1.4. Representaciones alternativas basadas en el formalismo de la ley potencial

$$\dot{x}_i = \alpha_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{g_{ij}} - \beta_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{h_{ij}} \quad (1.4.6)$$

para cada $i=1, \dots, n$. A los sistemas de ecuaciones diferenciales con esta estructura se les conoce, en el ambiente de la BST, *sistemas S*. Etimológicamente, la denominación se debe a que este tipo de representación es capaz de reflejar la saturabilidad y el sinergismo que caracteriza a los sistemas complejos (Savageau, 1985a,b). En el apartado siguiente se analizará con detalle las posibilidades de análisis que ofrecen los sistemas S.

3. **Agregación en un solo proceso.** Este grado extremo de agregación consiste en reunir todos los términos de la ecuación (1.4.2) en una sola expresión final:

$$V_i = \sum_{j=1}^{n+m} v_{ji} - \sum_{j=1}^{n+m} v_{ij} \quad (1.4.7)$$

De este modo, la dinámica de cada uno de los metabolitos intermedios viene expresada en términos de su producción, si el balance neto resulta positivo, o de su consumo, si el balance es negativo. La expresión en términos del formalismo de la ley potencial será

$$\dot{x}_i = \begin{cases} \alpha_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{g_{ij}} & \text{si } V_i(x_{10}, \dots, x_{(m+n)0}) > 0 \\ -\beta_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{h_{ij}} & \text{si } V_i(x_{10}, \dots, x_{(m+n)0}) \leq 0 \end{cases}$$

En la literatura original se denomina a estos sistemas *Half systems* (Savageau y Voit, 1987d), y aunque allí no se hace de forma explícita, creemos coherente llamarlos en adelante *sistemas H*.

1.4.2. Comparación de las representaciones alternativas

Los sistemas S constituyen la forma de representación implícita a lo largo de todo el desarrollo de la BST. Salvo en ocasiones concretas en las que se ha aludido a las representaciones alternativas con fines eminentemente comparativos, todo el cuerpo de doctrina de la BST se elabora sobre la base de modelos dinámicos con estructura de sistema S.

El formalismo de la ley potencial, subyacente a los tres tipos de representación, proporciona una notación sistemática en donde los parámetros ofrecen un gran valor interpretativo. Por otra parte, este formalismo no requiere tener en consideración suposiciones restrictivas acerca de los procesos que tienen lugar, siendo inmediata la formalización del modelo. Sin embargo, las posibilidades que ofrezca el modelo dinámico obtenido vienen dadas por el tipo de agregación que se haya considerado.

Si bien la complejidad de descripción se reduce en la medida en que se aumenta el grado de agregación de los procesos elementales, la representación en forma de sistemas H es muy limitada a la hora de describir el comportamiento del sistema. Esta limitación viene dada por su incapacidad de reflejar la reversión del flujo neto, y por tanto, la de caracterizar estados estacionarios no nulos (Savageau y Voit, 1987d).

En el otro extremo del grado de agregación aparece la forma GMA, que permite caracterizar el comportamiento del sistema en torno a cualquier valor de estado estacionario. Sin embargo, la complejidad del modelo restringe sus posibilidades desde el punto de vista analítico, y en general, no se puede expresar el comportamiento del sistema de una forma explícita (Savageau, 1990).

La representación como sistema S sugiere una posición intermedia en cuanto al grado de complejidad de descripción. Sin embargo, su capacidad para caracterizar sistemas complejos, es mucho mayor de lo que cabría esperar de un simple compromiso intermedio entre los dos casos anteriores. A continuación se enumeran las principales ventajas que ofrece este tipo de representación, algunas de las cuales serán tratadas con detalle en apartados subsiguientes.

- Desde el punto de vista analítico, los sistemas S: permiten (1) establecer las condiciones para la existencia de una solución de estado estacionario (Savageau, 1976b); (2) expresar explícitamente dicha solución en caso de que exista (Savageau, 1969b; Savageau *et al.* 1987b); y (3) establecer las condiciones de estabilidad local del sistema (Savageau, 1976).
- Desde el punto de vista computacional, la estructura regular de los sistemas S permite el desarrollo de algoritmos específicos que ganen en eficiencia (Savageau, 1970; 1976). Por otra parte, el esfuerzo computacional necesario para integrar numéricamente un sistema S es mucho menor que la de un sistema GMA, que requiere de más cálculos en cada iteración (Savageau, 1990).
- Como aproximación, los sistemas S: (1) retienen las principales características no lineales del proceso al que representan (Savageau, 1969b; 1976); y (2) su calidad es mayor que en otras representaciones alternativas como la lineal o la GMA (Savageau, 1969b; Voit & Savageau, 1987a);

1.4. Representaciones alternativas basadas en el formalismo de la ley potencial

- Desde el punto de vista metodológico, los sistemas S: (1) permiten representar diferentes niveles jerárquicos manteniendo una estructura matemática constante (propiedad *telescópica*) (Savageau, 1979a,b; 1985a,b); (2) permiten, a partir de su estructura matemática rígida, establecer las bases para realizar comparaciones controladas entre diseños funcionales alternativos (Savageau, 1976).

Por otra parte, la principal limitación de este tipo de representación radica en la calidad de la ley potencial como función de aproximación (Savageau, 1990). Si bien su rango de validez es en general mejor que el del ajuste lineal, hay ocasiones (por ejemplo en cinéticas sigmoidales) donde la elección del centro de aproximación puede dar lugar a modelos menos adecuados (Voit y Savageau, 1987a). No obstante, la agregación de las reacciones individuales hasta conseguir dos flujos netos, parece jugar a favor de una mejora en la calidad de la aproximación (véase Voit y Savageau, 1987a).

Como forma de mejorar la exactitud de los sistemas S, Savageau et al. (1987d) sugieren dos posibilidades. La primera es recurrir a la aproximación por tramos. Pero esta alternativa no es muy sugerente por introducir un grado de complejidad que no se corresponde con la filosofía de la BST.

La otra alternativa es introducir variables y relaciones auxiliares que permitan reproducir las no linealidades del sistema. Mediante este proceso, denominado *recasting* en la literatura original, se pueden reconstruir de forma exacta ecuaciones diferenciales de estructura compleja bajo el aspecto de sistemas S. La idea es seguir un procedimiento análogo al que se realiza cuando una ecuación diferencial de orden n se expresa como un sistema de n ecuaciones diferenciales de primer orden (Savageau, 1985a).



1.5 Descripción de los sistemas bioquímicos sobre la base de los sistemas S

La formalización de los sistemas complejos como sistemas S es el elemento fundamental de la BST. Si bien las bases de este tipo de representación se han ido estableciendo a lo largo del proceso de consolidación de la teoría, su concepción está implícita desde el propio desarrollo del formalismo de la ley potencial.

Las principales ventajas de los sistemas S se han resumido en el apartado anterior. Sin embargo, también se puso allí de manifiesto que bajo esta denominación se da una multiplicidad de representaciones posibles en función de la estrategia de agregación utilizada. A continuación se presentan los criterios bajo los cuales es posible dar unicidad a lo que constituye la representación canónica de los sistemas complejos en el contexto de la BST.

1.5.1. Estrategias de agregación de flujos

Si bien dentro las directrices presentadas en el apartado anterior, es posible utilizar un elevado número de criterios de agregación que conduzcan a sistemas S formalmente distintos, dos de ellos son destacables por su menor arbitrariedad.

La estrategia principal, que en cierta medida, siempre ha estado implícita desde la concepción y durante el desarrollo de la BST, es aquella que agrega por una parte todos los influjos y por otra todos los eflujos relativos a un *pool* metabólico. Este procedimiento es el más natural y sistemático cuando, en el contexto de una metodología analítica, se contemplan leyes de velocidad irreversibles e independientes¹ entre sí. Sin embargo, cuando se tratan los procesos reversibles propios de las rutas anfibólicas, se presenta una disyuntiva: agregar aquellos flujos que se dan en el mismo sentido, o bien agregar los flujos que, por estar asociados a una misma enzima, muestran una dependencia intrínseca. Sorribas y Savageau (1989c) denominan a la primera alternativa *estrategia reversible* y a la segunda *estrategia irreversible*. Estas dos formas de agregación han sido comparadas (Sorribas y Savageau, 1989c) en base a los siguientes criterios:

1. Exactitud en predecir los valores de concentración del estado estacionario
2. Exactitud en predecir los valores de flujo en el estado estacionario

¹ En rigor, todas las etapas que forman parte de una cadena metabólica mantienen, de algún modo, una relación de dependencia. Sin embargo, el sentido que se quiere dar aquí al hablar de reacciones independientes, es que se trata de facetas o etapas conceptualmente diferentes, que responden a acciones enzimáticas distintas, y como tales son reproducibles de forma aislada *in vitro*. Por reacciones dependientes se entendería entonces a aquellas que son llevadas a cabo por una misma acción enzimática de manera que el hecho de que se de una u otra viene dado en función del equilibrio termodinámico que se mantenga entre especies implicadas.

3. Exactitud en predecir la respuesta transitoria entre dos estados
4. Robustez de la representación

Los tres primeros se establecen por comparación con el modelo descrito mediante la formulación tradicional de Michaelis-Menten. Si bien las dos estrategias son equivalentes en cuanto a la capacidad de predecir los valores del estado estacionario, la estrategia reversible es superior a la irreversible en su capacidad de representar los valores de las variables de flujo y de la respuesta transitoria (Sorribas y Savageau, 1989c).

La robustez de la representación se establece en base a la sensibilidad paramétrica, resultando superior la estrategia reversible por dar lugar a sensibilidades mas bajas (Sorribas y Savageau, 1989c; Shiraishi y Savageau, 1992b).

Tabla 1.5.1.- Agregación según la estrategia reversible respecto al esquema de la figura 1.5.1

<u>Estrategia reversible</u>	
Ecuaciones de balance	$\dot{x}_i = (v_{i-1,i} + v_{i+1,i}) - (v_{i,i-1} + v_{i,i+1}) \quad i=1,\dots,n$
Estrategia de agregación	$V_i^R = (v_{i-1,i} + v_{i+1,i}); \quad V_{-i}^R = (v_{i,i-1} + v_{i,i+1}) \quad i=1,\dots,n$
Sistema S	$\dot{x}_i = V_i^R - V_{-i}^R$ $\dot{x}_i = \alpha_i^R x_{i-1}^{g_{i-1}^R} x_i^{g_{i,j}^R} x_{i+1}^{g_{i+1}^R} - \beta_i^R x_{i-1}^{h_{i-1}^R} x_i^{h_{i,j}^R} x_{i+1}^{h_{i+1}^R} \quad i=1,\dots,n$
Flujo neto a través de x_i	$V_{neta}^R = V_i^R - V_{-i}^R$

1.5. Descripción de sistemas bioquímicos sobre la base de los sistemas S

Además, solo la estrategia reversible es capaz de representar la reversión del flujo que caracteriza a las rutas anfibólicas.

En los esquemas de las tablas 1.5.1 y 1.5.2 se resumen las etapas de formulación y las expresiones a las que dan lugar. Aunque en apariencia, la estrategia reversible de lugar a un mayor número de parámetros, no son todos independientes (véase Voit y Savageau, 1987a), de manera que el número de parámetros independientes es el mismo en las dos representaciones.

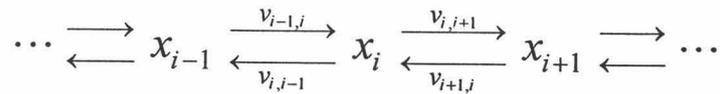


Figura 1.5.1.- Ruta anfibólica

Tabla 1.5.2.- Agregación según la estrategia irreversible respecto al esquema de la figura 1.5.1

<u>Estrategia irreversible</u>	
Ecuaciones de balance	
$\dot{x}_i = (v_{i-1,i} + v_{i,i-1}) - (v_{i,i+1} + v_{i+1,i})$	$i=1,\dots,n$
Estrategia de agregación	
$V_i^I = (v_{i-1,i} + v_{i,i-1}); \quad V_{-i}^I = (v_{i,i+1} + v_{i+1,i})$	$i=1,\dots,n$
Sistema S	
$\dot{x}_i = V_i^I - V_{-i}^I$	
$\dot{x}_i = \alpha_i^I x_{i-1}^{g_{i,j-1}^I} x_i^{g_{i,j}^I} - \beta_i^I x_i^{h_{i,j}^I} x_{i+1}^{h_{i,j+1}^I}$	$i=1,\dots,n$
Flujo neto a través de x_i	
$V_{neto}^I = V_{-i}^I$	

1.5.2. Agregación de variables

En la BST, el formalismo de la ley potencial esta presente, no solo para caracterizar las relaciones funcionales, sino que también es la forma de describir medidas agregadas.

Un agregado definido por

$$x_i = \sum_{j=1}^n a_{ij} x_j \quad i=m+n+1, \dots, p \quad (1.5.1)$$

se describe según el producto de funciones potenciales (Savageau, 1976; 1979a,b; 1985a,b)

$$x_k = \gamma_k \prod_{j=1}^n x_j^{f_{kj}} \quad k=m+n+1, \dots, p \quad (1.5.2)$$

Como reconoce explícitamente Savageau (1979a), la representación de una suma lineal como productos de funciones potenciales parece bastante atípico, puesto que lo habitual es operar en el sentido contrario y aproximar los productos mediante sumas. Sin embargo, la elección apropiada de los coeficientes de (1.5.2) permite realizar aproximaciones a (1.5.1) con una precisión elevada (Savageau, 1979a; un ejemplo aparece propuesto en Savageau, 1976).

En resumen, la representación canónica de un sistema dinámico en el contexto de la BST, viene dada mediante un sistema S obtenido de acuerdo con la estrategia reversible. Cuando es pertinente la definición de variables agregadas, esta también se basa en el formalismo de la ley potencial, de manera que el sistema es descrito por el conjunto de relaciones:

$$\dot{x}_i = \alpha_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{g_{ij}} - \beta_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{h_{ij}} ; \quad i = 1, \dots, n \quad (1.5.3a)$$

$$x_k = \gamma_k \prod_{j=1}^n x_j^{f_{kj}} ; \quad k=m+n+1, \dots, p \quad (1.5.3b)$$

1.5.3 Caracterización del estado estacionario

1.5.3.1. Solución explícita respecto a las variables de concentración. Considérese el sistema S de dimensión n :

$$\dot{x}_i = \alpha_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{g_{ij}} - \beta_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{h_{ij}} ; \quad i = 1, \dots, n \quad (1.5.4)$$

en donde, siguiendo los criterios establecidos anteriormente, las n primeras variables (x_1, \dots, x_n) son las dependientes y las m restantes (x_{n+1}, \dots, x_{n+m}) son las variables independientes.

La condición de estado estacionario para el sistema implica la anulación de todas las derivadas, y por lo tanto

$$\alpha_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{g_{ij}} = \beta_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{h_{ij}} \quad (1.5.5)$$

para $i=1, \dots, n$. Tomando logaritmos y definiendo los siguientes términos:

$$\begin{aligned} y_i &= \ln x_i \\ b_i &= \ln(\beta_i / \alpha_i) \\ a_{ij} &= g_{ij} - h_{ij} \end{aligned}$$

la expresión anterior da lugar al sistema de ecuaciones (algebraicas) lineales:

$$b_i = \sum_{j=1}^{n+m} a_{ij} y_j ; \quad i=1, \dots, n \quad (1.5.6)$$

(Savageau, 1969b). En notación matricial este sistema viene dado por

$$\mathbf{b} = \mathbf{A} \mathbf{y} \quad (1.5.7)$$

en donde \mathbf{b} es el vector de elementos b_i con dimensión $n \times 1$; \mathbf{A} es la matriz $n \times (n+m)$ de los coeficientes a_{ij} ; e \mathbf{y} es el vector de variables y_j con dimensión $(n+m) \times 1$. Este sistema se puede expresar de forma mas conveniente subdividiéndolo en función de las variables dependientes e independientes:

$$\mathbf{b} = \left(\mathbf{A}_{\text{dep}} \quad \mathbf{A}_{\text{ind}} \right) \begin{pmatrix} \mathbf{y}_{\text{dep}} \\ \mathbf{y}_{\text{ind}} \end{pmatrix} \quad (1.5.8)$$

en donde los subíndices “dep” e “ind” se utilizan para designar a las variables dependientes e independientes respectivamente así como a los coeficientes relativos a las mismas. De la expresión anterior se deduce la ecuación

$$\mathbf{A}_{\text{dep}} \mathbf{y}_{\text{dep}} = -\mathbf{A}_{\text{ind}} \mathbf{y}_{\text{ind}} + \mathbf{b}$$

que permite expresar de forma explícita la solución de estado estacionario del sistema:

$$\mathbf{y}_{\text{dep}} = -\mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{A}_{\text{ind}} \mathbf{y}_{\text{ind}} + \mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{b}. \quad (1.5.9)$$

La condición obvia para la existencia del estado estacionario es que la matriz \mathbf{A}_{dep} , de dimensión $n \times n$, sea regular (cf. Savageau y Sorribas, 1989d). En el caso en que $\text{rango}(\mathbf{A}_{\text{dep}}) < n$, la teoría de las ecuaciones lineales proporciona los criterios para definir los subespacios de soluciones (véase Savageau 1969b, 1976).

La ecuación (1.5.9) admite una representación alternativa. Definiendo la identidad

$$\mathbf{M} = \mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \quad (1.5.10)$$

se tiene

$$\begin{aligned} \mathbf{M} \mathbf{A}_{\text{dep}} &= \mathbf{I} \\ \mathbf{M} \mathbf{A}_{\text{ind}} &= -\mathbf{L}_x \end{aligned} \quad (1.5.11)$$

en donde \mathbf{I} es la matriz identidad $n \times n$, \mathbf{L}_x es la matriz de ganancias logarítmicas de dimensión $n \times m$, y \mathbf{M} resulta ser la matriz cuadrada de elementos

$$M_{ij} = S(x_i, \beta_j) = -S(x_i, \alpha_j); \quad i, j = 1, \dots, n \quad (1.5.12)$$

(Savageau, 1972; Savageau y Sorribas, 1989d). La ortogonalidad entre las matrices \mathbf{M} y \mathbf{A}_{dep} supone que

$$\sum_{j=1}^n a_{ij} M_{jk} = \delta_{ik}; \quad i, k = 1, \dots, n \quad (1.5.13)$$

en donde δ_{ik} es la delta de Kronecker, igual a 1 cuando $i=k$ y a 0 cuando $i \neq k$. Basándose en esta relación de ortogonalidad, es posible deducir un conjunto de expresiones que permite caracterizar las propiedades sistémicas a partir de las variables externas y de los parámetros cinéticos subyacentes (Savageau *et al.* 1987b,c; Savageau y Sorribas 1989d). Mas adelante se tratarán estas relaciones.

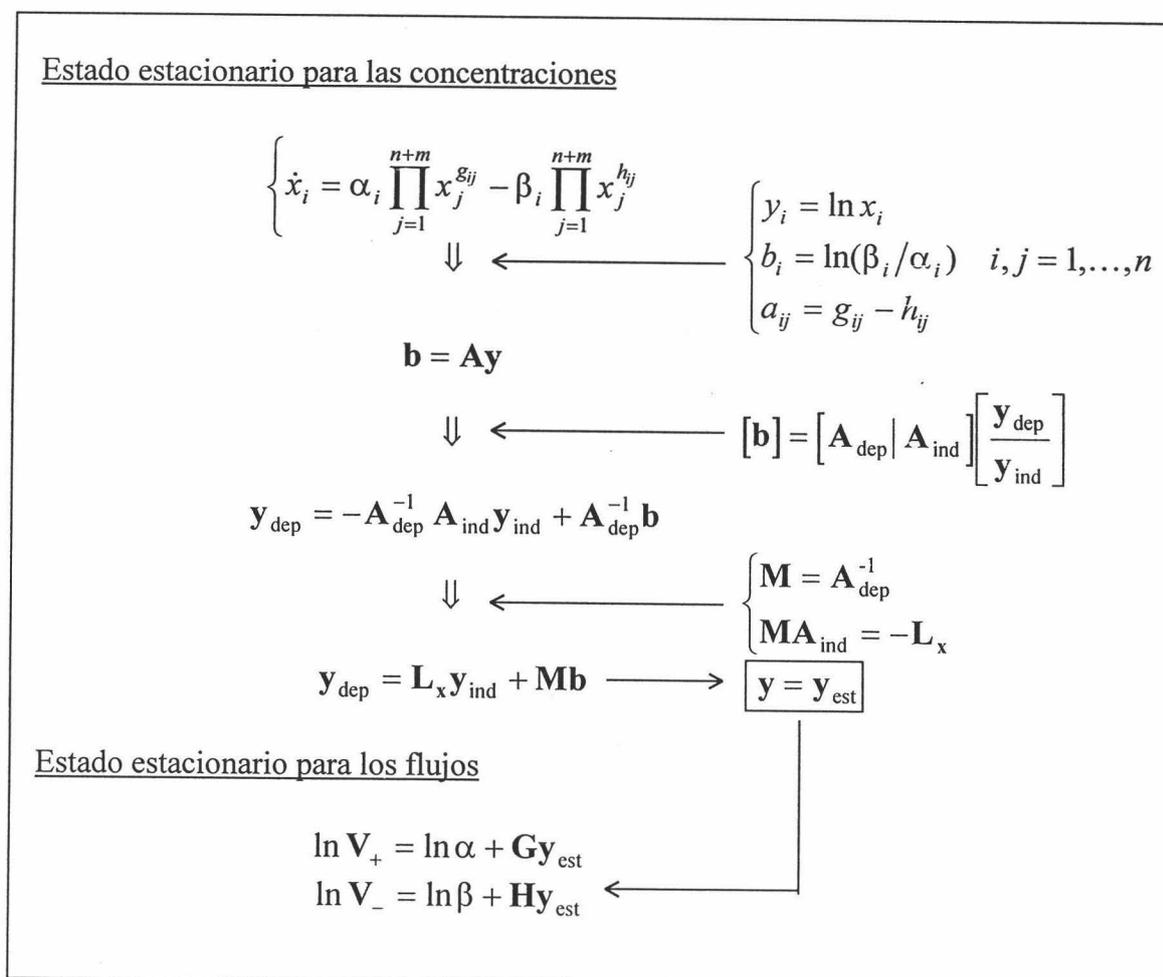
1.5. Descripción de sistemas bioquímicos sobre la base de los sistemas S

Como consecuencia de la (1.5.11), la solución de estado estacionario se puede expresar en función de las ganancias logarítmicas y de las sensibilidades respecto a las constantes de velocidad:

$$\mathbf{y}_{\text{dep}} = \mathbf{L}_x \mathbf{y}_{\text{ind}} + \mathbf{M} \mathbf{b} \quad (1.5.14)$$

Según esta ecuación, el logaritmo de la solución de estado estacionario se divide en dos partes. La primera representa la dependencia lineal respecto a los logaritmos de las variables independientes; y la segunda la dependencia lineal respecto a los logaritmos de las constantes de velocidad (Savageau y Sorribas, 1989d).

Tabla 1.5.3.- Representación esquemática de la caracterización del estado estacionario



1.5.3.2. Solución explícita respecto a las variables de flujo. Una vez obtenido el valor de los niveles de concentración en el estado estacionario

$$\mathbf{y}_{\text{est}} = \left\{ \mathbf{y}_{\text{dep}} \mid \dot{x}_i = 0; i = 1, \dots, n \right\}$$

la determinación del flujo es inmediata al sustituir estos valores en cualquiera de los dos miembros de la ecuación (1.5.5) (Savageau y Sorribas, 1989d). En términos de los influjos el resultado es

$$\ln V_i = \left(\ln \alpha_i + \sum_{j=n+1}^{n+m} g_{ij} y_j \right) + \sum_{j=1}^n g_{ij} y_{j_{\text{est}}}; \quad i=1, \dots, n \quad (1.5.15)$$

En forma matricial, la caracterización de los flujos en el estado estacionario es inmediata a partir de la expresión del sistema S como:

$$\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{V}_+ - \mathbf{V}_-$$

siendo \mathbf{V}_+ y \mathbf{V}_- los vectores n -dimensionales que representan a los influjos y a los eflujos respectivamente, y cuyo logaritmo viene dado por las expresiones (Savageau y Sorribas, 1989d):

$$\ln \mathbf{V}_+ = \ln \alpha + \mathbf{G} \mathbf{y}; \quad \ln \mathbf{V}_- = \ln \beta + \mathbf{H} \mathbf{y} \quad (1.5.16)$$

en donde $\ln \alpha$ y $\ln \beta$ son vectores n -dimensionales constituidos por los logaritmos de las constantes de velocidad, y \mathbf{G} y \mathbf{H} son las matrices de dimensión $n \times (n+m)$ constituidas por los órdenes cinéticos aparentes g_{ij} y h_{ij} respectivamente.

1.5.4. Caracterización del comportamiento del sistema en el estado estacionario

1.5.4.1.- Factores relacionando el comportamiento de las variables de concentración con los parámetros cinéticos subyacentes. Tres son los tipos de factores a considerar: la ganancia logarítmica, la sensibilidad a las constantes cinéticas aparentes y la sensibilidad a los órdenes cinéticos aparentes.

a) Ganancia logarítmica. La ganancia o amplificación, se definió como el porcentaje de cambio que sufre una variable dependiente como resultado del incremento de un 1% en una variable independiente, mientras el resto de variables independientes y parámetros se mantiene constante (Savageau, 1971b). La matriz $n \times m$ de ganancias viene dada por (Savageau y Sorribas, 1989d):

$$\mathbf{L}_x = -\mathbf{M}\mathbf{A}_{ind} \quad (1.5.17)$$

en donde cada elemento de \mathbf{L}_x es una función de los órdenes cinéticos que responde a la definición:

$$L(x_i, x_k) = L_{ik} = \frac{\partial y_i}{\partial y_k}; \text{ con } \begin{cases} i = 1, \dots, n \\ k = n+1, \dots, m \end{cases} \quad (1.5.18)$$

de manera que se puede expresar la relación entre la variación de la variación de las variables dependientes respecto a las independientes como

$$\partial \mathbf{y}_{dep} = \mathbf{L}_x \partial \mathbf{y}_{ind}. \quad (1.5.19)$$

b) Sensibilidad a las constantes de velocidad. Cuando el sistema está en estado estacionario, la variación de la concentración de una variable dependiente como respuesta a un cambio en una constante de velocidad, se obtiene a partir de

$$S(x_i, b_j) = \frac{\partial \ln x_i}{\partial \ln b_j}. \quad (1.5.20)$$

Dado que $b_j = \ln(\beta_j / \alpha_j)$, se verifica

$$S(x_i, b_j) = \ln(\beta_j / \alpha_j) \frac{\partial y_i}{\partial \ln(\beta_j / \alpha_j)} = \frac{\partial y_i}{\partial \ln \beta_j} = -\frac{\partial y_i}{\partial \ln \alpha_j}. \quad (1.5.21)$$

Estos coeficientes ya se definieron como los elementos de la matriz \mathbf{M} , verificándose por tanto:

$$M_{ij} = S(x_i, \beta_j) = -S(x_i, \alpha_j) \quad (1.5.23)$$

Conceptualmente, M_{ij} expresa el porcentaje de cambio en la concentración de x_i como consecuencia de un 1% de incremento en el valor de la constante de velocidad β_j o de decremento en el valor de la constante α_j . De forma compacta, también se puede aludir a la matriz \mathbf{M} como

$$\mathbf{M} = \mathbf{S}(\mathbf{x}, \beta) = -\mathbf{S}(\mathbf{x}, \alpha) \quad (1.5.24)$$

(Savageau y Sorribas, 1989d).

c) **Sensibilidad a los órdenes cinéticos.** La variación de la concentración de una variable dependiente x_i como respuesta a la variación porcentual de un orden cinético aparente g_{kl} , se definió originalmente como (Savageau *et al.*, 1987c):

$$S(y_i, g_{kl}) = \frac{\partial \ln y_i}{\partial \ln g_{kl}} = \frac{\sum_{j=n+1}^{n+m} S(L_{ij}, g_{kl}) L_{ij} y_j + \sum_{j=1}^n S(M_{ij}, g_{kl}) M_{ij} b_j}{\sum_{j=n+1}^{n+m} L_{ij} y_j + \sum_{j=1}^n M_{ij} b_j} \quad (1.5.25)$$

en donde $i, k=1, \dots, n$ y $l=1, \dots, n+m$. Esta expresión puede ser contemplada como una media ponderada de las sensibilidades de los coeficientes L_{ij} y M_{ij} respecto a los órdenes cinéticos aparentes. Un resultado análogo se obtiene para los h_{ij} sin mas que sustituir g por h en la expresión anterior.

A menudo también se utiliza el coeficiente

$$S(L_{ij}, g_{kl}) = \frac{\partial \ln L_{ij}}{\partial \ln g_{kl}} \quad (1.5.26)$$

que define la sensibilidad de las ganancias logarítmicas del sistema respecto a los órdenes cinéticos. Cuando hay una única variable independiente ($m=1$) o cuando todas las $S(L_{ij}, g_{kl})$ son iguales, se verifica

$$S(L_{ij}, g_{kl}) = S(y_i, g_{kl}) \quad (1.5.27)$$

(Savageau *et al.*, 1987b; véase también Savageau, 1972; 1976).

Una caracterización alternativa para la sensibilidad de los valores de concentración respecto a los órdenes cinéticos aparentes viene dada a partir de la igualdad (Savageau y Sorribas, 1989d)

$$\frac{S(x_i, h_{kl})}{h_{kl}} = - \frac{S(x_i, g_{kl})}{g_{kl}}, \quad (1.5.28)$$

verificándose también que:

$$S(x_i, g_{kl}) = y_i S(y_i, g_{kl}). \quad (1.5.29)$$

Savageau y Sorribas (1987d) definen, por analogía con la matriz \mathbf{M} , el tensor \mathbf{N} , con dimensión $n \times n \times (n+m)$, que representa las sensibilidades de las concentraciones respecto a los órdenes cinéticos:

$$\{N\} = \{S(x, h) / h\} = -\{S(x, g) / g\} \quad (1.5.30)$$

Cada elemento N_{ikl} vendrá dado como

$$N_{ikl} = \left(\frac{S(x_i, h_{kl})}{h_{kl}} \right) = - \left(\frac{S(x_i, g_{kl})}{g_{kl}} \right) \quad (1.5.31)$$

para $i, k=1, \dots, n$ y $l=1, \dots, m+n$. Se verifica (Savageau y Sorribas, 1989d):

$$\begin{aligned} \{S(x, h) / h\} &= \mathbf{M} \otimes \mathbf{y} \\ \{S(x, g) / g\} &= -\mathbf{M} \otimes \mathbf{y} \end{aligned} \quad (1.5.32)$$

1.5.4.2.- Factores relacionando el comportamiento de las variables de flujo con los parámetros cinéticos subyacentes. La caracterización del comportamiento de las variables de flujo frente a cambios en el sistema o en el entorno, se deduce a partir de cálculos subsiguientes a la determinación de las concentraciones en el estado estacionario. Por consiguiente, los factores sobre los que se basa esta caracterización se obtienen por diferenciación directa de las ecuaciones que describen el flujo en el estado estacionario (Savageau y Sorribas, 1989d):

$$\begin{cases} \ln V_{+est} = \ln \alpha + \mathbf{G} \mathbf{y}_{est} \\ \ln V_{-est} = \ln \beta + \mathbf{H} \mathbf{y}_{est} \end{cases} \quad (1.5.33)$$

a) Ganancia logarítmica. El efecto del cambio en una variable independiente sobre una etapa del flujo se obtiene por diferenciación directa de (1.5.33), de manera la amplificación de los influjos viene dada según la expresión (Savageau y Sorribas, 1989d):

$$\mathbf{L}_{v_{\pm}} = \mathbf{G}_{ind} + \mathbf{G}_{dep} \mathbf{L}_x \quad (1.5.34)$$

en donde \mathbf{G}_{ind} y \mathbf{G}_{dep} se definen como las matrices de elementos g_{ik} y g_{ij} respectivamente, con $i, j=1, \dots, n$ y $k=n+1, \dots, n+m$, de manera que cada elemento de $\mathbf{L}_{v_{\pm}}$ viene dado por la expresión

$$L(V_i, x_k) = g_{ik} + \sum_{j=1}^n g_{ij} L(x_i, x_k) \quad (1.5.35)$$

con $i=1, \dots, n$ y $k=n+1, \dots, n+m$. Procediendo del mismo modo para los eflujos se obtienen los elementos de la matriz $\mathbf{L}_{v_{-}}$.

b) Sensibilidad a las constantes de velocidad. Diferenciando la ecuación (1.5.33) respecto a las constantes de velocidad se obtiene (Savageau y Sorribas, 1989d):

$$\begin{cases} S(V_i, \alpha_k) = \delta_{ik} + \sum_{j=1}^n g_{ij} S(x_j, \alpha_k) \\ S(V_i, \beta_k) = \sum_{j=1}^n g_{ij} S(x_j, \beta_k) \end{cases} ; i, k=1, \dots, n \quad (1.5.36)$$

que, en forma matricial resulta

$$\begin{aligned} \mathbf{S}(\mathbf{V}_+, \alpha) &= \mathbf{I} + \mathbf{G}_{\text{dep}} \mathbf{S}(\mathbf{x}, \alpha) \\ \mathbf{S}(\mathbf{V}_+, \beta) &= \mathbf{G}_{\text{dep}} \mathbf{S}(\mathbf{x}, \beta) \end{aligned} \quad (1.5.37)$$

c) Sensibilidad a los órdenes cinéticos aparentes. Finalmente, la sensibilidad de los flujos a los órdenes cinéticos aparentes viene dada por (Savageau y Sorribas, 1989d):

$$\begin{cases} \left(\frac{S(V_i, g_{kp})}{g_{kp}} \right) = \delta_{ik} y_p + \sum_{j=1}^n g_{ij} \left(\frac{S(x_j, g_{kp})}{g_{kp}} \right) \\ \left(\frac{S(V_i, h_{kp})}{h_{kp}} \right) = \sum_{j=1}^n g_{ij} \left(\frac{S(x_j, h_{kp})}{h_{kp}} \right) \end{cases} \quad (1.5.38)$$

para $i, k=1, \dots, n ; p=1, \dots, n+m$.

Igual que se hizo con la sensibilidad de las concentraciones respecto a los órdenes cinéticos, se pueden definir los tensores de dimensiones $n \times n \times (n+m)$ según las expresiones:

$$\begin{aligned} \{\mathbf{S}(\mathbf{V}_+, \mathbf{g}) / \mathbf{g}\} &= \left(\frac{S(V_i, g_{kp})}{g_{kp}} \right) \\ \{\mathbf{S}(\mathbf{V}_+, \mathbf{h}) / \mathbf{h}\} &= \left(\frac{S(V_i, h_{kp})}{h_{kp}} \right) \end{aligned} \quad (1.5.40)$$

con $i, k=1, \dots, n ; p=1, \dots, n+m$. La expresión matricial de los coeficientes así definidos resulta (Savageau y Sorribas, 1989d):

1.5. Descripción de sistemas bioquímicos sobre la base de los sistemas S

$$\begin{aligned} \{S(V_+, g) / g\} &= I \otimes y + G_{dep} \otimes \{S(x, g) / g\} \\ \{S(V_+, h) / h\} &= G_{dep} \otimes \{S(x, h) / h\} \end{aligned} \quad (1.5.41)$$

Tabla 1.5.4.- Caracterización completa del estado estacionario (Savageau y Sorribas, 1989).

Variables de concentración

<i>Propiedad sistémica</i>		<i>Componentes locales*</i>		<i>Representación alternativa</i>
L_x	=	$-A_{dep}^{-1} A_{ind}$	=	$-MA_{ind}$
$S(x, \beta)$	=	A_{dep}^{-1}	=	M
$S(x, \alpha)$	=	$-A_{dep}^{-1}$	=	$-M$
$\{S(x, h) / h\}$	=	$A_{dep}^{-1} \otimes y$	=	$M \otimes y$
$\{S(x, g) / g\}$	=	$-A_{dep}^{-1} \otimes y$	=	$-M \otimes y$

Variables de flujo

<i>Propiedad sistémica</i>		<i>Componentes locales*</i>		<i>Representación alternativa</i>
L_{v_+}	=	$G_{ind} + G_{dep} A_{dep}^{-1} A_{ind}$	=	$G_{ind} + G_{dep} L_x$
$S(V_+, \alpha)$	=	$I + G_{dep} A_{dep}^{-1}$	=	$I + G_{dep} S(x, \alpha)$
$S(V_+, \beta)$	=	$G_{dep} A_{dep}^{-1}$	=	$G_{dep} S(x, \beta)$
$\{S(V_+, g) / g\}$	=	$I \otimes y + G_{dep} A_{dep}^{-1} \otimes y$	=	$I \otimes y + G_{dep} \otimes \{S(x, g) / g\}$
$\{S(V_+, h) / h\}$	=	$G_{dep} A_{dep}^{-1} \otimes y$	=	$G_{dep} \otimes \{S(x, h) / h\}$

* tomado de Savageau y Sorribas (1989, tabla 1).

Tabla 1.5.5a.- Relaciones derivadas de la ortogonalidad entre los operadores lineales **M** y **A_{dep}**. Partición de efectos entre parámetros (Savageau y Sorribas, 1989).

Efectos sobre las variables de concentración

Parámetro	Adición	Conectividad
Constantes de velocidad	$\sum_{j=1}^n [S(x_i, \alpha_j) + S(x_i, \beta_j)] = 0$ $i=1, \dots, n$	$\sum_{j=1}^n [S(x_i, \alpha_j)g_{jk} + S(x_i, \beta_j)h_{jk}] = -\delta_{ik}$ $i, k=1, \dots, n$
Órdenes cinéticos	$\sum_{j=1}^n \left[\left(\frac{S(x_i, g_{jp})}{g_{jp}} \right) + \left(\frac{S(x_i, h_{jp})}{h_{jp}} \right) \right] = 0$ $i=1, \dots, n; p=1, \dots, n+m$	$\sum_{j=1}^n \left[\left(\frac{S(x_i, g_{jp})}{g_{jp}} \right) g_{jk} + \left(\frac{S(x_i, h_{jp})}{h_{jp}} \right) h_{jk} \right] = -\delta_{ik} y_p$ $i, k=1, \dots, n; p=1, \dots, n+m$

Efectos sobre las variables de flujo

Parámetro	Adición	Conectividad
Constantes de velocidad	$\sum_{j=1}^n [S(V_i, \alpha_j) + S(V_i, \beta_j)] = 1$ $i=1, \dots, n$	$\sum_{j=1}^n [S(V_i, \alpha_j)g_{jk} + S(V_i, \beta_j)h_{jk}] = 0$ $i, k=1, \dots, n$
Órdenes cinéticos	$\sum_{j=1}^n \left[\left(\frac{S(V_i, g_{jp})}{g_{jp}} \right) + \left(\frac{S(V_i, h_{jp})}{h_{jp}} \right) \right] = y_p$ $i=1, \dots, n; p=1, \dots, n+m$	$\sum_{j=1}^n \left[\left(\frac{S(V_i, g_{jp})}{g_{jp}} \right) g_{jk} + \left(\frac{S(V_i, h_{jp})}{h_{jp}} \right) h_{jk} \right] = 0$ $i, k=1, \dots, n; p=1, \dots, n+m$

Tabla 1.5.5b.- Relaciones derivadas de la ortogonalidad entre los operadores lineales M y A_{dep} . Distribución de efectos sobre las variables dependientes (Savageau y Sorribas, 1989).

Efectos sobre las variables de concentración

Parámetro	Adición	Conectividad
Constantes de velocidad	$\sum_{j=1}^n [S(x_j, \alpha_k) + S(x_j, \beta_k)] = 0$ $k=1, \dots, n$	$\sum_{j=1}^n [S(x_j, \alpha_k) g_{ij} + S(x_j, \beta_k) h_{ij}] = -\delta_{ik}$ $i, k=1, \dots, n$
Órdenes cinéticos	$\sum_{j=1}^n \left[\left(\frac{S(x_j, g_{kp})}{g_{kp}} \right) + \left(\frac{S(x_j, h_{kp})}{h_{kp}} \right) \right] = 0$ $i=1, \dots, n; p=1, \dots, n+m$	$\sum_{j=1}^n \left[\left(\frac{S(x_j, g_{kp})}{g_{kp}} \right) g_{ij} + \left(\frac{S(x_j, h_{kp})}{h_{kp}} \right) h_{ij} \right] = -\delta_{ik} y_p$ $i, k=1, \dots, n; p=1, \dots, n+m$

Efectos sobre las variables de flujo

Parámetro	Adición	Conectividad
Constantes de velocidad	$\sum_{j=1}^n [S(V_j, \alpha_k) + S(V_j, \beta_k)] = 1$ $k=1, \dots, n$	—
Órdenes cinéticos	$\sum_{j=1}^n \left[\left(\frac{S(V_j, g_{kp})}{g_{kp}} \right) + \left(\frac{S(V_j, h_{kp})}{h_{kp}} \right) \right] = y_p$ $k=1, \dots, n; p=1, \dots, n+m$	—
Variables independientes	—	$\sum_{j=1}^n a_{ij} L(x_j, x_k) = -a_{ik}$ $i=1, \dots, n; k=n+1, \dots, n+m$

1.5.5. Estabilidad local.

La estabilidad de los sistemas no lineales es un aspecto difícil de caracterizar. Sin embargo, cuando el sistema se encuentra en un estado estacionario, es posible recurrir a técnicas de análisis lineal para examinar su comportamiento frente a pequeñas perturbaciones. Se hablará entonces del estudio de la estabilidad local (Savageau, 1975; 1976).

En este apartado se va a presentar el método desarrollado por Savageau (1975) para caracterizar las condiciones de estabilidad local en los sistemas S. El método es válido siempre que ninguna variable tome un valor nulo en el estado estacionario. Dado que la estabilidad es una propiedad de los sistemas autónomos, el análisis se realiza sobre el sistema S descrito según la formulación general

$$\dot{x}_i = \alpha_i \prod_{j=1}^n x_j^{g_{ij}} - \beta_i \prod_{j=1}^n x_j^{h_{ij}} \quad (1.5.42)$$

Para simplificar la notación, se escribirá x_{i0} para representar a los valores del estado estacionario:

$$x_{i0} = \{x_i | \dot{x}_i = 0; i = 1, \dots, n\}$$

no debiendo confundir estos valores con los que especifican el centro de la aproximación según la ley potencial, de modo que definiremos:

$$\dot{x}_i = \frac{d(x_{i0} + \xi_i)}{dt}.$$

La aproximación lineal según el desarrollo en serie de Taylor implica

$$\begin{aligned} \frac{d(x_{i0} + \xi_i)}{dt} \cong & \left[\alpha_i \prod_{j=1}^n x_{j0}^{g_{ij}} + \sum_{k=1}^n \left(\alpha_i g_{ij} \xi_k \prod_{j=1}^n x_{j0}^{(g_{ij} - \delta_{jk})} \right) \right] \\ & - \left[\beta_i \prod_{j=1}^n x_{j0}^{h_{ij}} + \sum_{k=1}^n \left(\beta_i h_{ij} \xi_k \prod_{j=1}^n x_{j0}^{(h_{ij} - \delta_{jk})} \right) \right] \end{aligned} \quad (1.5.43)$$

en donde δ_{jk} es la delta de Kronecker, igual a 1 cuando $i=k$ y a 0 cuando $j \neq k$. En el estado estacionario se verifica la igualdad

$$\alpha_i \prod_{j=1}^n x_{j0}^{g_{ij}} = \beta_i \prod_{j=1}^n x_{j0}^{h_{ij}}. \quad (1.5.45)$$

Por otra parte, también se cumple que

$$\frac{d(x_{i0} + \xi_i)}{dt} = \dot{\xi}_i. \quad (1.5.46)$$

En consecuencia, podemos expresar

$$\begin{aligned} \dot{\xi}_i &= \left[\sum_{k=1}^n \left(\alpha_i g_{ij} \xi_k \prod_{j=1}^n x_{j0}^{(g_{ij}-\delta_{jk})} \right) \right] - \left[\sum_{k=1}^n \left(\beta_i h_{ij} \xi_k \prod_{j=1}^n x_{j0}^{(h_{ij}-\delta_{jk})} \right) \right] \\ &= \left[\sum_{k=1}^n \left(\alpha_i g_{ij} \xi_k \prod_{j=1}^n x_{j0}^{(g_{ij}-\delta_{jk})} \right) \right] - \left[\sum_{k=1}^n \left(\alpha_i h_{ij} \xi_k \prod_{j=1}^n x_{j0}^{(g_{ij}-\delta_{jk})} \right) \right] \\ &= \alpha_i \sum_{k=1}^n \left((g_{ij} - h_{ij}) \xi_k \prod_{j=1}^n x_{j0}^{(g_{ij}-\delta_{jk})} \right). \end{aligned} \quad (1.5.47)$$

Definiendo

$$\begin{aligned} u_i &= \frac{\xi_i}{x_{i0}} \\ a_{ij} &= g_{ij} - h_{ij} \end{aligned} \quad (1.5.48)$$

la variación porcentual de x_i respecto al valor de estado estacionario se puede expresar como sigue:

$$\begin{aligned} \dot{u}_i &= \frac{\alpha_i}{x_{i0}} \sum_k \left[a_{ik} u_k x_{k0} \prod_j x_{j0}^{(g_{ij}-\delta_{jk})} \right] \\ &= \alpha_i \prod_j x_{j0}^{(g_{ij}-\delta_{ij})} \sum_k a_{ik} u_k \end{aligned} \quad (1.5.49)$$

Definiendo el factor

$$F_i = \alpha_i \prod_j x_{j0}^{(g_{ij}-\delta_{ij})} \quad (1.5.50)$$

que resulta ser el cociente entre el influjo sobre x_i en el estado estacionario respecto al valor de dicha variable en tal estado, la variación del índice u_i queda expresada en forma del sistema de ecuaciones diferenciales lineales (Savageau, 1975)

$$\dot{u}_i = F_i \sum_{k=1}^n a_{ik} u_k ; \quad i=1, \dots, n. \quad (1.5.51)$$

en forma matricial

$$\dot{\mathbf{u}} = \mathbf{A}^* \mathbf{u} \quad (1.5.52)$$

con \mathbf{A}^* la matriz $n \times n$ de elementos

$$a_{ij}^* = F_i a_{ij} \quad (1.5.53)$$

Las condiciones de estabilidad de este sistema vienen dadas por la naturaleza de los valores propios del operador lineal \mathbf{A}^* , que son las raíces de la ecuación característica

$$\begin{vmatrix} (F_1 a_{11} - \lambda) & F_1 a_{12} & \cdots & F_1 a_{1n} \\ F_2 a_{21} & (F_2 a_{22} - \lambda) & \cdots & F_2 a_{2n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ F_n a_{n1} & F_n a_{n2} & \cdots & (F_n a_{nn} - \lambda) \end{vmatrix} = 0. \quad (1.5.54)$$

Resolviendo el determinante se obtiene el polinomio característico $P(\lambda)$, que de manera genérica expresaremos:

$$P(\lambda) \equiv \phi_0 \lambda^n + \phi_1 \lambda^{n-1} + \phi_2 \lambda^{n-2} + \dots + \phi_{n-1} \lambda + \phi_n. \quad (1.5.55)$$

Los ceros de este polinomio, o valores propios de \mathbf{A}^* , determinan completamente la solución general del sistema de ecuaciones diferenciales (1.5.52) (véase Anand, 1984; o Kreyszig, 1990).

No obstante, en la medida en que el orden del sistema aumenta, la determinación de todas las raíces de $P(\lambda)$ se convierte en un problema que no es trivial. Una solución factible es utilizar técnicas numéricas que permitan obtenerlas de una forma aproximada (una revisión en profundidad de estas técnicas se puede hacer en el texto de Gastinel, 1975). Sin embargo, a efectos de caracterizar la estabilidad del sistema dinámico definido por (1.5.52), lo que importa no es exactamente el valor de los ceros de $P(\lambda)$ sino su signo. Si la parte real de los valores λ_i que verifican $P(\lambda_i)=0$ es negativa

$$\text{Re}(\lambda_i) < 0, \quad (1.5.56)$$

la respuesta del sistema a una perturbación será situarlo en un nuevo estado estacionario y se dirá que el sistema es estable. Por el contrario, cuando los ceros de $P(\lambda)$ tienen parte real positiva, la respuesta a una perturbación puede ser un incremento incontrolado o una oscilación de amplitud creciente, resultando

entonces que el sistema es inestable (véase Anand, 1984; Dorf, 1989; o Kreyszig, 1990).

El criterio de Routh-Hurwitz (Routh, 1877; Hurwitz, 1895) es una alternativa clásica en el campo de la ingeniería de los sistemas de control, que permite comprobar la condición (1.5.56). El método está basado en la relación que se mantiene entre los coeficientes de una ecuación algebraica de grado n si las n raíces tienen parte real negativa. Este criterio da lugar a condiciones necesarias y suficientes para caracterizar la estabilidad del sistema en términos de los coeficientes de $P(\lambda)$, sin necesidad de obtener explícitamente sus ceros (Richards, 1979).

El interés del método es doble, ya que por una parte, supone una simplificación considerable del problema que incide en una reducción del esfuerzo computacional necesario para su implementación. Por otra parte, como los coeficientes de $P(\lambda)$ vienen dados a partir de los parámetros cinéticos del sistema S, el criterio de Routh permite establecer relaciones a partir de las cuales, una propiedad sistémica, la estabilidad, queda determinada explícitamente por las propiedades moleculares subyacentes del sistema bioquímico (véase Savageau, 1975, 1976).

En términos generales, las condiciones de estabilidad se establecen a partir de la matriz de Routh, que tiene la forma (Anand, 1984):

$$\begin{array}{c|ccc}
 \lambda^n & \phi_0 & \phi_2 & \dots \\
 \lambda^{n-1} & \phi_1 & \phi_3 & \dots & \phi_n \\
 \hline
 \lambda^{n-2} & c_{11} & c_{12} & \dots & 0 \\
 \lambda^{n-3} & c_{21} & c_{22} & \dots & \\
 \lambda^{n-4} & c_{31} & c_{32} & \dots & \\
 \vdots & \vdots & & & \\
 \lambda^0 & \phi_n & & &
 \end{array} \tag{1.5.57}$$

Las dos primeras filas están formadas por los coeficientes del polinomio característico $P(\lambda)$; los de índice par en la primera y los de índice impar en la segunda, según la notación seguida. Los coeficientes c_{ij} del resto de las filas, se calculan a partir de los que ocupan las dos filas superiores de acuerdo con el siguiente esquema:

$$c_{11} = \frac{-\begin{vmatrix} \phi_0 & \phi_2 \\ \phi_1 & \phi_3 \end{vmatrix}}{\phi_1}; \quad c_{12} = \frac{-\begin{vmatrix} \phi_0 & \phi_4 \\ \phi_1 & \phi_5 \end{vmatrix}}{\phi_1}; \quad c_{13} = \frac{-\begin{vmatrix} \phi_0 & \phi_6 \\ \phi_1 & \phi_7 \end{vmatrix}}{\phi_1}$$

$$c_{21} = \frac{-\begin{vmatrix} \phi_1 & \phi_3 \\ c_{11} & c_{12} \end{vmatrix}}{c_{11}}; \quad c_{22} = \frac{-\begin{vmatrix} \phi_1 & \phi_5 \\ c_{11} & c_{13} \end{vmatrix}}{c_{11}} \quad \dots$$

$$c_{31} = \frac{-\begin{vmatrix} c_{11} & c_{12} \\ c_{21} & c_{22} \end{vmatrix}}{c_{21}}; \quad \dots$$

Según el criterio de Routh, el número de raíces positivas de $P(\lambda)$ coincide con el número de cambios de signo en los coeficientes de la primera columna, por tanto la condición de estabilidad requiere que los valores

$$\phi_0, \phi_1, c_{11}, c_{21}, \dots, \phi_n$$

tengan el mismo signo. Pueden darse casos particulares que dificulten la aplicación del método, por ejemplo cuando se anula un coeficiente que interviene como denominador en el cálculo de otro. Para estudiar este tipo de situaciones y profundizar en el método véase cualquiera de las referencias citadas, como Richards (1979), Anand (1984) o Dorf (1989).

1.5.6. Fórmulas computacionales

La integración numérica del sistema

$$\dot{x}_i = \alpha_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{g_{ij}} - \beta_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{h_{ij}}, \quad (1.5.58)$$

se puede abordar directamente mediante alguno de los muchos métodos iterativos desarrollados para la resolución de sistemas de ecuaciones diferenciales (p.e. véase Burden y Faires, 1985). Sin embargo, el elevado número de exponenciaciones que se deben realizar en cada iteración resta eficiencia al proceso y la solución puede verse afectada por un error de redondeo considerable. Sin embargo, definiendo (Savageau, 1970; 1976):

$$\begin{aligned} y_i &= \ln x_i \\ g'_{ij} &= g_{ij} - \delta_{ij} \\ h'_{ij} &= h_{ij} - \delta_{ij} \end{aligned} \quad (1.5.59)$$

en donde δ_{ij} es la delta de Kronecker ($\delta_{ij}=1$ si $i=j$ y $\delta_{ij}=0$ si $i \neq j$), el sistema (1.5.58) es equivalente al sistema:

$$\dot{y}_i = \alpha_i \exp\left(\sum_{j=1}^{n+m} g_{ij}' y_j\right) - \beta_i \exp\left(\sum_{j=1}^{n+m} h_{ij}' y_j\right) \quad i=1, \dots, n. \quad (1.5.60)$$

De este modo, las $2(n+m)$ exponenciaciones que supone evaluar cada ecuación del sistema original se reducen a dos.

Por otra parte, la constancia de la estructura matemática de los sistemas S, permite la evaluación sistemática de sus derivadas de orden superior sin un gran coste desde el punto de vista computacional. Además, y a diferencia de lo que ocurre cuando se trata con sistemas dinámicos cuya representación formal es más compleja, la evaluación de las derivadas puede hacerse de manera exacta, y no mediante métodos aproximados. Esto implica que métodos de integración numérica, como el método de Taylor, cobren mayor relevancia al tratar con sistemas S que cuando son considerados como métodos de interés general. En este sentido, Irvine y Savageau (1990) han optimizado la integración numérica de los sistemas S mediante métodos de Taylor, que resultan ser más eficientes que otros métodos habituales de propósito general (e.g. variaciones de los métodos de Runge-Kutta).



1.6 Aplicaciones de la teoría

En la BST se pueden distinguir de manera clara dos vertientes: una de tipo teórico, bajo la cual se desarrollan los principios fundamentales de la teoría y que se encuentra bien consolidada, y otra de tipo aplicado que se encuentra dando sus primeros pasos.

1.6.1. Análisis de sistemas abstractos

En su inicio, el mayor desarrollo de la BST se ha dado al analizar procesos de regulación sobre sistemas abstractos, especialmente secuencias de reacciones catalizadas enzimáticamente y mecanismos de acción genética.

Metodológicamente, el análisis se puede desglosar en tres fases: (1) Se proponen y formulan estrategias de control alternativas; (2) se establecen criterios de efectividad funcional que permitan hacer una valoración del sistema; y (3) se comparan los sistemas propuestos en términos de los criterios establecidos y sobre la base de los elementos definidos en la teoría (véase Savageau, 1976).

La comparación entre patrones de control diferentes debe realizarse en condiciones homogéneas. Esto supone que los sistemas bajo estudio deben ser equivalentes en todos los aspectos, distinguiéndose solo en aquellos que caracterizan el comportamiento de interés.

La homogeneidad entre dos sistemas se establece en base a dos criterios (Savageau, 1972): *equivalencia interna* y *equivalencia externa*. Dos sistemas son internamente equivalentes cuando se da la identidad entre los parámetros de todas las reacciones comunes. Sin embargo, la equivalencia interna no asegura que el comportamiento de los sistemas sea idéntico a nivel global, ya que no se imponen restricciones sobre los parámetros implicados en las etapas que caracterizan el mecanismo bajo estudio (Savageau, 1972; 1976). Por tanto, es preciso que los sistemas sean intercambiables en términos del efecto que ejercen sobre el organismo en el que están inmersos. A esta equivalencia global se denomina equivalencia externa, y se establece sobre dos bases: la ganancia logarítmica y la sensibilidad paramétrica. La equivalencia sobre la base de la ganancia logarítmica supone que, dados dos sistemas A y B, se verifica, para una variable interna de interés ξ_i : $L^A(\xi_i, x_k) = L^B(\xi_i, x_k)$. De manera análoga, la equivalencia sobre la base de la sensibilidad paramétrica supone $S^A(\xi_i, \theta_k) = S^B(\xi_i, \theta_k)$, siendo θ_k el parámetro sobre la cual se establece.

En sentido estricto, la equivalencia externa no requiere de la equivalencia interna, pero en los casos en que se da, la equivalencia externa impone ciertas

restricciones respecto a los parámetros que caracterizan a cada sistema (Savageau, 1972).

Los criterios de equivalencia son la base de lo que se ha dado en llamar *método de las comparaciones matemáticamente controladas* (Savageau, 1985b), cuyas etapas se pueden resumir como sigue (cf. con Savageau, 1985b):

1. Formulación del problema: establecimiento del modelo conceptual.
2. Formalización de las estrategias alternativas. Todos los diseños son iguales salvo en aquellas etapas que caracterizan al proceso bajo estudio. Entre los sistemas representados se mantiene la equivalencia interna.
3. Garantizar la equivalencia externa entre las alternativas.
4. Análisis formal.

1.6.2. Aspectos experimentales

En el ámbito experimental, la aplicación de los principios y métodos propuestos por la BST tiene como principal dificultad la complejidad intrínseca de los sistemas cuyo objetivo es estudiar. Aunque los principios formales están bien establecidos, es ineludible la identificación de los componentes del sistema real y la forma en que estos interaccionan, lo que supone la necesidad de manejar un volumen de información importante. En este apartado se van a revisar las formas en que se viene abordando este problema.

1.6.2.1.- Determinación de parámetros locales. Voit *et al.* (1991) consideran tres aproximaciones para la determinación de los valores de los parámetros que caracterizan al sistema.

- a) Estimaciones a partir de datos cinéticos *in vitro*
- b) Estimaciones a partir de experimentos *in situ* relativos al estado estacionario del sistema
- c) Estimación a partir de la dinámica del sistema

A continuación se exponen brevemente los principios básicos de cada una de estas aproximaciones, creyendo conveniente discriminar dos posibilidades relativas a la primera de las alternativas.

a-1) Estimaciones a partir de datos cinéticos in vitro: Caracterización directa de la ley individual de velocidad. En principio, la caracterización de la ley individual de velocidad, en términos del formalismo de la ley potencial, se concibe como un problema de regresión lineal (Savageau, 1971; 1972; 1988; Voit y Savageau, 1982a,b; Savageau y Voit, 1982; Voit, Savageau e Irvine 1991). Se

trata del análisis cinético de las etapas aisladas al estilo de como se hace para los modelos mecanicistas.

a-2) Estimaciones a partir de datos cinéticos *in vitro*: Por derivación parcial a partir de un modelo de tipo mecanicista. Desde la formulación del modelo cinético de Henri-Michaelis-Menten en 1913, prácticamente un siglo de investigación bioquímica ha dado como fruto un amplio repertorio de modelos de índole mecanicista, cuyo objetivo es la caracterización de los procesos que tienen lugar en el vasto entramado metabólico. La reunión de modelos de este tipo a partir de la literatura, ha servido como patrón para la caracterización de procesos metabólicos en el contexto de la BST.

Shiraishi y Savageau (1992a,b,c,d) han utilizado el modelo de Wright *et al.* (1992) sobre el ciclo de los ácidos tricarboxílicos en *D. discoideum* para formular un modelo alternativo a partir del cual ponen de manifiesto posibles deficiencias en la formulación original.

Con datos tomados a partir de diferentes fuentes bibliográficas, Torres *et al.* (1993) proponen un modelo para la producción de ácido cítrico en el hongo *A. niger*. Del mismo modo, Sabate *et al.* (1995) consideran la ruta de las pentosas fosfato en hepatocitos de rata y Curto *et al.* (1995) la ruta fermentativa en *S. cerevisiae*. Ni y Savageau, 1996,a,b,c han caracterizado el metabolismo del eritrocito humano, presentado además una detallada información sobre los mecanismos cinéticos considerados como referencia y la fuente de procedencia (algo que se echa en falta en otros trabajos). Mas recientemente, Curto *et al.* (1997) han caracterizado el metabolismo purínico humano. Estos autores han considerado, además de las fuentes bibliográficas, otras vías de *deducción* de los parámetros cinéticos.

b) Estimación a partir de experimentos en estado estacionario *in situ*. Según Voit *et al.* (1991), cabría distinguir aquí dos tipos de ensayos. Un primer tipo es aquel en que el sistema bajo observación es perturbado mediante un cambio en la variable de entrada y se mide seguidamente la respuesta, esto es, el cambio en los valores de estado estacionario de flujos y concentraciones. Un segundo tipo de ensayo, es aquel en el que se introduce un cambio en la actividad de un enzima (por ejemplo por manipulación genética).

Sorribas y Cascante (1992) y Sorribas *et al.* (1993) han considerado la forma de dar una caracterización del sistema a partir de la respuesta transitoria que tiene lugar tras una perturbación.

Por otra parte, una cuestión que no debe quedar sin tratar, es la posibilidad de determinar experimentalmente los niveles de metabolitos *in situ* así como su velocidad de variación (sin que el hacerlo suponga la destrucción del sistema bajo estudio). Sorribas *et al.* (1993) han considerado este aspecto y ponen de manifiesto algunas técnicas que lo hacen posible. Por ejemplo, experimentos con células permeabilizadas (en donde se puede modificar las condiciones del sistema por variación de las condiciones externas así como determinar la velocidad de

respuesta a esas variaciones) . La determinación de la concentración de metabolitos *in vivo* puede hacerse mediante experimentos que involucran espectroscopía de RMN (véanse las referencias citadas por estos autores).

c) Estimación a partir de datos dinámicos. El ajuste del sistema dinámico *per se* se plantea inicialmente en Voit y Savageau (1982b), considerando el ajuste mediante métodos numéricos no lineales (Gauss-Newton). Sin embargo, el método puede implicar un buen grado de dificultad. En Voit *et al.* (1991) se indican algunos de los problemas que aparecen, como son por ejemplo, la redundancia de parámetros o la elección adecuada de las condiciones iniciales, que inducen una pérdida de eficiencia en los métodos numéricos (c.f. Johnson, 1988, 1991; Sorribas *et al.*, 1993, Torsella y Bin Razali, 1991). Básicamente, el proceso consiste en (Savageau y Voit, 1982b):

1. Calcular las pendientes $\dot{x}_i(t)$ a partir de los datos experimentales
2. Tabular los tripletes $\{t_k, x_i(t_k), \dot{x}_i(t_k)\}$ para las n variables x_i y las T observaciones t_1, \dots, t_T

t	x_1		x_2		...		x_n	
t_1	$x_1(t_1)$	$\dot{x}_1(t_1)$	$x_2(t_1)$	$\dot{x}_2(t_1)$	$x_n(t_1)$	$\dot{x}_n(t_1)$
t_2	$x_1(t_2)$	$\dot{x}_1(t_2)$	$x_2(t_2)$	$\dot{x}_2(t_2)$	$x_n(t_2)$	$\dot{x}_n(t_2)$
...
t_T	$x_1(t_T)$	$\dot{x}_1(t_T)$	$x_2(t_T)$	$\dot{x}_2(t_T)$	$x_n(t_T)$	$\dot{x}_n(t_T)$

3. Ajustar el sistema de $n \times T$ ecuaciones algebraicas no lineales:

$$\left\{ \begin{array}{l} \dot{x}_1(t_1) = \alpha_1 \prod_{j=1}^n x(t_1)_j^{g_{1j}} - \beta_1 \prod_{j=1}^n x(t_1)_j^{h_{1j}} \\ \vdots \\ \dot{x}_1(t_T) = \alpha_1 \prod_{j=1}^n x(t_T)_j^{g_{1j}} - \beta_1 \prod_{j=1}^n x(t_T)_j^{h_{1j}} \\ \vdots \\ \dot{x}_n(t_1) = \alpha_n \prod_{j=1}^n x(t_1)_j^{g_{nj}} - \beta_n \prod_{j=1}^n x(t_1)_j^{h_{nj}} \\ \vdots \\ \dot{x}_n(t_T) = \alpha_n \prod_{j=1}^n x(t_T)_j^{g_{nj}} - \beta_n \prod_{j=1}^n x(t_T)_j^{h_{nj}} \end{array} \right.$$

En ocasiones es posible descomponer el sistema en subsistemas

separables, de manera que se reduce el conjunto de parámetros que deben ser estimados simultáneamente.

1.6.2.1.- Estimación de propiedades sistémicas. Una vez obtenidos los valores de los parámetros que caracterizan las propiedades locales de los componentes del sistema, la obtención de las propiedades globales puede hacerse de manera analítica. No obstante, los métodos que conducen a la obtención de los parámetros locales, permiten en general, la obtención de las propiedades globales. Por ejemplo, mediante perturbación del sistema se pueden obtener los valores de las ganancias logarítmicas

$$L_{ik} \approx \frac{\ln x_i - \ln x_{i0}}{\ln x_k - \ln x_{k0}}$$

o bien de la sensibilidad de una propiedad ξ_i a un parámetro dado θ_k :

$$S(\xi_i, \theta_k) \approx \frac{\xi_i - \xi_{i0}}{\xi_{i0}} \frac{\theta_{k0}}{\theta_k - \theta_{k0}}$$

(Savageau, 1971a, 1972, 1976; Shiraishi y Savageau, 1982c).

1.6.3. Validación del modelo

Durante el desarrollo de la BST se consideran básicamente tres formas de validación del modelo:

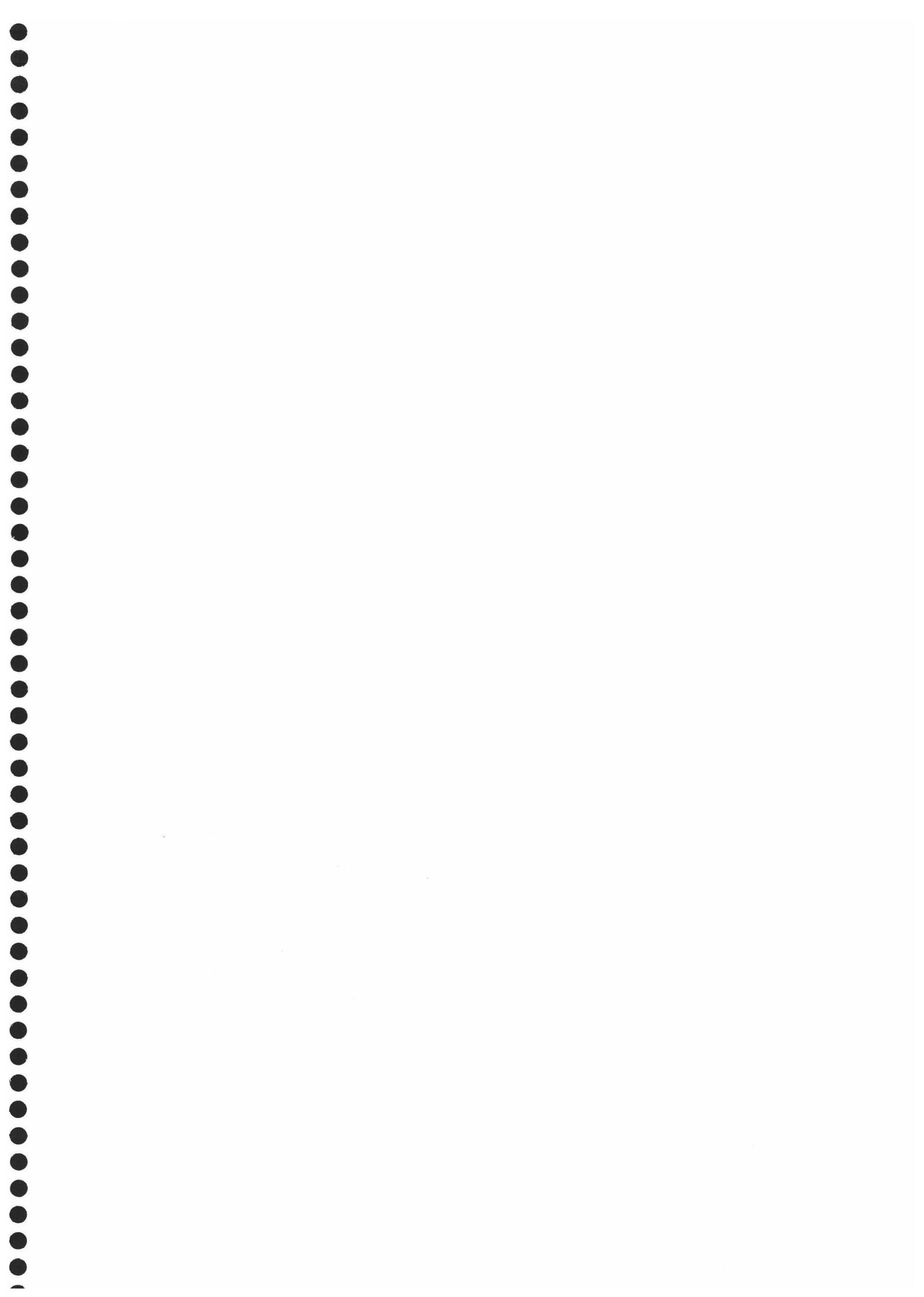
- Sobre la base de la sensibilidad paramétrica: sensibilidades muy elevadas hacen sospechar de una especificación incorrecta (Sorribas y Savageau, 1989a,c; Shiraishi y Savageau, 1992a-d).
- Sobre la base de la estabilidad local: la especificación de un sistema inestable pone de manifiesto la inconsistencia del modelo (Savageau, 1976; Shiraishi y Savageau, 1992a-d). Ni y Savageau (1996a,c) han propuesto un criterio de evaluación y refinamiento del modelo basado en las condiciones de estabilidad local relativas al estado estacionario.
- Selección del modelo óptimo (en términos del número de variables y parámetros) en base al error cuadrático medio:

$$ECM_p = \frac{\sum (x_i - \hat{x}_i)^2}{N - p}$$

en donde p es el número de parámetros y N es el número de observaciones experimentales. La magnitud de la reducción del error cuadrático medio al introducir un nuevo parámetro es indicativa de la importancia relativa de dicho parámetro (Savageau y Voit, 1982b).

Capítulo 2

Formalismo de la ley potencial de segundo grado



2.1 Introducción

Cuando el modelo formal que se utiliza para describir un fenómeno físico viene dado como un polinomio de primer grado, como ocurre con el formalismo de la ley potencial —aunque haya implicada una transformación tanto de las variables como de la respuesta observable—, parece inmediato preguntarse qué ocurre si se utiliza un polinomio de grado superior.

En el contexto de la BST, los términos de segundo grado del formalismo de la ley potencial fueron considerados inicialmente por Cascante *et al.* (1991). Las dos cuestiones más relevantes puestas de manifiesto por estos autores han sido:

1. mostrar cómo la incorporación de los coeficientes de segundo orden de la serie de Taylor permite discriminar entre modelos que parecen ser equivalentes desde el punto de vista de la formulación de primer grado.
2. mostrar cómo los sistemas S que incluyen los términos de segundo orden proporcionan mayor exactitud en el seguimiento de la respuesta dinámica.

Para Savageau (1996a,c) la consideración de los tres primeros términos de la serie es contemplada como un conflicto entre la mayor capacidad predictiva pero a costa de una peor representación.

Más recientemente Salvador (1996) ha caracterizado el sinergismo mediante los coeficientes correspondientes a la representación de segundo grado.

En este capítulo se va a hacer una valoración personal del formalismo de segundo grado. En una primera parte se desarrollará su formulación. A partir de ella se contemplará la capacidad predictiva de este tipo de modelos en relación a los modelos clásicos, de tipo mecanicista. En apartados subsiguientes se pondrá de manifiesto la forma en que se puede aprovechar la información subyacente en este tipo de modelos y como representan la extensión natural del formalismo de primer grado —tanto desde el punto de vista conceptual, como del metodológico.

2.2. El modelo potencial de segundo grado

2.2.1. Formulación

Dada una ley de velocidad v expresada como función de n variables:

$$v(\mathbf{x}) = v(x_1, \dots, x_n), \quad (2.2.1)$$

al considerar el vector $\mathbf{y} = \ln(\mathbf{x})$, con coordenadas $y_i = \ln(x_i)$ para $i=1, \dots, n$, y la composición $w = v \circ e^{\mathbf{y}}$, se puede definir

$$w(\mathbf{y}) = \ln v(e^{\mathbf{y}}), \quad (2.2.2)$$

de manera que el desarrollo en serie de Taylor hasta el segundo término para w viene dado por la expresión:

$$T_2(w(\mathbf{y}), \mathbf{y}_0) = w_0 + \sum_{j=1}^n g_j (y_j - y_{j_0}) + \frac{1}{2!} \sum_{j,k=1}^n g_{jk} (y_j - y_{j_0})(y_k - y_{k_0}) \quad (2.2.3)$$

en donde $w_0 = w(\mathbf{y}_0)$ es la evaluación de w en el centro de aproximación $\mathbf{y} = \mathbf{y}_0$ y los coeficientes g_j y g_{jk} representan a las derivadas de primer y segundo grado respectivamente:

$$g_j = \left. \frac{\partial \ln v(\mathbf{x})}{\partial \ln x_j} \right|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0} \quad (2.2.4)$$

$$g_{jk} = \left. \frac{\partial^2 \ln v(\mathbf{x})}{\partial \ln x_j \partial \ln x_k} \right|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0} \quad (2.2.5)$$

En la serie, además de la evaluación de la función en el centro de aproximación, w_0 , aparecen tres tipos de términos:

- los correspondientes a la aproximación lineal: $g_j (y_j - y_{j_0})$
- los correspondientes a los términos cuadráticos: $g_{jj} (y_j - y_{j_0})^2$
- los correspondientes a los productos cruzados: $g_{jk} (y_j - y_{j_0})(y_k - y_{k_0})$

Mientras que el primero de estos términos describe la tendencia lineal de la ley de velocidad en el espacio doble logarítmico, los otros dos dan cuenta de no linealidades relativas a dicho espacio. Estas no linealidades se caracterizan a dos niveles. El primero es la curvatura en la dirección de cada variable (esto es, en sentido marginal), que queda expresada mediante los términos cuadráticos del modelo. Un ejemplo de este tipo de no linealidad es el fenómeno de saturación propio de la cinéticas enzimáticas. El otro nivel resulta de la *interacción de segundo orden* entre las variables, es decir, de la forma en que el nivel de una variable determina la dependencia de la respuesta respecto al nivel de las demás, resultando por tanto que los efectos no son aditivos según establece un modelo puramente lineal.

Definiendo la variable

$$l_j = \ln \frac{x_j}{x_{j_0}}, \quad (2.2.6)$$

que representa al logaritmo natural de la variación —en tanto por uno— de la variable j -ésima respecto a su valor nominal, los términos cuadráticos de la serie se pueden expresar como:

$$g_{jj}(y_j - y_{j_0})^2 = g_{jj}l_jl_j \quad (2.2.7)$$

$$g_{jk}(y_j - y_{j_0})(y_k - y_{k_0}) = g_{jk}l_jl_k. \quad (2.2.8)$$

La agrupación conveniente de los términos de la serie, permite definir una función $G_j(I)$ que está dada por la combinación lineal de los l_j en con respecto a los coeficientes g_{jk} . Según los términos que se consideren, se presentan las siguientes posibilidades:

- considerando únicamente a los términos de tendencia:

$$G_j(I) = g_j$$

- considerando a los términos de tendencia y a los de saturación:

$$G_j(I) = g_j + \frac{1}{2} g_{jj}l_j$$

- considerando a todos los términos del desarrollo (tendencia, saturación e interacción):

$$G_j(\mathbf{l}) = g_j + \frac{1}{2} g_{jj} l_j + \frac{1}{2} \sum_{\substack{k=1 \\ k \neq j}}^n g_{jk} l_k,$$

Cuando se conoce suficientemente el mecanismo subyacente al proceso estudiado, es posible restringir el número de términos considerados limitando así los tipos de superficies posibles (véase Draper y Smith, 1981). Sin embargo, a falta de fundamentos teóricos, el modelo cuadrático debe incluir a todos sus parámetros. Por tanto, la definición de $G_j(\mathbf{l})$ responderá en adelante a su forma más general, que es la dada por

$$G_j(\mathbf{l}) = g_j + \frac{1}{2} \sum_{k=1}^n g_{jk} l_k. \quad (2.2.9)$$

Cada una de las n variables que intervienen en el modelo tendrá asociada una de estas funciones que, como veremos, permitirán dar una mayor generalidad al concepto de *orden cinético aparente*. Designaremos por Γ a la matriz

$$\Gamma = \begin{bmatrix} g_1 & \frac{1}{2} g_{11} & \frac{1}{2} g_{12} & \cdots & \frac{1}{2} g_{1n} \\ g_2 & \frac{1}{2} g_{12} & \frac{1}{2} g_{22} & \cdots & \frac{1}{2} g_{2n} \\ & & & \ddots & \\ g_n & \frac{1}{2} g_{1n} & \frac{1}{2} g_{2n} & \cdots & \frac{1}{2} g_{nn} \end{bmatrix} \quad (2.2.10)$$

que determina la aplicación lineal

$$\begin{bmatrix} G_1(\mathbf{l}) \\ G_2(\mathbf{l}) \\ \vdots \\ G_n(\mathbf{l}) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} g_1 & \frac{1}{2} g_{11} & \frac{1}{2} g_{12} & \cdots & \frac{1}{2} g_{1n} \\ g_2 & \frac{1}{2} g_{12} & \frac{1}{2} g_{22} & \cdots & \frac{1}{2} g_{2n} \\ & & & \ddots & \\ g_n & \frac{1}{2} g_{1n} & \frac{1}{2} g_{2n} & \cdots & \frac{1}{2} g_{nn} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 \\ l_1 \\ \vdots \\ l_n \end{bmatrix}.$$

Basándose en la definición de las $G_j(\mathbf{l})$, y llamando w_{PL2} a la función representada por la serie (2.2.3), se puede expresar

$$w_{\text{PL2}}(\mathbf{l}) = w_0 + \sum_{j=1}^n G_j(\mathbf{l}) l_j, \quad (2.2.11)$$

de manera que en coordenadas cartesianas se tiene

$$v_{\text{PL2}}(\mathbf{x}) = v_0 \prod_{j=1}^n \left(\frac{x_j}{x_{j_0}} \right)^{g_j + \frac{1}{2} \sum_{k=1}^n g_{jk} l_k} \quad (2.2.12)$$

Definiendo el índice $X_i = x_i / x_{i_0}$, la expresión anterior es equivalente a

$$v_{\text{PL2}}(\mathbf{x}) = v_0 \prod_{j=1}^n X_j^{G_j(l)} \quad (2.2.13)$$

2.2.1.1.- Un ejemplo para el caso de dos variables. Para ganar en apreciación se detalla a continuación la obtención del modelo de segundo grado, a partir de los términos del desarrollo en serie, para el caso de dos variables.

Supóngase la función de velocidad

$$v = v(x_1, x_2)$$

cuya aproximación se va a hacer en el punto (x_{10}, x_{20}) . Definiendo $y_i = \ln x_i$, el desarrollo de Taylor hasta el segundo término para la función

$$w(y_1, y_2) = \ln v(e^{y_1}, e^{y_2})$$

viene dado por

$$\begin{aligned} T_2(w(y_1, y_2), (y_{10}, y_{20})) &= w(y_{10}, y_{20}) \\ &+ g_1(y_1 - y_{10}) + g_2(y_2 - y_{20}) \\ &+ \frac{1}{2!} g_{11}(y_1 - y_{10})^2 + \frac{1}{2!} g_{22}(y_2 - y_{20})^2 \\ &+ g_{12}(y_1 - y_{10})(y_2 - y_{20}). \end{aligned}$$

En donde los coeficientes g_i y g_{ij} son las derivadas de primer y segundo grado respectivamente dadas por (2.2.4) y (2.2.5). Haciendo uso de la definición de l , y repartiendo el factor de interacción entre las dos variables implicadas, se tiene

$$\begin{aligned} T_2(w(y_1, y_2), (y_{10}, y_{20})) &= w(y_{10}, y_{20}) \\ &+ \left(g_1 + \frac{1}{2} g_{11} l_1 + \frac{1}{2} g_{12} l_2 \right) l_1 + \left(g_2 + \frac{1}{2} g_{22} l_2 + \frac{1}{2} g_{12} l_1 \right) l_2 \end{aligned}$$

lo que también se puede escribir como

$$w_{\text{PL2}}(l) = w_0 + \left(g_1 + \frac{1}{2} g_{11} l_1 + \frac{1}{2} g_{12} l_2 \right) l_1 + \left(g_2 + \frac{1}{2} g_{22} l_2 + \frac{1}{2} g_{12} l_1 \right) l_2.$$

2.2. El modelo potencial de segundo grado.

La representación cartesiana es inmediata al tomar la exponencial de cada miembro:

$$v_{\text{PL2}}(\mathbf{x}) = v_0 \left(\frac{x_1}{x_{10}} \right)^{g_1 + \frac{1}{2}(g_{11}l_1 + g_{12}l_2)} \left(\frac{x_2}{x_{20}} \right)^{g_2 + \frac{1}{2}(g_{12}l_1 + g_{22}l_2)}, \quad (2.2.14)$$

pudiendo escribir también

$$v_{\text{PL2}}(\mathbf{x}) = v_0 X_1^{g_1 + \frac{1}{2}(g_{11}l_1 + g_{12}l_2)} X_2^{g_2 + \frac{1}{2}(g_{12}l_1 + g_{22}l_2)}, \quad (2.2.15)$$

o equivalentemente

$$v_{\text{PL2}}(\mathbf{x}) = v_0 X_1^{G_1(l)} X_2^{G_2(l)}, \quad (2.2.16)$$

según las definiciones de X_i y $G_i(l)$ dadas anteriormente.

2.2.1.2.- La ley potencial de segundo grado como superficie cuadrática. La aproximación PL2 en coordenadas logarítmicas es una superficie cuadrática definida como

$$w_{\text{PL2}} = T_2(w(\mathbf{y}), \mathbf{y}_0)$$

cuya expresión matricial es

$$w_{\text{PL2}} = w_0 + \mathbf{l}'\mathbf{g} + \frac{1}{2}\mathbf{l}'\mathbf{G}\mathbf{l} \quad (2.2.17)$$

siendo \mathbf{g} el vector (gradiente de w_{PL2}) constituido por los coeficientes de primer orden:

$$\mathbf{g} = (g_1, \dots, g_n)', \quad (2.2.18)$$

y \mathbf{G} la matriz simétrica (hessiana de w_{PL2}) formada por los coeficientes de segundo orden:

$$\mathbf{G} = \begin{pmatrix} g_{11} & \cdots & g_{1n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ g_{1n} & \cdots & g_{nn} \end{pmatrix}. \quad (2.2.19)$$

A partir de \mathbf{g} y de \mathbf{G} se puede definir la matriz Γ de (2.2.10) como la matriz particionada

$$\Gamma = \left[\mathbf{g} \mid \frac{1}{2} \mathbf{G} \right]. \quad (2.2.20)$$

Como superficie cuadrática, w_{PL2} va a tener un único punto singular en el que se anula su gradiente. En principio, este punto puede ser un máximo (si w_{PL2} es una superficie convexa), un mínimo (si se trata de una superficie cóncava) o un punto de ensilladura o *mini-max*. La derivada de w_{PL2} respecto al vector de variables \mathbf{l} es inmediata y viene dada por

$$\frac{\partial w_{\text{PL2}}}{\partial \mathbf{l}} = \mathbf{g} + \mathbf{G} \mathbf{l} \quad (2.2.21)$$

y se anula en el punto \mathbf{l}_s definido por

$$\mathbf{l}_s = -\mathbf{G}^{-1} \mathbf{g}. \quad (2.2.22)$$

En este punto, la magnitud de w_{PL2} resulta ser

$$w_{\text{PL2}_s} = w_0 - \frac{1}{2} \mathbf{g}' \mathbf{G}^{-1} \mathbf{g} = \frac{1}{2} \mathbf{g}' \mathbf{l}_s. \quad (2.2.23)$$

Al representar con w_{PL2} a un proceso catalizado enzimáticamente, cabe esperar que en \mathbf{l}_s alcance un valor máximo, ya que la saturación es una de las no linealidades fundamentales que caracterizan a este tipo de mecanismos y ésta se traduce en la existencia de un valor (asintótico) máximo para la función que los describe. La condición de máximo para \mathbf{l}_s depende de que la hessiana \mathbf{G} sea definida negativa (de este modo la forma cuadrática inducida por \mathbf{G} es siempre $\mathbf{l}' \mathbf{G} \mathbf{l} < 0$ para cualquier \mathbf{l} no nulo y, por tanto, la superficie definida por w_{PL2} es convexa). Que \mathbf{G} sea definida negativa se concluye al comprobar si todos sus autovalores son negativos. Mas adelante, en el apartado 3 de este capítulo, se profundizará en el análisis basado en el espectro de \mathbf{G} . Baste considerar aquí, que es posible caracterizar la naturaleza de \mathbf{G} sin necesidad de calcular sus autovalores. El *criterio de Sylvester* (véase Burgos, 1977) establece que \mathbf{G} es definida negativa si sus menores principales¹ Δ_k verifican

$$(-1)^k \Delta_k > 0 \quad (2.2.24)$$

para $k=1, \dots, n$.

¹ El menor principal de orden k , Δ_k , es el determinante de la submatriz de \mathbf{G} formada por los elementos g_{ij} con $i, j=1, \dots, k$. Así: $\Delta_1 = g_{11}$, $\Delta_2 = g_{11}g_{22} - g_{12}^2$, etc.

2.2.1.3.- Representación de segundo grado de sistemas generales de orden n . Siguiendo la notación mas difundida en la BST, el comportamiento dinámico de un sistema de orden n va a venir dado por un sistema de n ecuaciones diferenciales, relativas a otras tantas variables de estado (o dependientes), y donde pueden intervenir también m variables independientes (o de perturbación).

La consideración de mas de una etapa de velocidad hace necesario introducir un nuevo subíndice que las identifique. En adelante se seguirá el siguiente convenio respecto a los subíndices. Cada coeficiente g , de los definidos en (2.2.4) y en (2.2.5), presentará tres subíndices: el primero identificará a la ley de velocidad, el segundo a la variable base de la que $G(I)$ es exponente, y el tercero a la variable que aparece como factor en la expresión (2.2.9) que define a $G(I)$. Con el fin de utilizar siempre el mismo número de subíndices, en el caso de los coeficientes relativos a las derivadas primeras, el tercer subíndice será cero. De este modo, la expresión general de segundo grado para la etapa i -ésima vendrá dada por

$$v_{PL2i} = v_{i0} \prod_{j=1}^{n+m} \left(\frac{x_j}{x_{j0}} \right)^{g_{ij0} + \frac{1}{2} \sum_{k=1}^{n+m} g_{ijk} l_k} \quad (2.2.25)$$

A continuación se especifica la expresión de segundo grado para sistemas de orden n según las dos representaciones fundamentales de la BST: la representación GMA (caso de no agregación) y los sistemas S (agregación en dos procesos netos: influjo y eflujo).

a) Representación de sistemas GMA. Basando la representación en el uso de la matriz de incidencia, la GMA no impone restricciones sobre los valores de m_{ij} , de manera que, genéricamente, la variación del componente x_i viene dada por

$$\dot{x}_i = \sum_{j=1}^r m_{ij} v_j(\mathbf{x}), \quad i=1, \dots, n. \quad (2.2.26)$$

Cuando las etapas $v_i(\mathbf{x})$ están descritas en términos de la formulación de segundo grado, la representación GMA, en su forma desarrollada, queda definida mediante el sistema de ecuaciones diferenciales

$$\dot{x}_i = \sum_{j=1}^r m_{ij} v_{j0} \prod_{k=1}^{n+m} \left(\frac{x_k}{x_{k0}} \right)^{g_{jk0} + \frac{1}{2} \sum_{q=1}^{n+m} g_{jkq} l_q} \quad (2.2.27)$$

con $i=1, \dots, n$, y que designaremos como GMA_{PL2} en contraste con los GMA_{PL1} que se corresponden con el formalismo de primer grado.

b) Representación de sistemas S. La representación como sistema S supone la agregación de las etapas que afectan a cada uno de los nodos. Aunque la agregación se puede realizar según diferentes pautas o estrategias, la representación final siempre tiene la forma general (véase Sorribas y Savageau, 1989; Savageau, 1991a)

$$\dot{x}_i = V_i - V_{-i}; \quad i=1,\dots,n \quad (2.2.28)$$

en donde V_i y V_{-i} representan, respectivamente, al influjo y al eflujo agregados sobre x_i . Si estos flujos agregados son descritos mediante modelos de segundo grado, la representación como sistema S viene dada, de forma general, por:

$$\dot{x}_i = v_{i0} \prod_{j=1}^n \left(\frac{x_j}{x_{j0}} \right)^{g_{ij0} + \frac{1}{2} \sum_{k=1}^n g_{ijk} l_k} - v_{-i0} \prod_{j=1}^n \left(\frac{x_j}{x_{j0}} \right)^{h_{ij0} + \frac{1}{2} \sum_{k=1}^n h_{ijk} l_k}; \quad i = 1, \dots, n, \quad (2.2.29)$$

en donde se ha intentado mantener la notación propia de la BST, de manera que los coeficientes "h" tienen el mismo significado respecto a V_{-i} que el de los "g" respecto a V_i .

De forma mas compacta, y según los elementos introducidos anteriormente, la (2.2.29) se puede escribir como:

$$\dot{x}_i = v_{i0} \prod_{j=1}^n X_j^{G_{ij}(l)} - v_{-i0} \prod_{j=1}^n X_j^{H_{ij}(l)}; \quad i = 1, \dots, n \quad (2.2.30)$$

siendo, por extensión, $H_{ij}(l)$ la misma función que $G_{ij}(l)$ solo que relativa al eflujo V_{-i} .

La expresión (2.2.30) es independiente de la estrategia de agregación que se haya podido considerar. Mas adelante, en el apartado 2.2.6, se tratará con detalle la agregación, como ley de composición interna, para funciones de segundo grado.

2.2.1.4.- Espacios Π_1^L y Π_2^L de aproximaciones polinómicas. Dado que el formalismo de la ley potencial, en su forma genérica, supone la definición de un polinomio de primer grado en el espacio doble logarítmico para representar a un proceso dado, parece natural concebir las aproximaciones w_{PL1} como elementos del anillo Π de los polinomios. Como esta forma polinómica es relativa al espacio doble logarítmico, distinguiremos al conjunto de los polinomios desarrollados en dicho espacio como Π_n^L , indicándose con n el grado de los polinomios considerados. De este modo, se pueden establecer las relaciones $w_{PL1} \in \Pi_1^L$ y $w_{PL2} \in \Pi_2^L$.

Por otra parte, la existencia de las aproximaciones polinómicas a w viene garantizada por su propia naturaleza. Por tratarse de la formalización de un fenómeno físico, es natural que las funciones de velocidad, o sus logaritmos, sean (infinitamente) diferenciables y acotadas en todo rango de definición de las variables. Por tanto, las condiciones de convergencia que establece el teorema de Taylor (véase p.e. Apostol, 1989) garantizan que la aproximación en Π_2^L es *mejor aproximación* a w que la aproximación en Π_1^L .

2.2.1.5.- Algunas consideraciones comparativas entre las aproximaciones de primer y segundo grado. Además de la inclusión de un término adicional del desarrollo en serie de Taylor, la formulación PL2 introducida en este apartado presenta dos novedades mas: 1) un cambio de escala en las variables de concentración, y 2) la consideración de una constante aparente de velocidad diferente, que surge como consecuencia de la anterior.

El cambio de escala de las variables viene dado al considerar sus valores en términos relativos a su valor nominal. Se incluya o no el término de segundo grado de la serie, esta normalización de las x_i respecto a sus respectivos valores nominales x_{i0} , es un principio que ya está implícito en el formalismo de la ley potencial. Siguiendo la notación original introducida por Savageau (véase por ejemplo Savageau, 1969; 1970; 1976), la ley potencial que describe una cinética n -dimensional viene dada por:

$$v_i = \alpha_i \prod_{j=1}^n x_j^{g_{ij}},$$

cuyos parámetros ya se han definido como

$$\alpha_i = \frac{v_{i0}}{\prod_{j=1}^n x_{j0}^{g_{ij}}}; \quad g_{ij} = \left. \frac{\partial \ln v_i(\mathbf{x})}{\partial \ln x_j} \right|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0}.$$

Por tanto, es inmediato considerar

$$\frac{v_{i0}}{\prod_{j=1}^n x_{j0}^{g_{ij}}} \prod_{j=1}^n x_j^{g_{ij}} = v_{i0} \prod_{j=1}^n \left(\frac{x_j}{x_{j0}} \right)^{g_{ij}}. \quad (2.2.31)$$

sin que por ello se altere la filosofía de la formulación. Sin embargo, las variables implicadas son ahora los índices $X_i = x_i/x_{i0}$, cada uno de los cuales constituye

la variación, expresada en tanto por uno, que representa x_i respecto a su valor nominal x_{i0} . Este cambio de variables va a tener algunas consecuencias de interés.

- (1) Por una parte, las X_i son adimensionales, por tanto, al considerarlas como variables explicativas del modelo, hacen que éste sea insensible a los cambios en las unidades de medida en que vienen expresadas las variables originales.
- (2) Por otra parte, un cambio porcentual en la variable original x_i se traduce en un cambio en la misma proporción en el índice X_i , ya que si $x_i' = k x_i$ se verifica que $X_i' = k X_i$ para cualquier constante k , de manera que las variaciones relativas a x_i se interpretan igualmente al aludir a X_i . En este sentido es interesante destacar la identidad

$$\frac{\partial \ln v_i}{\partial l_j} = \frac{\partial \ln v_i}{\partial \ln x_j} \quad (2.2.32)$$

ya que, según las reglas elementales de derivación, se verifica:

$$\frac{\partial \ln v_i}{\partial l_j} = \frac{x_j}{x_{j0}} \frac{\partial \ln v_i}{(1/x_{j0}) \partial x_j}.$$

- (3) Finalmente, la situación $X_i=1$ se presta a una interpretación inmediata, ya que indica que la variable en cuestión se mantiene exactamente en su valor nominal.

Además de las consecuencias descritas, que son inherentes a la propia naturaleza de las variables, la igualdad (2.2.31) pone de manifiesto cómo la normalización de las variables *descarga* a la constante aparente de velocidad α_i de la cantidad de parámetros que en esta se aglutinan (estos son: el valor nominal de la velocidad $v_{i0} = v_i(\mathbf{x}_0)$, los órdenes cinéticos aparentes g_{ij} y los valores nominales x_{j0} ; apareciendo de estos dos últimos tipos, tantos parámetros como variables tenga el modelo). Así, esta constante cobra un significado mucho más intuitivo, puesto que pasa a ser el valor de la velocidad cuando todas las variables permanecen en su valor nominal (es decir, $\mathbf{X}=1$ y por tanto $\alpha_i = v_{i0}$).

La consideración de los índices X_i como las variables del sistema, introduce cierta heterogeneidad en la definición de las ecuaciones diferenciales, puesto que vienen dadas en términos de la variación de las x_i . Sin embargo, la *normalización* es inmediata si se asume como constante aparente de velocidad

$$v'_{ij0} = \frac{v_{i0}}{x_{j0}} \quad (2.2.33)$$

lo que, por ejemplo, permite escribir el sistema (2.2.27) como

$$\dot{X}_i = \sum_{j=1}^r \left[m_{ij} v'_{ij0} \prod_{k=1}^{n+m} X_k^{G_{jk}(l)} \right] \quad (2.2.34)$$

y al (2.2.30) como

$$\dot{X}_i = v'_{i0} \prod_{j=1}^n X_j^{G_{ij}(l)} - v'_{-i0} \prod_{j=1}^n X_j^{H_{ij}(l)} \quad (2.2.35)$$

siempre para $i=1, \dots, n$.

Cuando el modelo considerado es el de segundo grado, la semejanza estructural con el de primer grado es inmediata al escribir

$$v_i = \alpha_i \prod_{j=1}^n X_j^{G_{ij}(l)} \quad (2.2.36)$$

en donde ahora $\alpha_i = v_{i0}$ y habida cuenta de que la normalización de variables está, como ya se ha dicho, implícita en la formulación potencial original. Sin embargo, es procedente puntualizar que la función $G_{ij}(l)$, que intuitivamente actúa como un orden cinético aparente dependiente de la distancia al centro de aproximación, no se corresponde exactamente con este concepto si nos atenemos a su definición. El *orden cinético aparente* (OCA) de la variable x_i con respecto a la ley de velocidad v fue definido originalmente por Savageau (1969b) como

$$\text{OCA}(v, x_i) = \frac{\partial \ln v(\mathbf{x})}{\partial \ln x_i}, \quad (2.2.37)$$

siendo inmediato comprobar que $G_{ij}(l)$ coincide con este valor tan solo cuando $l=0$. De hecho, es que no es correcto representar la aproximación a v_i como el producto de una constante (α_i) por el valor de cada una de las variables elevadas a la pendiente logarítmica en cada punto. Es decir, la expresión

$$\alpha_i \prod_{j=1}^n X_j^{\partial \ln v_i / \partial \ln x_j} \quad (2.2.38)$$

no es válida como aproximación a v_i . Debe tenerse en cuenta que si la pendiente, en coordenadas logarítmicas, no se valora en x_0 , entonces v_{i0} (o α_i) que representa a la ordenada en el origen, deja de ser un parámetro adecuado para dar validez a la aproximación según establece el teorema de Taylor.

Tabla 2.2.1.- Resumen esquemático de la equivalencia entre las representaciones PL1 y PL2.

Representación	PL1	PL2
Original	$v_i(\mathbf{x}) = \alpha_i \prod_{j=1}^n x_j^{g_{ij}}$	
	con	
	$\alpha_i = \frac{v_{i0}}{\prod_{j=1}^n x_{j0}^{g_{ij}}}; g_{ij} = \left. \frac{\partial \ln v_i(\mathbf{x})}{\partial \ln x_j} \right _{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0}$	
Alternativa	$v_i(\mathbf{x}) = \alpha_i \prod_{j=1}^n X_j^{g_{ij0}}$	$v_i(\mathbf{x}) = \alpha_i \prod_{j=1}^n X_j^{G_{ij}(l)}$
	con	
	$g_{ij0} = g_{ij}; X_j = x_j / x_{j0}; \alpha_i = v_i(\mathbf{x}_0); G_{ij}(l) = g_{ij0} + \frac{1}{2} \sum_{k=1}^n g_{ijk} l_k$	

2.3. Representación de segundo grado de mecanismos cinéticos con una variable de concentración.

En este apartado se va a analizar la formulación de segundo grado sobre procesos irreversibles donde solo interviene una variable de concentración. Las leyes cinéticas más habituales para describir estos mecanismos son las dadas por la ecuación de Michaelis-Menten y por la ecuación de Hill. Desde el punto de vista matemático, los dos tipos de leyes se pueden agrupar dentro de una misma familia cuyos miembros se van a caracterizar en función del grado de cooperatividad. Por tanto, se estudiarán las dos cinéticas de forma conjunta, entendiendo que la primera es un caso particular de la segunda que se da cuando no hay cooperatividad.

Otro mecanismo de particular interés, y que implica a una sola variable de concentración, es la inhibición por sustrato. Cuando se da este fenómeno, las curvas de saturación pueden presentar un máximo efectivo (no asintótico) ofreciendo un perfil que servirá de referencia para otras situaciones que se estudiarán más adelante.

2.3.1. Formulación del modelo PL2 para la ecuación de Hill

En la notación habitual, la ecuación de Hill viene dada por la expresión

$$v(x) = \frac{V_{max} x^n}{k_m^n + x^n} \quad (2.3.1)$$

en donde $v(x)$ representa la velocidad de consumo del sustrato x de la reacción, V_{max} es la velocidad máxima, k_m es la concentración de sustrato semisaturante, y n es el coeficiente de Hill. Definiendo $y = \ln x$ y aplicando sobre esta expresión el operador de Taylor de segundo orden

$$T_2(\ln v(e^y), y_0) \quad (2.3.2)$$

se obtiene la formulación PL2, que en coordenadas cartesianas viene dada por:

$$v_{PL2} = v_0 \left(\frac{x}{x_0} \right)^{g_1 + \frac{1}{2} g_2 \ln(x/x_0)} \quad (2.3.3)$$

en donde $v_0 = v(x_0)$ y los coeficientes g_1 y g_2 representan a las derivadas logarítmicas primera y segunda respectivamente, que son:

$$g_1 = \frac{n k_m^n}{k_m^n + x_0^n} \quad (2.3.4)$$

$$g_2 = -\frac{n^2 k_m^n x_0^n}{(k_m^n + x_0^n)^2} = -n g_1 (1 - g_1). \quad (2.3.5)$$

La reducción del grado que da lugar a la representación PL1 es inmediata, basta con considerar $g_2=0$ para obtener

$$v_{PL1} = v_0 \left(\frac{x}{x_0} \right)^{g_1}, \quad (2.3.6)$$

o bien, como es mas habitual expresar en el contexto de la BST:

$$v_{PL1} = \alpha x^{g_1} \quad (2.3.7)$$

en donde

$$\alpha = \frac{v_0}{x_0^{g_1}}. \quad (2.3.8)$$

En la figura (2.3.1) se representan las funciones v , v_{PL1} y v_{PL2} en coordenadas cartesianas y logarítmicas.

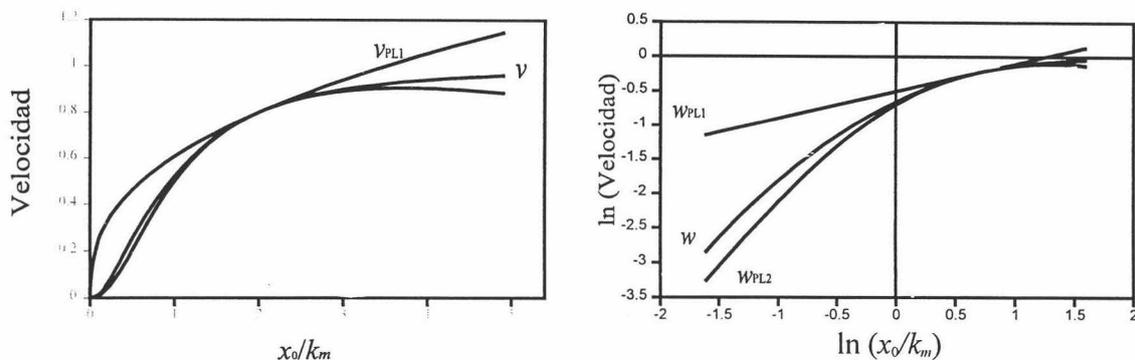


Figura 2.3.1.- Representación de la ecuación de Hill (V) y de las aproximaciones PL1 y PL2 en coordenadas cartesianas (izq.) y logarítmicas (dcha.). La velocidad está normalizada respecto a V_{max} y la concentración respecto a k_m . El coeficiente de Hill utilizado es $n=2$ y el centro de aproximación es $x_0 = 2k_m$.

2.3. Representación PL2 de mecanismos cinéticos univariantes.

En términos de las aproximaciones PL1 y PL2 a la ecuación de Hill, hay tres valores de x de particular interés (Voit y Savageau, 1987): 1) el correspondiente al punto de inflexión de la curva x_I ; 2) el valor *crítico* x_C que da lugar a un coeficiente g_1 unitario; y 3) el correspondiente a la concentración de sustrato semisaturante k_m . Los dos primeros vienen dados por las expresiones:

$$x_I = k_m \left(\frac{n-1}{n+1} \right)^{1/n} \quad (2.3.9)$$

$$x_C = k_m (n-1)^{1/n} \quad (2.3.10)$$

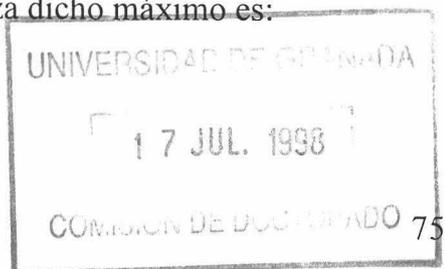
Cuando $n=1$ la cinética es hiperbólica y tanto x_I como x_C se anulan. Cuando $n>1$, la cinética es sigmoideal y se verifica:

$$x_I < x_{0.5} < x_C.$$

En la medida en que aumenta la sigmoicidad $x_I \rightarrow k_m$ de manera monótona. Sin embargo, la posición de x_C respecto a k_m cambia de forma distinta al aumentar el valor del coeficiente de Hill. Cuando $n=2$ se tiene $x_C = k_m$. A medida que aumenta n , también lo hace x_C hasta alcanzar el valor máximo $x_C = 1.32k_m$ que corresponde a un coeficiente $n=4.69$. Sin embargo, valores de n superiores al indicado dan lugar a una reducción de x_C que se aproximará nuevamente a k_m de forma asintótica (véase el gráfico superior de la figura (2.3.3)).

Como han puesto de manifiesto Voit y Savageau (1987), la calidad de la aproximación PL1 a la ecuación de Hill depende del grado de sigmoicidad y de la relación del centro de aproximación x_0 respecto a los puntos x_I y x_C . El análisis comparativo con la aproximación lineal se resume en la tabla (2.3.1), de donde puede concluirse que la aproximación PL1 resulta menos apropiada cuando su forma es convexa.

Los coeficientes g_1 y g_2 obtenidos al aproximar la ecuación de Hill, van a ser siempre $g_1 > 0$ y $g_2 < 0$, por tanto, la función de segundo grado será una parábola convexa en el espacio doble logarítmico. Al igual que ocurre con la aproximación PL1, la calidad de la aproximación PL2 depende de la sigmoicidad de la curva y de la elección del centro de aproximación. Mientras que la aproximación PL1 sobrestima siempre los valores de $v(x)$ al alejarse del centro x_0 , la PL2 se va a caracterizar por presentar un valor máximo a partir del cual normalmente se subestimarán a $v(x)$. El punto x_m en el que se alcanza dicho máximo es:



$$x_m = x_0 \exp\left(\frac{k_m^n + x_0^n}{nx_0^n}\right). \quad (2.3.11)$$

El valor que de $v_{PL2}(x_m)$ depende especialmente de la magnitud de x_0 . Si $x_0 < x_I$ entonces $v_{PL2}(x_m)$ es extraordinariamente alto y la parábola original se deforma en el entorno de x_0 mostrándose localmente cóncava. Se trata de la misma deformación que sufre PL1, ya que $g_2 \rightarrow 0$ y la función está dominada por la magnitud del coeficiente $g_1 \rightarrow n$. En la figura (fig 2.3.2-a) se representan los valores que toma $v_{PL2}(x_m)$, en función de la elección de x_0 , para distintos grados de sigmoicidad. Cuando el centro de aproximación es $x_0 = k_m$, el máximo alcanzado por v_{PL2} es independiente de los demás parámetros del modelo¹. Además, dicho máximo es el mínimo de los que se pueden alcanzar al variar x_0 . En la (fig 2.3.2-b) aparecen los perfiles de funciones PL2 centradas en $x_0 = k_m$ para diferentes coeficientes de Hill. Se puede observar la constancia del máximo que no alcanza el valor de V_{max} y la tendencia de v_{PL2} a adoptar la forma de una campana de Gauss para valores elevados de n .

Tabla 2.3.1.- Comparación cualitativa entre las aproximaciones PL1 y lineal¹ según los valores del coeficiente de Hill y del centro de aproximación (resumido a partir de Voit y Savageau, 1987).

Coeficiente de Hill	Relación entre x_0 y los puntos críticos		Carácter de PL1	Mejor aproximación global
$n = 1$	-		convexa	PL1
$n > 1$	$x_C < x_0$	$x_0 < x_I$	cóncava	PL1/Lineal ⁽²⁾
		$x_I < x_0 < x_C$	cóncava	Lineal
	$x_0 = x_C$		lineal	PL1 \equiv Lineal ⁽³⁾
	$x_0 > x_C$		convexa	PL1

¹ Aproximación del tipo $v=ax+b$

² Depende de los parámetros cinéticos

³ Las dos aproximaciones son idénticas ($g_1=1$)

La representación de los valores de g_1 y g_2 frente a x_0 de la figura (2.3.3) permite apreciar la diferencia de magnitud entre estos coeficientes en función de la relación que mantenga con los puntos críticos. Mientras que g_1 presenta una

¹ A esta conclusión se puede llegar por otra vía. Como $g_2 = -n g_1(1-g_1)$, el producto $g_1(1-g_1)$ se maximiza cuando $g_1=0.5$, lo que ocurre, en las cinéticas del tipo considerado, cuando $x_0 = k_m$.

2.3. Representación PL2 de mecanismos cinéticos univariantes.

variación monótonamente decreciente, g_2 presenta un máximo en $x_0 = k_m$. Este máximo no solo pone de manifiesto la mayor curvatura de $v(x)$ en este punto, sino que también permite acotar el error de aproximación de v_{PL1} en el entorno de x_0 . El error debido al truncamiento de la serie de Taylor tras el primer término en la aproximación v_{PL1} , puede expresarse como (Apostol, 1989a):

$$E_1(y) = \int_{y_0}^y (y-t) w''(e^t) dt \quad (2.3.12)$$

En donde la derivada segunda $w''(e^y)$ es el coeficiente g_2 . Normalmente, este tipo de expresiones para el error no son de mucha utilidad práctica, a no ser que se disponga de cierta información sobre $w''(e^y)$. Cuando es posible acotar este valor, se puede dar una estimación de $E_1(y)$, de manera que si se conocen dos valores m y M que verifiquen

$$m \leq w''(e^y) \leq M \quad (2.3.13)$$

$E_1(y)$ queda acotado por (Apostol, 1989a):

$$m \frac{(y-y_0)^2}{2!} \leq E_1(y) \leq M \frac{(y-y_0)^2}{2!}. \quad (2.3.14)$$

En nuestro caso, la magnitud de g_2 es máxima cuando $x_0 = k_m$, y toma el valor

$$g_{2(x_0=k_m)} = \frac{n^2}{4} \quad (2.3.15)$$

de forma que, en general se puede acotar:

$$0 \leq g_2 \leq \frac{n^2}{4} \quad (2.3.16)$$

y, por tanto la magnitud del error de v_{PL1} en el entorno de x_0 , debido al truncamiento de la serie, viene acotada por:

$$|E_1(y)| \leq \frac{n^2}{8} (y-y_0)^2. \quad (2.3.17)$$

Esta expresión pone de manifiesto que para un intervalo $(y-y_0)$ fijo, el orden de crecimiento del error por truncamiento de la serie es cuadrático respecto a la sigmoicidad de la curva.

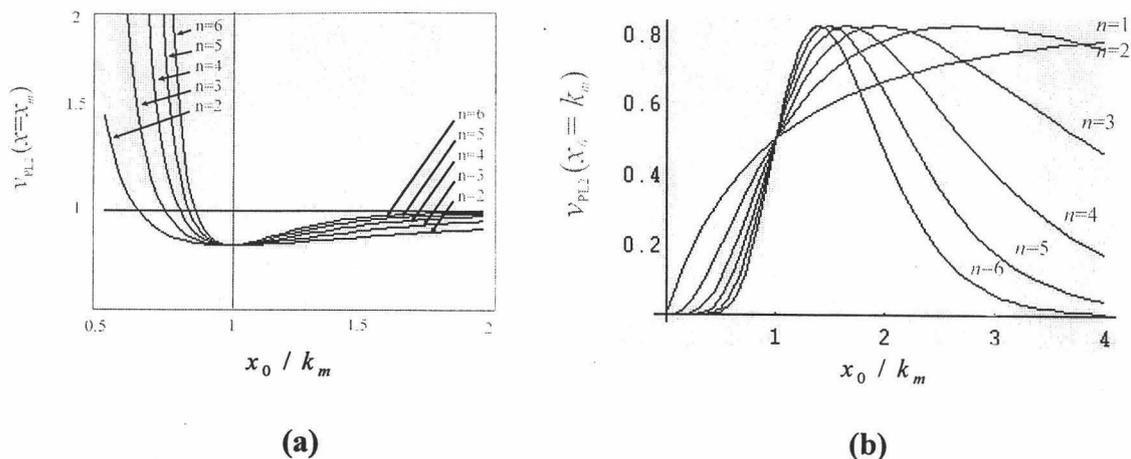


Figura 2.3.2.- (a) Variación del máximo de $v_{PL2}(x)$ según el centro de aproximación normalizado por el valor de k_m para diferentes valores del coeficiente de Hill. (b) perfiles de las funciones $v_{PL2}(x)$ centradas en $x_0=k_m$ para diferentes valores del coeficiente de Hill (se ha asumido $V_{max}=1$ en la ecuación original).

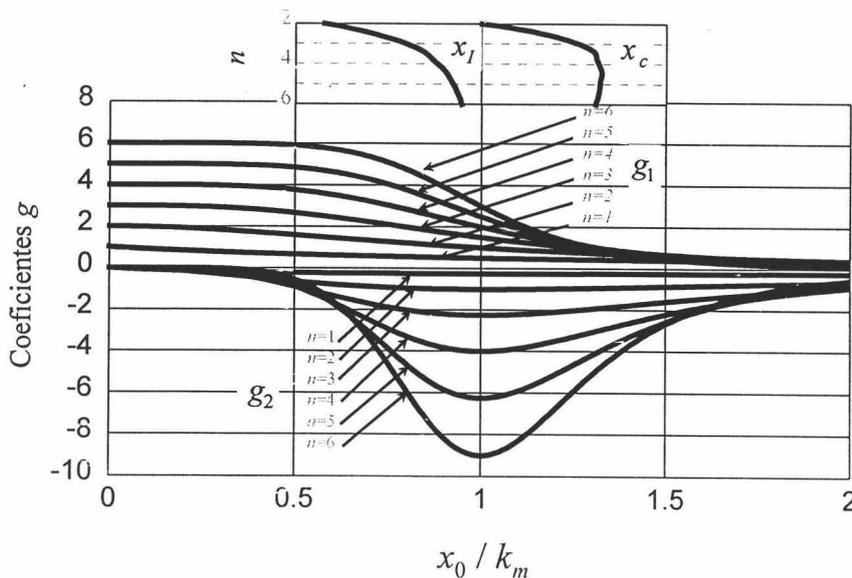


Figura 2.3.3.- Variación de los coeficientes g_1 y g_2 en función del valor asumido para x_0 (normalizado con k_m). En la parte superior de la gráfica aparecen representados los valores x_I y x_C para una variación decreciente de la sigmoicidad (los valores de las abscisas se corresponden con el eje del gráfico principal).

Este aumento del error en relación con el coeficiente de Hill se puede apreciar en los diagramas de contorno representados en la figura (2.3.4). Los contornos

2.3. Representación PL2 de mecanismos cinéticos univariantes.

corresponden a variaciones del 10% en el error relativo, calculado para v_{PL1} y v_{PL2} respectivamente, como

$$E_{R_{PL1}} = |v_{PL1} - v|/v \text{ y } E_{R_{PL2}} = |v_{PL2} - v|/v. \quad (2.3.18)$$

El aumento del error con la sigmoicidad es más notable cuando la aproximación se realiza sobre valores de x_0 inferiores a k_m . Los contornos permiten apreciar cómo la validez de las dos aproximaciones es muy reducida cuando el centro de aproximación es un valor inferior a k_m . La elección de x_0 en la zona de saturación (representado como $x_0 = 3k_m$) da lugar a intervalos de aproximación más amplios para una tolerancia del error dada. Sin embargo, si la concentración de sustrato *in vivo* es, como proponen numerosos autores, próxima al valor de k_m , esta elección de x_0 es poco adecuada (especialmente si la cinética es sigmoideal). La representación con $x_0 = k_m$ pone de manifiesto que v_{PL1} es convexa si $n > 2$, por lo que en seguida se supera el error del 100%. En cuanto a v_{PL2} , la situación es la misma que la representada en la figura (2.3.2-b), en que el máximo de la parábola es el más reducido posible e inferior a V_{max} . La aproximación sobre $x_0 = 2k_m$ puede representar el compromiso entre las demás situaciones. v_{PL1} es cóncava y para una tolerancia del 10% se puede admitir un intervalo de validez de aproximadamente $(k_m - 3k_m)$. Obsérvese que la superioridad de la aproximación PL2 sobre la PL1 es más relevante cuando la cinética es hiperbólica o con una sigmoicidad moderada.

2.3.2. Una función no monotónica: la cinética de inhibición por sustrato

Las causas más frecuentes de la inhibición por sustrato son la asociación incorrecta entre el enzima y el sustrato, dando lugar a complejos enzima-sustrato improductivos, y la asociación simultánea de dos moléculas de sustrato al centro activo del enzima formando un complejo ternario también improductivo (Westley, 1969). Si bien en el primer caso la cinética es de tipo hiperbólico, similar a la observada en los fenómenos de inhibición acompetitiva, en el segundo, se tiene una curva de saturación más particular, caracterizada por presentar un máximo tras el cual un aumento en la concentración de sustrato provoca una reducción de la velocidad de reacción. La ley de velocidad que describe este proceso es una función de tipo 1:2¹ dada por (Westley, 1969; Schulz, 1994):

¹ Funciones racionales en las que el numerador es un polinomio de primer grado respecto a la concentración de sustrato y el denominador es un polinomio de segundo grado respecto a la misma variable.

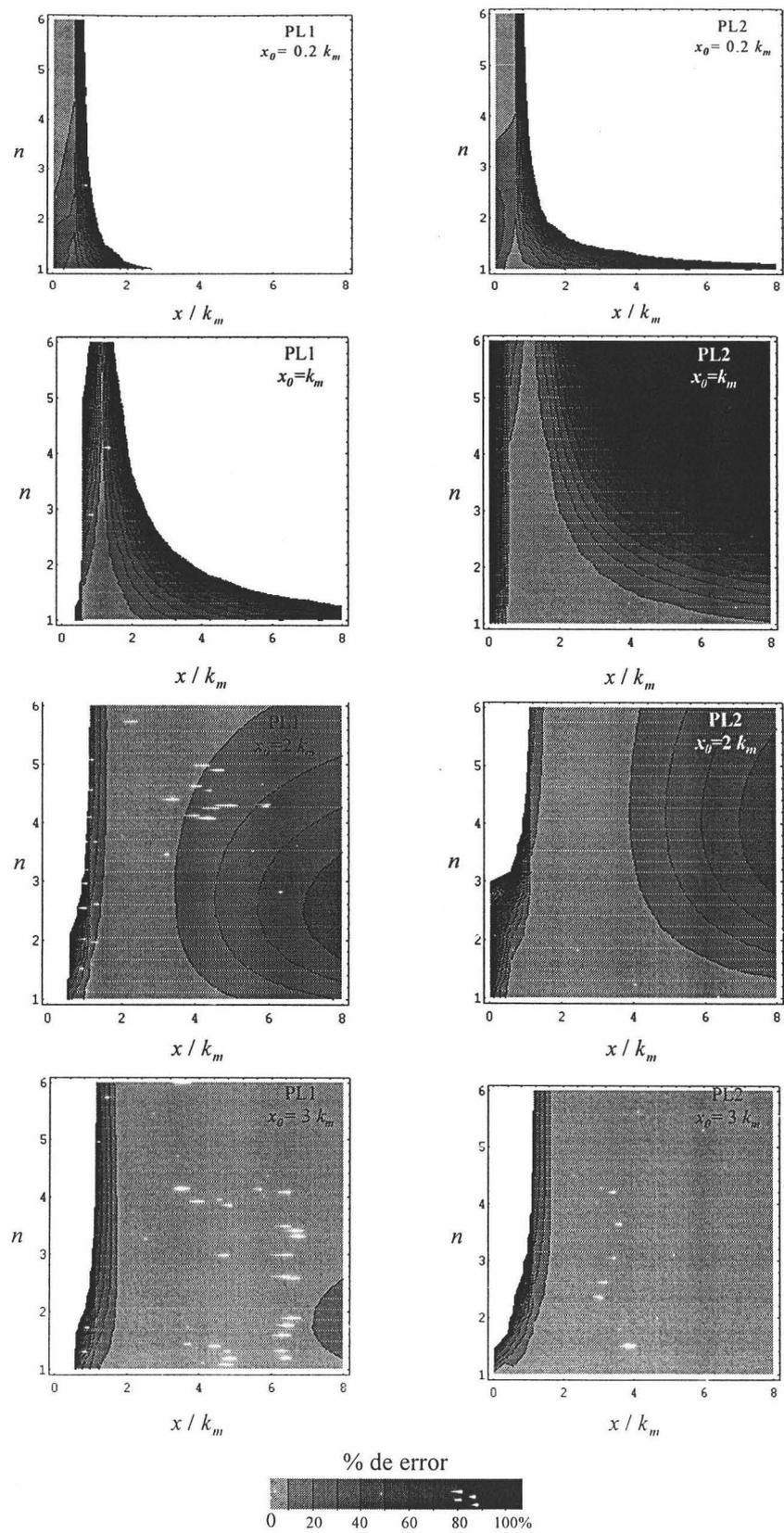


Figura 2.3.4.- Contornos para el error relativo de las aproximaciones v_{PL1} (diagramas de la izq.) y v_{PL2} (dcha.) según la elección de x_0 respecto a k_m en función de diferentes valores del coeficiente de Hill.

$$v = \frac{V_{max}x}{k_m + x + k_I x^2} \quad (2.3.19)$$

En donde k_I representa a la constante de equilibrio relativa a la asociación del enzima con dos moléculas de sustrato y el resto de los parámetros son los habituales de la cinética michaeliana. Esta expresión indica que a bajas concentraciones de sustrato la magnitud del término cuadrático no es relevante y la cinética es de tipo hiperbólico. Cuando la concentración de sustrato aumenta, también lo hace la probabilidad de formarse complejos ternarios improductivos, observándose el fenómeno de inhibición. En estas condiciones, la aproximación de segundo grado es especialmente eficiente, ya que la inhibición por sustrato queda aproximada por la parte decreciente de la rama parabólica.

Los coeficientes de la aproximación potencial vienen dados por:

$$g_1 = \frac{k_m - k_I x^2}{k_m + x + k_I x^2} \quad (2.3.20)$$

$$g_2 = -\frac{x(k_m + 4k_I k_m x + k_I x^2)}{(k_m + x + k_I x^2)^2} \quad (2.3.21)$$

reduciéndose a los propios de la cinética hiperbólica en la medida en que k_I se aproxime a cero.

La máxima velocidad alcanzable se dará cuando la concentración de sustrato sea:

$$x_m = \sqrt{k_m / k_I} \quad (2.3.22)$$

Si se toma x_m como centro de aproximación, el coeficiente g_1 se anula y la función de primer grado aparece como una recta horizontal. En este punto, la magnitud del coeficiente g_2 es máxima:

$$g_{2(x_0=x_m)} = \frac{-2k_m}{2k_m + \sqrt{k_m / k_I}}, \quad (2.3.23)$$

y el extremo de v coincide con el de v_{PL2} . La coincidencia de las dos curvas en el máximo proporciona una aproximación PL2 óptima para describir la cinética de inhibición por sustrato. El ajuste puramente estadístico de un modelo lineal (el PL1) en el entorno de este punto, llevaría a suponer la falta de asociación entre las medidas de velocidad de reacción y la concentración de x . Para valores $x < x_m$

el modelo PL1 consistiría en una curva cóncava, con un OCA positivo, mientras que para valores $x > x_m$ sería una curva convexa, con un OCA negativo. En consecuencia, el modelo PL1 no muy adecuado para describir el comportamiento que caracteriza a la cinética de inhibición por sustrato (figura 2.3.5).

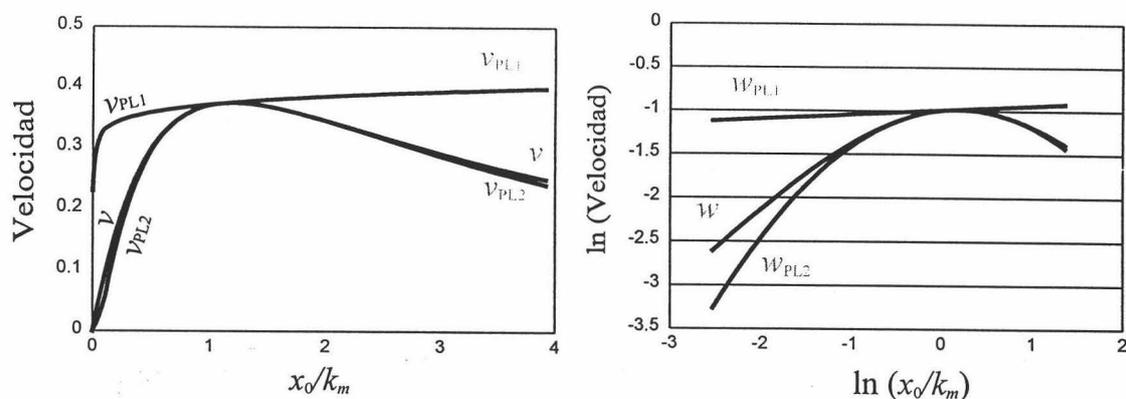


Figura 2.3.5.- Inhibición de la velocidad de consumo del sustrato x por unión de dos moléculas del mismo al centro activo del enzima: (izqda.) representación cartesiana, y (dcha.) representación logarítmica. La velocidad está estandarizada por V_{max} y la constante de inhibición es relativa a k_m : $k_I=0.7k_m$; El centro utilizado para las aproximaciones es $x_0=1.1k_m$, obteniéndose los parámetros $v_0=0.373$; $g_1=-0.052$ y $g_2=-0.634$. El valor de x_0 está muy próximo al valor crítico $x_m=(k_m/k_I)^{1/2}=1.192$, en el que la aproximación v_{PL1} sería una recta paralela al eje de abscisas.

La inhibición por sustrato puede ser un fenómeno poco frecuente, pero que se da en condiciones fisiológicas (Hochachka y Somero, 1984). Habitualmente se le describe asociado a mecanismos mas complejos de control, donde se dan transiciones entre múltiples estados estacionarios que son inducidas por señales desestabilizadoras. Boiteux *et al.* (1980), han sugerido un mecanismo de control del ciclo de sustrato que se da entre la fructosa bisfosfatasa (FBPasa, EC 3.1.3.11) y la fosfofructo kinasa (PFK, EC 2.7.1.11), en el que la inhibición de la FBPasa por su sustrato, la fructosa-1,6-bisfosfato (FBP), es fundamental para evitar el reciclaje que lleva al consumo fútil de energía en forma de ATP. Hervagault y Canu (1987), en un estudio sobre el mismo ciclo, han presentado un modelo matemático en el que describen la cinética de la FBPasa mediante la ecuación (2.3.19). Mas adelante, se elaborará un modelo basado en la aproximación PL2 sobre el mecanismo propuesto por Boiteux *et al.*

Al margen de su relevancia fisiológica, la cinética de inhibición por sustrato ofrece un modelo paradigmático de respuesta no monótona sobre el que la aproximación de primer grado no es satisfactoria. La deficiente

2.3. Representación PL2 de mecanismos cinéticos univariantes.

representatividad de esta aproximación a tal tipo de situaciones ha sido contemplada por Savageau (1991a), quien propone como alternativa mas ventajosa la introducción de variables adicionales según un programa de *reformulación* (o *recasting* en la literatura original; véase Savageau y Voit, 1987d).



2.4. Aproximación de segundo grado a cinéticas multireactivas

Cuando en las reacciones catalizadas enzimáticamente aparece implicada más de una variable de concentración¹, la complejidad matemática de las leyes clásicas que las describen es muy variable. Puede tratarse de expresiones tan sencillas como la obtenida a partir del producto de dos o más ecuaciones simples de tipo michaeliano, o bien tratarse de formulaciones extraordinariamente complejas, como la ecuación de la glutamina sintetasa, que contiene más de 500 términos en su forma más sencilla (Savageau, 1976; véase también Segel, 1993, para una revisión exhaustiva). Pero aunque se limite el estudio a los casos que revistan una complejidad moderada, como aquellos donde el número de parámetros no sea muy superior al de variables implicadas, la combinación de diferentes valores paramétricos genera tal variabilidad de perfiles cinéticos que resulta difícil caracterizar, de un modo sistemático, las peculiaridades de las aproximaciones a estos procesos basadas en el formalismo de la ley potencial.

2.4.1. Crítica a la metodología clásica de análisis de las cinéticas multireactivas

La forma habitual de analizar las cinéticas multireactivas es observar el perfil de saturación que resulta al modificar, secuencialmente, cada una de las variables de concentración manteniendo fijos los niveles de las restantes. A partir de esta *metodología clásica* de experimentación, se han desarrollado recursos que permiten, mediante la transformación adecuada de las variables, determinar el valor de los parámetros implicados y discriminar entre mecanismos cinéticos alternativos (véase Segel, 1982; 1993). Sin embargo, esta forma de proceder es discutible desde, al menos, dos puntos de vista. (1) Desde un punto de vista estadístico, no es una estrategia eficiente para estimar el valor de los parámetros implicados en el modelo (esta es una cuestión que se aborda de forma habitual en los textos sobre diseño experimental, p.e. véase Hicks, 1982; Box y Draper, 1987; Box, Hunter y Hunter, 1988; o Peña 1989b). Además, manteniendo esta perspectiva, la estimación de parámetros mediante transformaciones de las variables puede, en muchas ocasiones, no ser correcta, debiendo siempre someter a contraste el cumplimiento de las hipótesis que dan validez a las estimaciones. Por otra parte, (2) desde un punto de vista analítico, este método *clásico* no proporciona una visión global de las propiedades de la superficie representativa

¹ Se mantiene aquí la perspectiva michaeliana, según la cual la velocidad de reacción es proporcional a la concentración de enzima, que queda recogida en el parámetro V_{max} y no es considerada, en principio, como una variable de concentración.

del proceso. A continuación se va a desarrollar este último aspecto, dejando para apartados posteriores las cuestiones estadísticas mencionadas.

Básicamente, el fallo de la metodología clásica es que asume tácitamente que el valor de una variable es independiente del valor de las demás variables implicadas en el proceso. Para ganar en apreciación, pongamos como ejemplo dos mecanismos bien conocidos de inhibición enzimática: la inhibición competitiva y la acompetitiva. Consideremos sus formas más simples, en donde solo intervienen dos variables de concentración, el sustrato y el inhibidor, que representaremos respectivamente como x_1 y x_2 . Las leyes que describen estas cinéticas son:

$$v_c = \frac{V_m x_1}{k_1(1 + \frac{x_2}{k_2}) + x_1} \quad (2.4.1)$$

en el caso de la inhibición competitiva, y

$$v_a = \frac{V_m x_1}{k_1 + (1 + \frac{x_2}{k_2})x_1} \quad (2.4.2)$$

para la inhibición acompetitiva (e.g. Segel, 1993). En la figura 2.4.1 se representan las curvas de saturación habituales cuando se estudian estos procesos. En esta figura, las curvas de (a) y (b) se obtienen variando x_1 para tres niveles prefijados de x_2 . Análogamente, las curvas de (c) y (d) se obtienen variando x_2 para tres niveles prefijados de x_1 . A la vista de estas representaciones la diferencia entre un mecanismo y otro es poco evidente, y por ello se recurre a transformaciones de las variables que ofrecen representaciones lineales, como las de Dixon o las doble inversas, que permiten reconocer cada mecanismo y determinar el valor de los parámetros implicados (véase p.e. Westley, 1969; Savageau, 1976; Segel, 1993; Cornish-Bowden, 1995). Esta semejanza entre las curvas de saturación induce a pensar que el comportamiento de las aproximaciones potenciales va a ser el mismo en los dos casos, es decir, que la calidad de la aproximación sea la misma con independencia del mecanismo molecular subyacente, del que solo dan cuenta los modelos con base mecanicista descritos por (2.4.1) y (2.4.2).

Sin embargo, consideremos ahora una situación más realista en la que las concentraciones de sustrato y de inhibidor no sean independientes, de manera que la variación de una de las especies esté asociada a la variación de la otra. La forma en que se da esta dependencia se puede ilustrar con el sencillo ejemplo propuesto en la tabla 2.4.1. En él se hace uso de la filosofía propia de la BST para hacer explícita la relación funcional mantenida entre la concentración de dos

intermediarios, x_1 y x_2 , que participan en un proceso donde el primero actúa como precursor del segundo, quien a su vez actúa como retroinhibidor (esquema a de la figura). Centrando la atención sobre la concentración de x_2 , su variación queda descrita por la ecuación diferencial (b). En un régimen de estado estacionario, la concentración de x_2 se puede expresar en términos de la concentración de su precursor x_1 tal y como indica (c), o de forma más compacta (d).

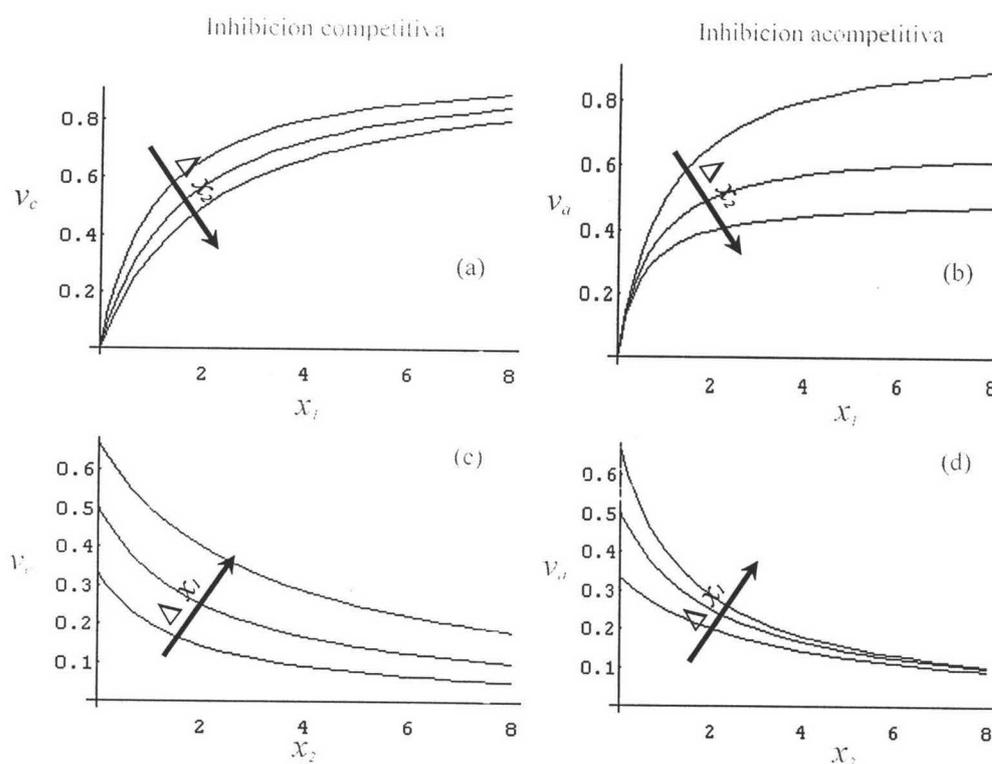


Figura 2.4.1.- Dos cinéticas clásicas de inhibición. Cada representación se ha obtenido variando la concentración de una de las especies para tres valores fijos de la otra. En (a) y (b) se modifica el sustrato x_1 y se parametriza el inhibidor x_2 . En (c) y (d) se hace al contrario. Los perfiles se han obtenido valorando las ecuaciones (1) y (2) con $V_{max}=1$ y $k_1=k_2=1$ (unidades arbitrarias). El efecto de asignar un valor unitario a todos los parámetros es el de estandarizar v con V_{max} y las concentraciones x_1 y x_2 con las constantes k_1 y k_2 respectivamente.

Como caso particular, cuando la magnitud de $h_{22}-g_{22}$ sea igual a la de g_{21} , la variación del producto en función de la concentración de sustrato se reduce a la relación lineal $x_2 = ax_1$. Además, en la medida en que los valores de las dos constantes cinéticas, α_2 y β_2 , se aproximen, se tendrá la situación más simple en que $x_2 \approx x_1$. Esta situación es la examinada en la figura 2.4.2, en donde se

presenta la superficie de saturación correspondiente a los dos mecanismos de inhibición considerados junto a los perfiles que se obtienen al modificar simultáneamente el sustrato y el inhibidor en la relación uno a uno. En el caso de la inhibición competitiva, las curvas de nivel solo son cortadas una vez por la diagonal dada por $x_1 = x_2$. Esto da lugar a un perfil hiperbólico análogo al que aparece cuando se modifica x_1 manteniendo fijo x_2 (figura 2.4.1). Sin embargo, en el caso de la inhibición acompetitiva aparece un nuevo comportamiento cualitativo. La diagonal, producto de la relación de proporcionalidad entre x_1 y x_2 , corta dos veces a los contornos de nivel de la superficie, de manera que los perfiles obtenidos se caracterizan por presentar un máximo que recuerda a la cinética propia de los mecanismos de inhibición por sustrato.

La similitud entre los perfiles de la inhibición por sustrato y los obtenidos para los casos de inhibición acompetitiva al modificar de forma conjunta las dos concentraciones, es mas evidente cuando se caracteriza el máximo condicionado de la velocidad de reacción como función de las constantes cinéticas. Cuando como ahora, solo hay dos variables implicadas, la determinación de este máximo puede hacerse por derivación directa de $v(x_1, f(x_1))$, siendo $x_2 = f(x_1)$, y en general, cuando la cinética implique a mas de dos variables, se trata de un problema de obtención de extremos condicionados (abordable mediante la técnica de los multiplicadores de Lagrange; véase Apostol, 1989b). Si asumimos la relación $x_2 = ax_1$, el extremo condicionado de v_a se da en el punto:

$$x_1 = \sqrt{k_1 k_2 / a}, \quad x_2 = \sqrt{a k_1 k_2}. \quad (2.4.3)$$

Tabla 2.4.1.- Dependencia de la concentración de inhibidor respecto a la de sustrato en un mecanismo secuencial (siguiendo la metodología clásica de la BST): la variación de x_2 (inhibidor) según la ruta (a) queda descrita por el modelo (b). A partir de (b) se puede hacer explícita la forma en que varía x_2 como función de x_1 (c), de manera que, agrupando parámetros, se obtiene una función potencial de exponente positivo (d).



$$\dot{x}_2 = \alpha_2 x_1^{g_{21}} x_2^{g_{22}} - \beta_2 x_2^{h_{22}} \quad (b)$$

$(g_{21}, h_{22} > 0; g_{22} < 0)$

$$x_2 = (\beta_2 / \alpha_2)^{1/(g_{22} - h_{22})} x_1^{g_{21}/(h_{22} - g_{22})} \quad (c)$$

$$x_2 = a x_1^q; \quad a > 0; q > 0 \quad (d)$$

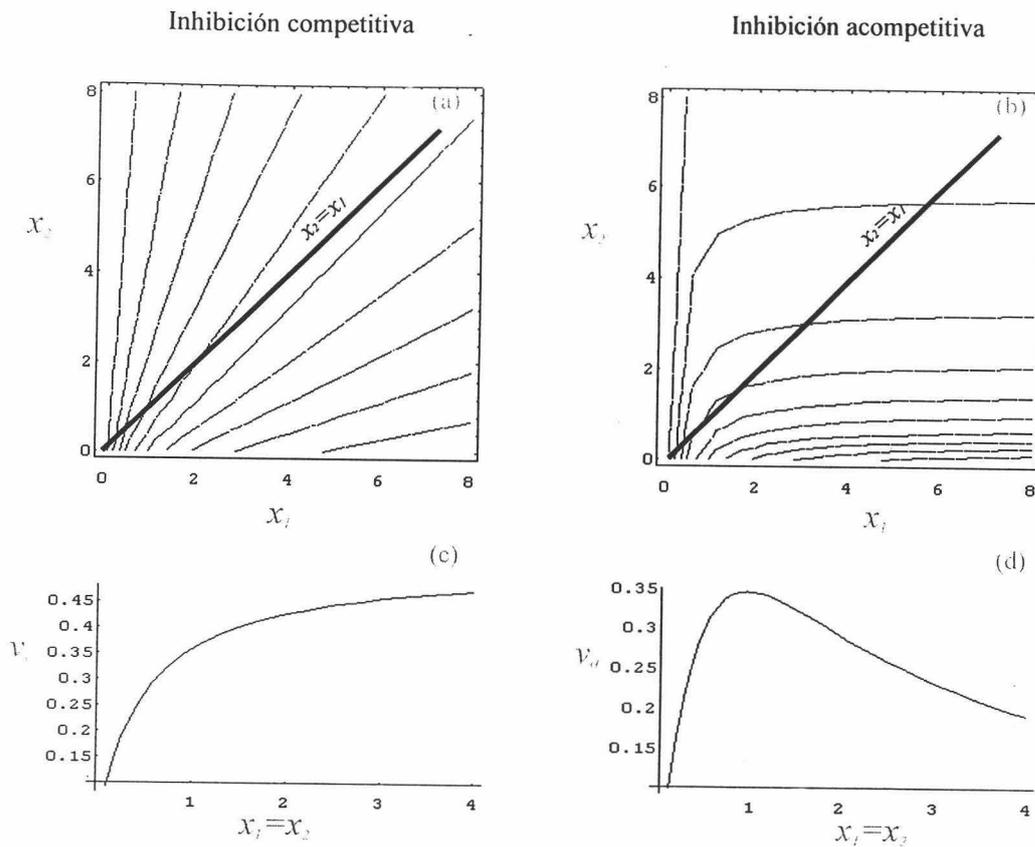


Figura 2.4.2.- Arriba aparecen las superficies de saturación correspondientes a los mecanismos de inhibición competitiva **(a)** y acompetitiva **(b)**. Los modelos son los mismos que se describen en la figura 2.4.1. El trazo diagonal representa la variación $x_2=x_1$ que genera los perfiles representados en **(c)** y en **(d)**.

Obsérvese que aquí k_2 equivale a la inversa de la de la constante k_I considerada al describir la cinética de inhibición por sustrato (ecuación 2.3.19). Por tanto, cuando $\alpha=1$, la caracterización del extremo de v según las constantes cinéticas que informan de la afinidad por el sustrato y de la fuerza de inhibición es la misma en los dos casos.

La existencia del máximo condicionado y su localización tiene implicaciones importantes referente a la calidad de las aproximaciones basadas en el formalismo de la ley potencial. Como se ha puesto de manifiesto en el apartado anterior, la representación PL1 no es eficiente para describir el funcionamiento de un sistema cuando este opera en el entorno de un máximo, ya que su comportamiento es cualitativamente opuesto a uno y a otro lado de este punto. En la figura 2.4.3 se representan los perfiles obtenidos sobre las superficies v_a y sus aproximaciones v_{PL1a} y v_{PL2a} cuando $x_1=x_2$.

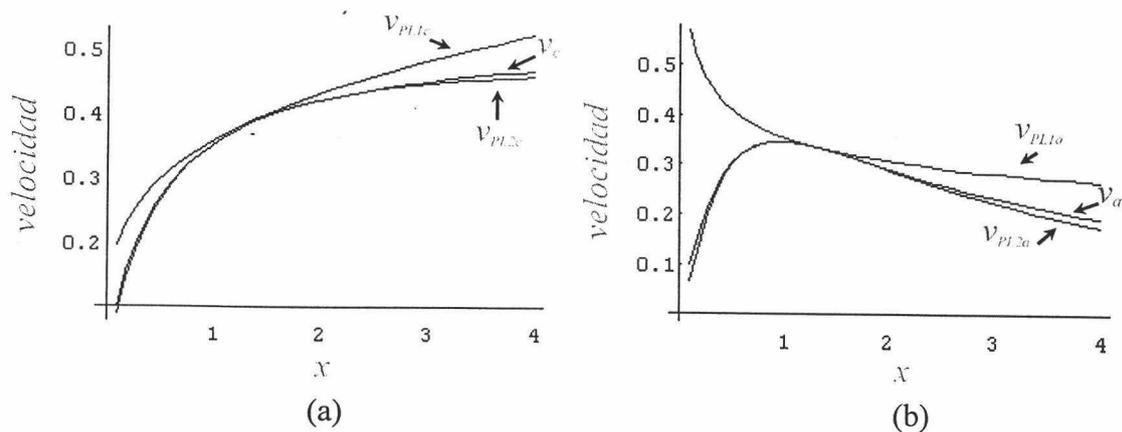


Figura 2.4.3.- Perfiles obtenidos sobre las superficies v , v_{PL1} y v_{PL2} para los casos de (a) inhibición competitiva y (b) acompetitiva cuando se varían simultáneamente las dos concentraciones implicadas según la relación $x=x_1=x_2$.

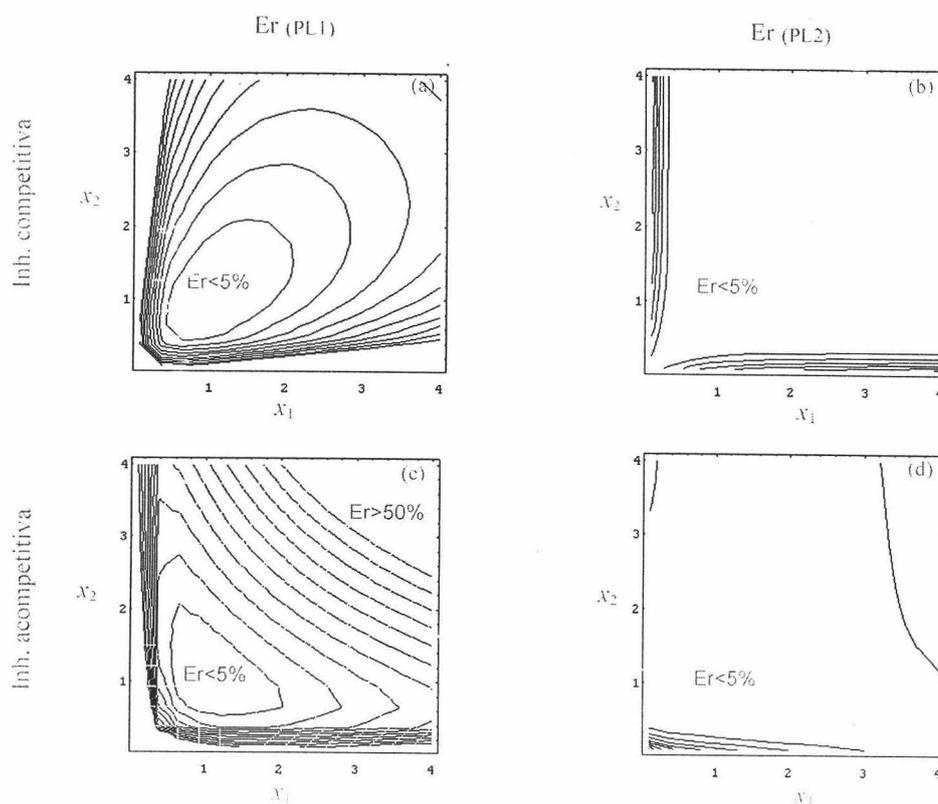


Figura 2.4.4.- Error relativo de las aproximaciones de primer grado (a la izquierda) y de segundo grado (a la derecha) respecto a los mecanismos de inhibición competitiva (arriba) y acompetitiva (abajo). En todos los casos el error relativo se calcula como $Er=|v-v_{PL}|/v$. Las líneas de contorno representan variaciones del 5%. Las aproximaciones se hacen sobre las ecuaciones (2.4.1) y (2.4.2) respectivamente, considerando $V_{max}=1$, $k_1=k_2=1$ y $x_{10}=x_{20}=1$.

La presencia del extremo condicionado en el caso de la inhibición acompetitiva induce una pérdida en la calidad del modelo con relación al caso de la inhibición competitiva, donde el perfil es siempre hiperbólico. Este efecto puede observarse en los diagramas de contorno de la figura 2.4.4. La función representada es el error relativo de aproximación, dado por $Er = |v - v_{PL}|/v$ en donde v_{PL} representa alternativamente a las aproximaciones de primer o segundo grado. El efecto del máximo condicionado en la inhibición acompetitiva se pone de manifiesto al comparar los diagramas (a) y (c). Si se considera la dirección $x_1 = x_2$, la superficie de error relativo es mucho mas atenuada en (a), donde no hay extremos condicionados, que en (c), donde si los hay. Por otra parte, la calidad de la aproximación de segundo grado es notablemente buena, adaptándose especialmente bien a los contornos característicos de los extremos mencionados.

2.4.2. Caracterización de la superficie PL2 en las cinéticas multireactivas

Como punto de partida, consideremos un simple proceso bisustrato de adición secuencial. El modelo clásico que lo describe viene dado por (Cleland, 1967):

$$v = V_{max} \left(\frac{x_1}{x_1 + k_{m_1}} \right) \cdot \left(\frac{x_2}{x_2 + k_{m_2}} \right) \quad (2.4.4)$$

Un aspecto destacable de este modelo es que se puede expresar de forma factorizada, es decir, admite la representación genérica:

$$v(\mathbf{x}) = v_0 \prod_i v_i(x_i), \quad (2.4.5)$$

y por tanto, al considerar los logaritmos de ambos miembros se tiene

$$w(\mathbf{x}) = w_0 + \sum_i w_i(x_i). \quad (2.4.6)$$

Este hecho es importante al tratar con la aproximación de segundo grado, ya que siempre que el modelo mecanicista subyacente sea factorizable, cada coeficiente g_{i0} vendrá dado por la derivada

$$g_{i0} = \frac{\partial w_i(x_i)}{\partial \ln x_i} \quad (2.4.7)$$

que solo depende de la variable x_i a la que afecta como OCA. Como los coeficientes de segundo grado son las derivadas de los de primer grado respecto al logaritmo de la variable, cuando el modelo sea factorizable, los parámetros g_{ij} correspondientes a los productos cruzados se anularán, de manera que la hessiana \mathbf{G} será siempre diagonal.

Es inmediato comprobar que la aproximación de segundo grado al modelo (2.4.4) queda determinada por el vector \mathbf{g} y la matriz \mathbf{G} dadas por:

$$\mathbf{g} = \begin{pmatrix} k_{m1}/(k_{m1} + x_{10}) \\ k_{m2}/(k_{m2} + x_{20}) \end{pmatrix} \quad (2.4.8)$$

$$\mathbf{G} = \begin{pmatrix} -g_{10}(1-g_{10}) & 0 \\ 0 & -g_{20}(1-g_{20}) \end{pmatrix} \quad (2.4.9)$$

La estructura diagonal de \mathbf{G} es muy conveniente para caracterizar a la superficie w_{PL2} . Por un lado, la no linealidad queda cuantificada por los coeficientes cuadráticos, que además son solo función de la variable a la que afectan. En consecuencia, a la vista de la matriz \mathbf{G} , es inmediato apreciar en la dirección de qué variables se da mas o menos curvatura, y por tanto, en que dirección el modelo de primer grado es mas o menos adecuado. Por otro lado, la caracterización del extremo es también inmediata. Puesto que la condición de punto estacionario requiere que

$$\frac{\partial w_{PL2}}{\partial \mathbf{l}} = \mathbf{g} + \mathbf{G}\mathbf{l} = \mathbf{0} \quad (2.4.10)$$

se deduce que el extremo viene dado por el vector

$$\mathbf{l}_e = -\mathbf{G}^{-1}\mathbf{g}. \quad (2.4.11)$$

Como \mathbf{G} es diagonal, su inversa también lo es,

$$\mathbf{G}^{-1} = \text{diag}(g_{ii}^{-1}), \quad (2.4.12)$$

y por tanto, las coordenadas de \mathbf{l}_e vienen dadas genéricamente por:

$$l_{ie} = -\frac{g_{i0}}{g_{ii}}. \quad (2.4.13)$$

En el caso particular de la ecuación (2.4.4) estas coordenadas serán:

$$l_{ie} = \frac{1}{1 - g_{ii}}, \quad (2.4.14)$$

para $i=\{1,2\}$, o bien, en términos de la escala original de las variables:

$$x_{ie} = x_{i0} \exp\left(\frac{x_{i0} + k_{m_i}}{x_{i0}}\right). \quad (2.4.15)$$

Esta última expresión coincide con la dada en el caso de una sola variable de concentración (ecuación 2.3.11), y en general ocurrirá así siempre que el modelo mecanicista subyacente a la aproximación sea factorizable.

El conocimiento de la localización del extremo de w_{PL2} es también importante para valorar, en un contexto más empírico, la calidad de la aproximación PL1, puesto que advierte la proximidad a la región de saturación o sobre la presencia de extremos condicionados, como era el caso del mecanismo de inhibición acompetitiva.

Cuando la matriz \mathbf{G} no es diagonal las características de la superficie w_{PL2} son menos evidentes. La interacción entre las variables implicadas impide resumir la falta de linealidad en un coeficiente simple relativo a cada dirección. Así mismo, la expresión del máximo también se complica. En el caso birreactivo l_e viene dado por

$$l_e = \begin{pmatrix} \frac{g_{20}g_{12} - g_{10}g_{22}}{g_{11}g_{22} - g_{12}^2} \\ \frac{g_{10}g_{12} - g_{20}g_{11}}{g_{11}g_{22} - g_{12}^2} \end{pmatrix} \quad (2.4.16)$$

y en la medida en que aumenta el número de variables, la expresión analítica de l_e comienza a hacerse intratable.

A modo de resumen, cuando el modelo mecanicista es factorizable da lugar a una matriz de coeficientes de segundo grado diagonal. Este hecho se traduce en que los contornos de la superficie w_{PL2} sean elipses concéntricas cuyos ejes principales estarán dispuestos en la misma dirección que los constituidos por las variables originales (figura 2.4.5). Como consecuencia, es inmediato caracterizar las principales propiedades de la superficie, como son su curvatura y la localización del extremo, que vendrán dadas, en la dirección de las variables, por los coeficientes g_{ii} y los cocientes g_{i0}/g_{ii} respectivamente. El conocimiento de estas propiedades permite hacer una valoración inmediata sobre la calidad de las aproximaciones de primer y segundo grado en cada dirección.

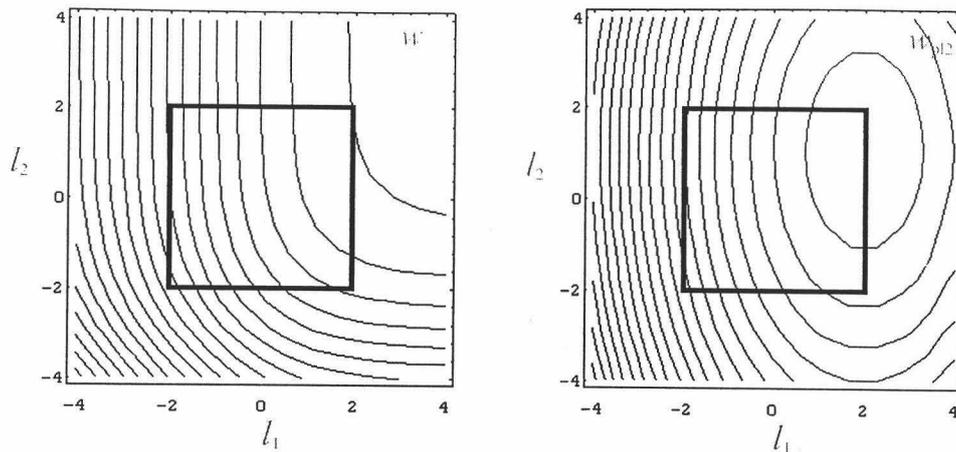


Figura 2.4.5.- Contornos de la superficie (2.4.4) en el espacio log-log (izquierda) y de su aproximación de segundo grado (derecha). Se ha considerado $x_{10}/k_{m1}=1$ y $x_{20}/k_{m2}=10$ y un rango de variación de las variables suficientemente amplio para poder tener una visión mas completa de las dos superficies, y el cuadrado central encierra un recinto mas realista de la variación de cada sustrato. En el caso de haber tomado $x_{20}/k_{m2}=1$, los contornos serían circulares en vez de elípticos.

Tabla 2.4.2.- Coeficientes de la aproximación PL2 a los tres mecanismos mas clásicos de inhibición enzimática (cf. Segel, 1993).

Inhibición Competitiva:
$$v = \frac{V_m x_1}{k_1(1 + \frac{x_2}{k_2}) + x_1}$$

$$g_1^C = \frac{k_1(k_2 + x_{2_0})}{k_1 k_2 + k_2 x_{1_0} + k_1 x_{2_0}}$$

$$g_{11}^C = -\frac{k_1 k_2 x_{1_0} (k_2 + x_{2_0})}{(k_1 k_2 + k_2 x_{1_0} + k_1 x_{2_0})^2}$$

$$g_2^C = -\frac{k_1 x_{2_0}}{k_1 k_2 + k_2 x_{1_0} + k_1 x_{2_0}}$$

$$g_{22}^C = -\frac{k_1 k_2 x_{2_0} (k_1 + x_{1_0})}{(k_1 k_2 + k_2 x_{1_0} + k_1 x_{2_0})^2}$$

$$g_{12}^C = \frac{(x_{2_0} / x_{1_0}) k_1 k_2 x_{1_0}^2}{(k_1 k_2 + k_2 x_{1_0} + k_1 x_{2_0})^2}$$

Inhibición Acompetitiva:
$$v = \frac{V_m x_1}{k_1 + (1 + \frac{x_2}{k_2}) x_1}$$

$$g_1^A = \frac{k_1 k_2}{k_1 k_2 + k_2 x_{1_0} + x_{1_0} x_{2_0}}$$

$$g_{11}^A = -\frac{k_1 k_2 x_{1_0} (k_2 + x_{2_0})}{(k_1 k_2 + k_2 x_{1_0} + x_{1_0} x_{2_0})^2}$$

$$g_2^A = -\frac{x_{1_0} x_{2_0}}{k_1 k_2 + k_2 x_{1_0} + x_{1_0} x_{2_0}}$$

$$g_{22}^A = -\frac{x_{1_0} x_{2_0} k_2 (k_1 + x_{1_0})}{(k_1 k_2 + k_2 x_{1_0} + x_{1_0} x_{2_0})^2}$$

$$g_{12}^A = -\frac{k_1 k_2 x_{1_0} x_{2_0}}{(k_1 k_2 + k_2 x_{1_0} + x_{1_0} x_{2_0})^2}$$

Inhibición no competitiva:
$$v = \frac{V_m x_1}{(1 + \frac{x_2}{k_2}) (x_1 + k_1)}$$

$$g_1^N = \frac{k_1}{k_1 + x_{1_0}}$$

$$g_{11}^N = -\frac{k_1 x_{1_0}}{(k_1 + x_{1_0})^2}$$

$$g_2^N = -\frac{x_{2_0}}{k_2 + x_{2_0}}$$

$$g_{22}^N = -\frac{k_2 x_{2_0}}{(k_2 + x_{2_0})^2}$$

$$g_{12}^N = 0$$

2.4.2.1.- Magnitud relativa entre los coeficientes de la aproximación cuadrática. La relación :

$$g_{ii} = -g_{i0}(1 - g_{i0}). \quad (2.4.17)$$

que ya aparecía en la cinética michaeliana simple (monosustrato), parece ser común a muchos mecanismos.

En la tabla 2.4.2 se presenta la expresión de los coeficientes propios de la aproximación cuadrática en términos de los parámetros cinéticos de tres mecanismos clásicos de inhibición, la competitiva, la acompetitiva y la no competitiva (según Segel, 1993). Como puede comprobarse en la tabla 2.4.3, en los tres casos se verifica la relación (2.4.17) (téngase en cuenta que $g_{20} < 0$). Además, en los dos primeros, los coeficientes correspondientes a los productos cruzados también se pueden expresar en términos de los coeficientes de primer grado. En el caso de la inhibición no competitiva, el modelo inicial es factorizable y por tanto $g_{12} = 0$.

Por otra parte, acotar g_{ii} en función de g_{i0} a partir de la relación (2.4.17) es fácil cuando el propio g_{i0} está acotado. En una cinética hiperbólica clásica se verifica

$$0 < g_{i0} < 1, \quad (2.4.18)$$

de manera que el producto $g_{i0}(1 - g_{i0})$ está acotado, en valor absoluto, por

$$0 \leq |g_{i0}(1 - g_{i0})| \leq \frac{1}{4} \quad (2.4.19)$$

Tabla 2.4.3.- Relación entre los coeficientes de primer y segundo grado en tres mecanismos clásicos de inhibición. En todos los casos $g_{10} > 0$ y $g_{20} < 0$.

Inhibición competitiva	Inhibición acompetitiva	Inhibición no competitiva
$g_{11}^C = -g_{10}^C(1 - g_{10}^C)$	$g_{11}^A = -g_{10}^A(1 - g_{10}^A)$	$g_{11}^N = -g_{10}^N(1 - g_{10}^N)$
$g_{22}^C = g_{20}^C(1 + g_{20}^C)$	$g_{22}^A = g_{20}^A(1 + g_{20}^A)$	$g_{22}^N = g_{20}^N(1 + g_{20}^N)$
$g_{12}^C = -g_{20}^C(1 - g_{10}^C)$	$g_{12}^A = g_{10}^A g_{20}^A$	$g_{12}^N = 0$

Desde luego la relación (2.4.17) no es siempre válida. Por ejemplo, en los fenómenos de inhibición por sustrato, o en cinéticas de naturaleza alostérica, no se verifica. Sin embargo, sí parece ser bastante representativa de una gran variedad de procesos que exhiben perfiles hiperbólicos, como son los

2.4. Aproximación de segundo grado a cinéticas multireactivas

mecanismos de adición secuencial, ping-pong, etc. Esto sugiere la posibilidad de considerar tal relación, junto a la acotación (2.4.19) que se deriva de ella, como referencia para diagnosticar otras situaciones en las que el mecanismo subyacente no sea conocido a priori.



2.5. Análisis canónico de la ley potencial de segundo grado

En el apartado anterior se han expuesto las ventajas que se derivan del hecho de que la matriz \mathbf{G} sea diagonal para conocer las características de la aproximación cuadrática al proceso bajo estudio. Sin embargo, una revisión de los mecanismos propios de la cinética enzimática (p.e. Segel, 1993) evidencia que los modelos factorizables que originan este tipo de matrices son excepcionales.

En el contexto de la *metodología de las superficies de respuesta* (MSR), se desarrolla una técnica conocida como *análisis canónico* (Box y Draper, 1986), que permite explotar la información contenida en una superficie de segundo grado cuando es esta la función utilizada para explicar el proceso en cuestión. El punto de partida de este tipo de análisis es, precisamente, obtener una representación del modelo en donde la matriz hessiana sea diagonal. A continuación se van a presentar los principios fundamentales del análisis canónico, para aplicarlos seguidamente al estudio de los modelos PL2.

2.5.1. Principios básicos del análisis canónico de superficies de respuesta

El análisis canónico tiene por objeto obtener una representación estandarizada de la ecuación de segundo grado facilitando así su estudio. Este análisis implica a dos tipos de transformaciones que dan lugar a otras tantas *formas canónicas* (Box y Draper, 1986). La primera transformación consiste en rotar los ejes de manera que se eliminen los términos correspondientes a los productos cruzados. La representación así obtenida se denomina *forma canónica A*. En muchas situaciones, esta forma canónica permite caracterizar suficientemente las propiedades de la superficie estudiada. Sin embargo, en otras ocasiones, se gana apreciación realizando una traslación que origina la eliminación de los términos de primer orden. Esta segunda transformación conduce a la *forma canónica B*.

Considérese un modelo genérico de segundo grado relativo a una variable respuesta y :

$$y = b_0 + \mathbf{x}'\mathbf{b} + \mathbf{x}'\mathbf{B}\mathbf{x} \quad (2.5.1)$$

en donde \mathbf{x} es el vector n -dimensional de variables explicativas, b_0 el término independiente, \mathbf{b} el vector n -dimensional de coeficientes de primer grado b_i y \mathbf{B} la matriz $n \times n$ de coeficientes de segundo grado b_{ij} . El conjunto constituido por los valores propios de \mathbf{B} —su *espectro*— suele designarse como

$$\sigma(\mathbf{B}) = \{\lambda_1, \dots, \lambda_n\},$$

siendo λ_i el valor que verifica la *ecuación característica*

$$\det[\mathbf{B} - \lambda_i \mathbf{I}_n] = 0.$$

El hecho de que \mathbf{B} sea una matriz real simétrica supone que los elementos que constituyen su espectro serán también valores reales (Bellman, 1965). Supondremos en adelante, y salvo mención expresa, la asignación de subíndices tal que se verifique en $\sigma(\mathbf{B})$ la relación de orden :

$$|\lambda_1| \geq |\lambda_2| \geq \dots \geq |\lambda_n|. \quad (2.5.2)$$

El vector columna \mathbf{u}_i que satisface

$$\mathbf{B}\mathbf{u}_i = \lambda_i \mathbf{u}_i \quad (2.5.3)$$

es el *vector propio* (o *autovector*) asociado al valor propio (o *autovalor*) λ_i . Para un autovalor dado no hay un único autovector asociado. Es inmediato comprobar en la expresión anterior que si \mathbf{u}_i es un autovector asociado a λ_i , entonces $k\mathbf{u}_i$ también lo es, siendo k un número real cualquiera. Para ganar en determinismo, en adelante se tratará sólo con los autovectores *normalizados*, que son aquellos con norma unitaria:

$$\|\mathbf{u}_i\| = (\mathbf{u}_i^t \mathbf{u}_i)^{1/2} = 1. \quad (2.5.4)$$

La normalización de cualquier vector es inmediata al dividir cada una de sus componentes por su norma. Por otra parte, la simetría de la matriz real \mathbf{B} tiene la importante consecuencia de que los vectores característicos asociados con raíces características distintas sean ortogonales (Bellman, 1965).

A partir de los n autovectores normalizados de \mathbf{B} se puede definir la matriz

$$\mathbf{U} = \begin{pmatrix} u_{11} & u_{12} & \cdots & u_{1n} \\ u_{21} & u_{22} & \cdots & u_{2n} \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ u_{n1} & u_{n2} & \cdots & u_{nn} \end{pmatrix} \quad (2.5.5)$$

cuya columna j -ésima es, precisamente, el autovector \mathbf{u}_j . La matriz así definida es *ortonormal* y por tanto, su inversa coincide con su traspuesta:

$$\mathbf{U}' = \mathbf{U}^{-1}.$$

2.5. Análisis canónico de la ley potencial de segundo grado.

La matriz \mathbf{U} permite diagonalizar \mathbf{B} , ya que si se define la matriz diagonal de autovalores

$$\Lambda = \begin{pmatrix} \lambda_1 & & 0 \\ & \ddots & \\ 0 & & \lambda_n \end{pmatrix} \quad (2.5.6)$$

la ecuación (2.5.3) se puede expresar, en forma matricial, como

$$\mathbf{BU} = \mathbf{U}\Lambda \quad (2.5.7)$$

resultando inmediato, dada la ortogonalidad de \mathbf{U} , escribir

$$\mathbf{U}'\mathbf{BU} = \Lambda. \quad (2.5.8)$$

Haciendo uso de estos resultados, se puede operar sobre la ecuación (2.5.1) como sigue:

$$y = b_0 + (\mathbf{b}'\mathbf{U})(\mathbf{U}'\mathbf{x}) + (\mathbf{x}'\mathbf{U})\mathbf{U}'\mathbf{BU}(\mathbf{U}'\mathbf{x}) \quad (2.5.9)$$

Definiendo

$$\begin{aligned} \xi &= \mathbf{U}'\mathbf{x} \\ \gamma &= \mathbf{U}'\mathbf{b} \end{aligned} \quad (2.5.10)$$

la ecuación (2.5.1) se puede expresar

$$y = b_0 + \xi'\gamma + \xi'\Lambda\xi \quad (2.5.11)$$

que resulta ser la *forma canónica A* de la ecuación cuadrática original (Box y Draper, 1986). En esta representación han desaparecido los productos cruzados entre las variables explicativas, puesto que Λ es diagonal, de manera que el modelo puede representarse como

$$y = b_0 + \sum_{i=1}^n (\gamma_i \xi_i + \lambda_i \xi_i^2). \quad (2.5.12)$$

Las ξ_i , que actúan como variables explicativas, son las *variables canónicas*, que se definen, según indica (2.5.10), como una combinación lineal de las variables originales cuyos coeficientes son los componentes de cada autovector: $\xi_i = \mathbf{u}'_i \mathbf{x}$. La recuperación de las coordenadas originales a partir de las canónicas es inmediata y viene dada por $\mathbf{x} = \mathbf{U}\xi$.

La forma canónica A suministra la siguiente información (Box y Draper, 1986):

- Cada valor γ_i representa la pendiente la superficie en el origen relativa a la dirección canónica ξ_i .
- El signo del autovalor λ_i indica el tipo de curvatura en la dirección ξ_i . Si todos los autovalores son negativos, la superficie tiene curvatura negativa y su punto estacionario será un máximo. Si por el contrario, todos los autovalores son positivos, la curvatura también lo es, de modo que en el punto estacionario la función alcanzará un mínimo. En el caso de que aparezcan autovalores con signo positivo y negativo, el punto estacionario será un *punto de ensilladura* y no un extremo.
- La magnitud de cada autovalor es un indicador del menor o mayor grado de atenuación de la superficie en cada dirección canónica. Por ejemplo, si se considera el diagrama de contorno relativo a una superficie bidimensional en donde las curvas de nivel sean elipses concéntricas (i.e., todos los autovalores son positivos o negativos), la longitud de cada eje principal de las elipses es proporcional al valor

$$|\lambda_i|^{-1/2}$$

correspondiente. Por tanto, cuanto menor sea la magnitud de un autovalor, mayor será la atenuación de la superficie en esa dirección (las curvas de nivel estarán mas separadas). El caso degenerado en que se anule un autovalor da lugar a una superficie en forma de “cresta” en la que el máximo no es un punto sino toda una recta en la dirección del $\lambda_i=0$. Box y Draper (1986), puntualizan que en una situación experimental, en donde los datos están sometidos a error, ningún autovalor va a ser exactamente cero, y debe siempre contrastarse su magnitud con la de su error de estimación asociado.

De la expresión (2.5.11) se obtiene de forma inmediata el gradiente de w , que es el vector fila

$$\nabla y = \gamma + 2\Lambda\xi. \quad (2.5.13)$$

Suponiendo $\lambda_i \neq 0$ para $i=1, \dots, n$, la resolución respecto a ξ de la ecuación $\nabla y=0$ proporciona las coordenadas del punto estacionario de y :

$$\xi_{ie} = \frac{-\gamma_i}{2\lambda_i} \quad (2.5.14)$$

o, equivalentemente:

$$\xi_e = -\frac{1}{2}\Lambda^{-1}\gamma \quad (2.5.15)$$

Es inmediato comprobar que el valor de la función en el extremo viene dado por

$$y_e = b_0 + \xi_e' \gamma \quad (2.5.16)$$

Como la rotación de la superficie original que conduce a la forma canónica A, no modifica las distancias, la magnitud de las coordenadas ξ_e indican su posición respecto al centro del experimento ($x_0=0$). La distancia entre ambos puntos viene dada por

$$D = \|\xi_e\| = (\xi_e' \xi_e)^{1/2}. \quad (2.5.17)$$

La *forma canónica B* reviste interés cuando el centro experimental está próximo al punto estacionario. Box y Draper (1986) admiten que esto es así cuanto $D \leq 1$ con D dado por (2.5.16). La obtención de esta forma se hace al trasladar el centro al punto estacionario. Definiendo $\tilde{\xi}_i = \xi_i - \xi_{ie}$ la superficie queda representada por

$$y = y_e + \tilde{\xi}' \Lambda \tilde{\xi} \quad (2.5.18)$$

en donde $\tilde{\xi}$ es el vector de componentes $\tilde{\xi}_i$ y los términos de primer grado han desaparecido.

En el contexto de la MSR, una de las principales aplicaciones del análisis canónico es detectar aquellas combinaciones de las variables de control que permitan optimizar, según algún criterio preestablecido, la respuesta observada. Esto suele implicar la exploración de la superficie para localizar un punto extremo, respecto al cual el comportamiento de la respuesta queda descrito de manera simple mediante la *forma canónica B* (véase por ejemplo Box y Draper, 1986). En el ámbito bioquímico, este tipo de enfoque puede ser valioso para el ingeniero. Sin embargo, en el contexto que nos ocupa la utilidad del análisis canónico es bien distinta, pues no se trata de dirigir el proceso sino, mas bien, de caracterizar la forma en que opera en el entorno de un valor preestablecido de las variables implicadas (el valor nominal). Por tanto, la representación canónica que cobra especial interés es la *forma canónica A*.

2.5.2. Análisis canónico de las superficies w_{PL2}

Consideremos una etapa v_i que depende de n variables de concentración $v_i = v_i(x_1, \dots, x_n)$ de manera que su aproximación cuadrática en coordenadas logarítmicas viene dada por

$$w_{\text{PL2}} = w_0 + \mathbf{l}'\mathbf{g} + \frac{1}{2}\mathbf{l}'\mathbf{G}\mathbf{l}. \quad (2.5.19)$$

Llamaremos λ_j al j -ésimo valor propio de \mathbf{G} , de modo que el espectro de esta matriz queda definido por

$$\sigma(\mathbf{G}) = \{\lambda_1, \dots, \lambda_n\}. \quad (2.5.20)$$

La matriz \mathbf{U} que diagonaliza a \mathbf{G} tendrá como columna j -ésima al vector

$$\mathbf{u}_j = \begin{pmatrix} u_{1j} \\ \vdots \\ u_{nj} \end{pmatrix} \quad (2.5.21)$$

que es el vector propio normalizado asociado al valor propio λ_j , de manera que $\mathbf{G}\mathbf{u}_j = \lambda_j\mathbf{u}_j$, con $\|\mathbf{u}_j\| = 1$. La ortogonalidad de \mathbf{U} permite transformar \mathbf{G} para obtener la matriz diagonal $\Lambda = \text{diag}(\lambda_1, \dots, \lambda_n)$:

$$\Lambda = \mathbf{U}'\mathbf{G}\mathbf{U}, \quad (2.5.22)$$

por tanto, al considerar

$$w_{\text{PL2}} = w_0 + (\mathbf{g}'\mathbf{U})(\mathbf{U}'\mathbf{l}) + \frac{1}{2}(\mathbf{l}'\mathbf{U}'\mathbf{U})\mathbf{U}'\mathbf{G}\mathbf{U}(\mathbf{U}'\mathbf{l}) \quad (2.5.23)$$

y definir

$$\xi = \mathbf{U}'\mathbf{l} \quad (2.5.24)$$

$$\gamma = \mathbf{U}'\mathbf{g} \quad (2.5.25)$$

se obtiene la *forma canónica A* relativa a w_{PL2} :

$$w_{\text{PL2}} = w_0 + \xi'\gamma + \frac{1}{2}\xi'\Lambda\xi. \quad (2.5.26)$$

2.5.3. Aplicaciones de la representación canónica

A partir del modelo dado por (2.5.26), el estudio de la superficie puede realizarse ahora de forma análoga a como se hizo en el caso de la ecuación de Michaelis-Menten para dos sustratos (apartado 2.4.2), solo que en vez de aludir a las variables originales \mathbf{l} , ahora se trata con unas *variables canónicas* un tanto más abstractas y que serán expresadas vectorialmente como ξ .

La descomposición canónica de la superficie representada mediante el formalismo de la ley potencial de segundo grado, pone de manifiesto las propiedades fundamentales del proceso en términos de dos factores: la definición de las propias direcciones canónicas y el cambio cualitativo que se da en cada una de ellas. Esta información puede ser relevante en diferentes aspectos que se resumen a continuación y que serán desarrollados en los apartados subsiguientes:

- Clasificar el tipo de respuesta.
- Poner de manifiesto la relevancia de ciertas combinaciones de las variables originales en términos de su importancia sobre el proceso en el que participan.
- Detectar las direcciones de mayor sensibilidad al cambio en términos del conjunto del sistema, y no de cada una de las variables individuales.
- Establecer las condiciones de validez del formalismo de la ley potencial de primer grado.
- Detectar posibles formas de acoplamiento entre procesos relacionados.
- Obtener representaciones simplificadas que facilitan el análisis de la forma en que opera un proceso dado.

En la tabla 2.5.1 se propone una sencilla rutina implementada en *Mathematica*[®] para obtener los elementos de la representación canónica de un modelo de segundo grado.

2.5.4. Variables canónicas

Como ya se ha indicado, las variables canónicas se obtienen a partir de la combinación lineal $\mathbf{U}^t \mathbf{l}$, que supone una rotación de los ejes sobre su origen de referencia \mathbf{l}_0 . De forma particular, cada variable canónica ξ_i viene dada por el producto escalar entre el vector propio \mathbf{u}_i de la matriz hessiana \mathbf{G} y \mathbf{l} , es decir

$$\xi_i = \mathbf{u}_i^t \mathbf{l} = \sum_{j=1}^n u_{ij} l_j, \quad (2.5.27)$$

El efecto de esta rotación es pasar a un sistema de referencia que está orientado según las direcciones principales del cambio en w_{PL2} . Direcciones que por otra parte son ortogonales entre sí, ya que la matriz G es simétrica.

Tabla 2.5.1.- Función para obtener los elementos del análisis canónico con *Mathematica*[®] (*)

<u>Función</u> : Canónico (w_0, g, G)	
<u>Parámetros de entrada</u> : valor nominal de la respuesta w_0 , vector gradiente g y matriz hessiana G	
<u>Salida</u> : vectores λ y γ , matriz U , coordenadas del punto estacionario en términos de las variables canónicas ξ , de diseño l y cartesianas x/x_0 .	
<u>Implementación</u> :	
<pre> Canónico[w_Real,g1d_List,G2d_List]:= Module[{n=0}, n=Length[g1d]; Print["Análisis canonico"]; Print["Parametros de entrada: "]; Print["N= ",n," wo= ",N[w,10]]; Print["OCA-1: (g) "]; Print[MatrixForm[g1d]]; Print["OCA-2: (G) "]; Print[MatrixForm[G2d]]; Print[" "]; Array[L,{n,1}]; Array[U,{n,1}]; Array[gt,{n,1}]; Array[Xs,{n,1}]; Array[Ri,{n,1}]; L:=Eigenvalues[G2d]; U:=Transpose[Eigenvectors[G2d]]; gt:=Transpose[U].g1d; Xs:=-gt/(2*L); DO:=Sqrt[Xs.Xs]; Ri:=Sqrt[3*gt^2+L^2]; (*RESULTADOS*) Print["Autovalores(G):"]; Print[MatrixForm[L]]; Print["Gradiente: gt=U'g "]; Print[MatrixForm[gt]]; Print["Autovects(G): U="]; Print[MatrixForm[U]]; Print["Estacionario Le="]; Print[MatrixForm[Xs]]; Print["Distancia Le-Origen: DO = "]; Print[MatrixForm[DO]]; Print["Estacionario le="]; Print[MatrixForm[U.Xs]]; Print["Estacionario X/Xo: "]; Print[MatrixForm[Exp[U.Xs]]];] </pre>	

*La versión utilizada del programa es la 2.2.1. Algunas operaciones cambian según la versión.

La formación de las variables canónicas puede entenderse como sigue. Dada una función respuesta w , su representación mediante una función aproximativa de segundo grado, w_{PL2} , permite describir el cambio en w en términos de dos

componentes: el lineal y el cuadrático. Las direcciones fundamentales de cambio en la superficie cuadrática, vienen dadas por las direcciones de los ejes de los elipsoides que determina dicha superficie, o dicho de otra manera, el patrón de cambio representado por una superficie de segundo grado en cualquier dirección puede expresarse como una combinación lineal del cambio que tiene lugar en las direcciones canónicas. Para ilustrar esta última idea considérese una superficie en dos dimensiones cuya forma canónica A viene dada por:

$$w_{PL2}(\xi_1, \xi_2) = w_0 + \gamma_1 \xi_1 + \gamma_2 \xi_2 + \frac{1}{2}(\lambda_1 \xi_1^2 + \lambda_2 \xi_2^2). \quad (2.5.28)$$

Si se considera una dirección arbitraria definida mediante $\xi_2 = k \xi_1$, para cualquier constante k real, la respuesta en dicha dirección puede expresarse como:

$$w_{PL2}(\xi_1, k \xi_1) = w_0 + (\gamma_1 + k \gamma_2) \xi_1 + \frac{1}{2}(\lambda_1 + k^2 \lambda_2) \xi_1^2, \quad (2.5.29)$$

de manera que los efectos en la dirección propuesta resultan ser una combinación lineal de los efectos relativos a las direcciones canónicas. Obsérvese que la presencia de productos cruzados no permite este tipo de representación. Al restringir la respuesta a la dirección $l_2 = k l_1$, en términos del modelo

$$w_{PL2}(l_1, l_2) = w_0 + g_1 l_1 + g_2 l_2 + \frac{1}{2}(g_{11} l_1^2 + g_{22} l_2^2) + g_{12} l_1 l_2, \quad (2.5.30)$$

se obtiene

$$w_{PL2}(l_1, k l_1) = w_0 + [g_{10} + k(g_{20} + g_{12})] l_1 + \frac{1}{2}(g_{11} + k^2 g_{22}) l_1^2 \quad (2.5.31)$$

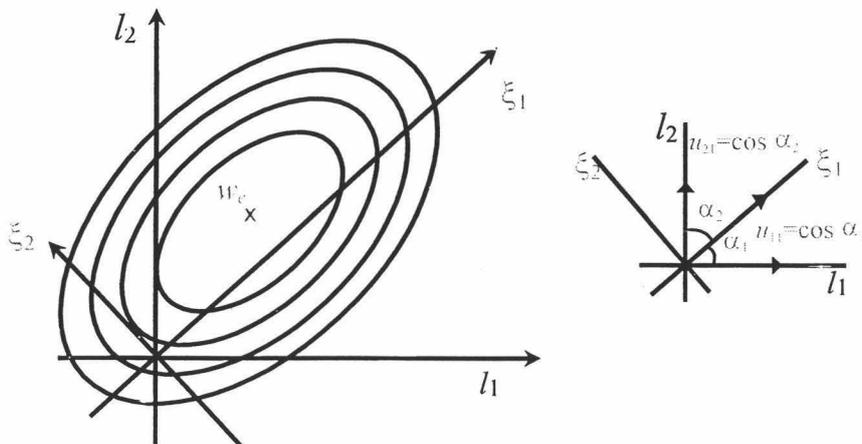


Figura 2.5.1.- Rotación de los ejes que da lugar a la forma canónica A.

en donde el coeficiente que afecta a la variable l_1 está determinado a partir de coeficientes de primero y de segundo grado.

En consecuencia, mediante la rotación del sistema de referencia original se consigue caracterizar las direcciones *principales* o *canónicas* según las cuales el cambio viene descrito en términos de sus componentes principales (el componente lineal y el cuadrático).

Si se contempla el metabolismo celular como la asociación entre procesos permanentemente sujetos a la fuerza evolutiva —y por tanto, producto de un programa de optimización—, parece razonable conceder cierta importancia a la información que subyace en la propia formación de las variables canónicas. Sirva de comparación la interpretación que con frecuencia se hace del valor de la k_m relativa a un proceso michaeliano. Según numerosos autores (p.e.: Cleland, 1967; Savageau, 1976; Segel, 1993), este valor es representativo de la concentración de sustrato que se debe dar *in vivo*. El razonamiento es que cuando dicha concentración es superior a la k_m , el proceso carece de potencial regulador por operar en la región de saturación, mientras que si es inferior, se está desperdiciando el potencial catalítico del enzima (cabe destacar aquí, que en el caso de las cinéticas hiperbólicas, la variación del nivel de sustrato en el entorno de la k_m induce, precisamente, la variación de la respuesta en la región de mayor no linealidad; obsérvese que el coeficiente cuadrático alcanza aquí su máximo: $g_2=0.25$ cf. con el apartado 2.3.1). Un razonamiento análogo se podría extender a la interpretación de las variables canónicas. Puesto que a nivel celular, hay una gran interdependencia entre los intermediarios metabólicos, cada eje canónico pone de manifiesto en qué dirección el proceso manifiesta una mayor o menor sensibilidad al cambio y la forma —en términos ya cualitativos— en que este tiene lugar.

2.5.4.1.- Análisis de las variables canónicas. Un aspecto sobre el que conviene hacer énfasis aquí, y que constituye un principio esencial en este trabajo, es que tan importante como definir el valor nominal sobre el que opera el sistema, lo es el hecho de delimitar la región sobre la cual su descripción se considera suficientemente válida.

No debe olvidarse que la descripción formal de cada proceso viene avalada por la teoría matemática de la aproximación, por tanto, las propiedades que se asumen válidas en una determinada región, pueden no serlo fuera de ella. Desde un punto de vista experimental —en donde es fundamental la introducción de principios estadísticos—, la delimitación del recorrido de las variables es necesaria, puesto que se deben establecer los puntos en que se observa la respuesta. Además, solo en la región considerada tendrá fundamento el método inferencial. Si bien la perspectiva estadística será la asumida en el capítulo 3 de este trabajo, aunque se mantenga un punto de vista puramente analítico, la

delimitación de la región bajo estudio permitirá hacer mas concisas muchas de las ideas que se van a exponer. Por tanto, se tratará en adelante con tres valores fundamentales para cada una de las variables: los extremos de su rango (que serán indicados con los superíndices “-“ y “+”) y el valor nominal (indicado con el subíndice 0). De este modo, para cada una de las l_j se tendrán los tres puntos $\{l_j^-, l_{j0}, l_j^+\}$ (obviamente con $l_{j0} = 0$). Así mismo los valores correspondientes de las variables canónicas serán $\{\xi_i^-, \xi_{i0}, \xi_i^+\}$, debiendo observarse que

$$\begin{cases} \xi_i^- = \min_l \{\mathbf{u}_i' l\} \\ \xi_i^0 = 0 \\ \xi_i^+ = \max_l \{\mathbf{u}_i' l\} \end{cases} \quad (2.5.32)$$

El recorrido de cada una de las ξ_i depende los coeficientes del autovector \mathbf{u}_i así como del rango admisible de variación de cada variable original respecto a su valor nominal. Sin pérdida de generalidad, asumiremos en adelante que las l_i son homogéneas en cuanto a su rango y también simétricas. Como la rotación $\xi = \mathbf{U}'l$ no altera la escala de las variables, la simetría respecto al origen de las l_j induce la simetría en las ξ_i .

2.5.4.2.- Contribución de las variables originales al eje canónico ξ_i . Como se ha visto, la normalización de los vectores propios de \mathbf{G} supone imponer la restricción $\|\mathbf{u}_j\|=1$. De este modo, cada uno de los coeficientes u_{ij} resulta ser el coseno del ángulo que forman las direcciones correspondientes a las variables original l_i y canónica ξ_j según la rotación definida por \mathbf{U} (cf. Box y Draper, 1986). Como consecuencia, se verificará la identidad $\xi_i = (\pm)l_j$ siempre y cuando sea $u_{ij} = (\pm)1$. En contraste, un valor $u_{ij} = 0$ supone que la l_j no tiene ninguna relevancia en la constitución del eje que define a ξ_i por tratarse de dos direcciones ortogonales. Por tanto, en la medida en que una de las coordenadas u_{ij} tenga mayor magnitud que otra u_{kj} estará poniendo de manifiesto que la variable l_i contribuye en mayor medida a la formación de ξ_j que la variable l_k . Esta relevancia de cada una de las variables originales en cuanto a la formación de un determinado eje canónico, puede expresarse mas convenientemente si se tiene en cuenta la restricción

$$\sum_i u_{ij}^2 = 1, \quad (2.5.33)$$

que sugiere interpretar a cada u_{ij}^2 como la proporción en que la variable l_i contribuye a la definición de ξ_j . Llamaremos a este valor *contribución* de l_i respecto a ξ_j .

Análogamente, como también se verifica que

$$\sum_j u_{ij}^2 = 1 \quad (2.5.34)$$

se puede interpretar cada u_{ij}^2 como un indicador del *reparto* de la variable l_i sobre la dirección canónica ξ_j .

Obsérvese que el número de variables originales a partir de las cuales se genere una ξ_i , repercute directamente sobre sus valores extremos. Por ejemplo, supóngase que a la formación de ξ_i contribuyen por igual dos variables: l_j y l_k . Si se asume para todas las l_i la restricción $-1 \leq l_i \leq 1$, entonces el recorrido de ξ_i viene dado por $\{-1.414, 1.414\}$. Sin embargo, si ξ_i se forma por la contribución igualitaria de 5 variables, entonces sus valores extremos serán $\{-2.236, 2.236\}$.

2.5.4.3.- Agregados canónicos. Las variables canónicas se pueden representar en la métrica original (cartesiana) de las variables. Dado que las l_i son los logaritmos naturales de los índices $X_i = x_i/x_{i0}$, la variable canónica

$$\xi_i = \sum_{j=1}^n u_{ij} l_j \quad (2.5.36)$$

se puede expresar como:

$$\exp(\xi_i) = \prod_{j=1}^n X_j^{u_{ij}} \quad (2.5.37)$$

Esta representación es esencialmente la misma que la sugerida por Savageau (véase Savageau 1976; 1988; Savageau *et al.*, 1987a) para caracterizar la agregación de variables. En la BST, una variable agregada viene a representar a una *variable fundamental*, como es por ejemplo la concentración de cofactores. En este contexto, la relación $X_k = X_k(X_1, \dots, X_p)$ queda definida, en términos del formalismo de la ley potencial, mediante la expresión

$$X_k = \gamma_k \prod_j X_j^{f_{kj}} \quad (2.5.38)$$

(debe observarse que aquí el coeficiente γ_k no es el gradiente canónico definido en este capítulo como γ_k). La analogía entre las expresiones (2.5.36) y (2.5.37) es evidente si se admite que la definición del agregado X_k viene dada por la descomposición de la respuesta en sus patrones fundamentales de cambio. Nótese

que en los *agregados canónicos* se tiene $\gamma_k=1$ y los f_{kj} están sujetos a la restricción impuesta por la normalización del autovector \mathbf{u}_j ; i.e. $|f_{kj}| \leq 1$.

2.5.5. Clasificación de la respuesta

La rotación del sistema de referencia inducida por \mathbf{U} lleva a una forma desacoplada de la superficie de segundo grado (por haberse eliminado los productos cruzados) que permite caracterizar la respuesta en términos de sus *efectos fundamentales*. Estos efectos fundamentales constan de dos componentes: uno lineal, dado en términos del vector γ , y otro cuadrático que queda determinado por los elementos de $\sigma(\mathbf{G})$. El vector γ es el gradiente de w_{PL2} relativo al origen ξ_0 . Dado que este punto coincide con \mathbf{x}_0 cuando se utiliza la escala original (cartesiana) de las variables, las coordenadas de γ pueden interpretarse como *órdenes cinéticos canónicos*, puesto que indican la variación de w a partir de w_0 según la dirección de las variables canónicas ξ . De manera análoga, cada uno de los elementos de $\sigma(\mathbf{G})$ constituye una medida de la curvatura que tiene la superficie en el origen y con respecto a una dirección canónica determinada. Por tanto, la separación de la linealidad queda resumida en un solo coeficiente (relativo a un determinado eje canónico), y no en dos, como ocurre al tratar con las variables originales, en donde se tienen los términos cuadráticos *puros*, que constituyen la diagonal de \mathbf{G} , y los restantes que corresponden a los productos cruzados.

La restricción de la respuesta a la dirección canónica inducida por \mathbf{u}_i se obtiene de manera inmediata, a partir de la forma canónica A , al variar ξ_i considerando el resto de las variables canónicas $\xi_j = \xi_{j0} = 0$ (para $j \neq i$). Obsérvese que ahora, al tratarse de los ejes canónicos, el hecho de modificar una variable (canónica) manteniendo fijas las demás, no supone una pérdida de información, como ocurriría al proceder así con las variables originales, puesto que como ya se ha visto, los efectos en cualquier dirección pueden expresarse como combinación lineal de los efectos que tienen lugar en las direcciones canónicas. Por tanto, la restricción de

$$w_{\text{PL2}} = w_0 + \sum_{i=1}^n \left(\gamma_i \xi_i + \frac{1}{2} \lambda_i \xi_i^2 \right), \quad (2.5.38)$$

a la dirección de \mathbf{u}_i viene dada por

$$w(\xi_i) = w_0 + \gamma_i \xi_i + \frac{1}{2} \lambda_i \xi_i^2, \quad (2.5.39)$$

y representa una *dirección fundamental de cambio* en w_{PL2} , que queda

caracterizada por el par de coeficientes (γ_i, λ_i) .

De forma adicional, la localización del punto estacionario w_e de w_{PL2} , puede resultar útil como complemento a los coeficientes anteriores. Supuesto $\lambda_i \neq 0$, de la expresión (2.5.14) se deduce que la localización del punto estacionario viene dada por

$$\xi_{ie} = -\frac{\gamma_i}{\lambda_i}. \quad (2.5.40)$$

La valoración de w_{PL2} en este punto resulta $w_{PL2}(\xi_e) = w_0 + \xi_e' \gamma$.

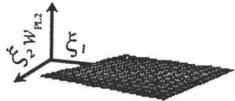
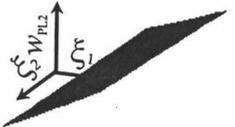
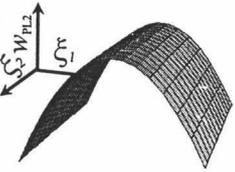
En la tabla 2.5.2 se esquematizan distintas situaciones que pueden aparecer al tratar con una superficie bidimensional. Para ganar en apreciación, se considera que la magnitud del cambio en una de las direcciones canónicas (digamos la de ξ_1) es muy superior al que se da en la otra dirección (ξ_2), de manera que el extremo de w_{PL2} va a tener, al menos, un grado de libertad. En la figura (a) se representa el caso en que la magnitud de los dos coeficientes canónicos relativos a ξ_1 es también baja. Entonces, la superficie describe una situación estacionaria en las dos direcciones. Consecuentemente, ξ_{1e} no proporciona información puesto que su valor puede ser arbitrariamente grande o pequeño en función de la relación que mantengan λ_1 y γ_1 . En el supuesto en que la magnitud de uno de los coeficientes sea muy superior a la del otro, la dirección considerada estará dominada por una pauta lineal, si es $|\lambda_1| \ll |\gamma_1|$ (figura b), o cuadrática, si se tiene $|\lambda_1| \gg |\gamma_1|$ (figura c). En el primer caso, el valor de la coordenada ξ_{1e} no aporta información, puesto que puede tomar un valor arbitrariamente alto, y el extremo se localiza muy alejado de la región definida por $[\xi_1^-, \xi_1^+]$. Sin embargo, si la pauta dominante es la cuadrática, el extremo de la función se alcanza dentro de la región de interés: $\xi_1^- \leq \xi_{1e} \leq \xi_1^+$, debiendo observarse que la posición relativa entre ξ_{1e} y ξ_{10} determina que la coordenada del gradiente γ_1 sea positiva, negativa o incluso nula, si $\xi_{1e} = \xi_{10}$. También es conveniente observar que la detección de un extremo condicionado debe interpretarse con precaución, ya que puede deberse a la presencia de un extremo condicionado que realmente describe el proceso (cf. con el ejemplo expuesto anteriormente de la inhibición incompetitiva), o bien deberse a la falta de ajuste propia de los modelos de segundo grado cuando, por ejemplo, está próxima la región de saturación (cf. con los perfiles presentados en la cinética de Hill; figura 2.3.2).

Una situación intermedia entre la (b) y la (c) es la representada en (d). Aquí, la curvatura es considerable pero el extremo se alcanza fuera de la región de interés, de manera que nos encontraríamos en una *ladera* de la superficie representada en (c). Este tipo de comportamiento es el propio de la región de transición en una cinética de saturación, en donde se pasa, por ejemplo, de una cinética de primer orden a otra de orden cero tal y como ocurre en el entorno de la k_m al considerar una cinética hiperbólica. En este caso, la distancia a ξ_{1e} es representativa de la distancia a la región de saturación.

2.5. Análisis canónico de la ley potencial de segundo grado.

En los casos descritos se asume que la superficie representada es globalmente convexa, en correspondencia con la idea que habitualmente se tiene de un proceso catalizado enzimáticamente. No obstante, en determinadas circunstancias y según se delimite la región de análisis, podrían darse situaciones distintas, por ejemplo al considerar la agregación de procesos o situaciones reversibles, en cuyo caso, la extrapolación de los principios expuestos resulta inmediata.

Tabla 2.5.2.- Interpretación esquemática de los coeficientes canónicos de una superficie bidimensional en la dirección de uno de los ejes, ξ_1 , asumiendo la falta de efecto en la otra dirección.

Pendiente ^(*) $ \gamma_1 $	Curvatura ^(*) $ \lambda_1 $	Localización del extremo ξ_{1e}	Ejemplo
↓	↓	ξ_{1e} arbitrario	 (a)
↑	↓	$\xi_{1e} \notin [\xi_1^-, \xi_1^+]$ puede ser arbitrariamente alto	 (b) ($\gamma_1 > 0$)
↓	↑	$\xi_{1e} \in [\xi_1^-, \xi_1^+]$	 (c) ($\lambda_1 < 0$)
↑	↑	$\xi_{1e} \rightarrow [\xi_1^-, \xi_1^+]$	 (d) ($\lambda_1 < 0, \gamma_1 > 0$)

* Los signos "↓" y "↑" indican una magnitud baja y alta respectivamente.

2.5.5.1. Importancia de cada dirección canónica sobre la respuesta. En cada una de las direcciones canónicas, la variación que experimenta la respuesta w_{PL2} se puede cuantificar a partir de las diferencias entre su valor nominal w_0 y las valoraciones $w_{\xi_i^-} = w(\xi_i^-)$ y $w_{\xi_i^+} = w(\xi_i^+)$, que resultarán ser

$$\begin{aligned} w_{\xi_i^-} - w_0 &= \gamma_i \xi_i^- + \frac{1}{2} \lambda_i \xi_i^{-2} \\ w_{\xi_i^+} - w_0 &= \gamma_i \xi_i^+ + \frac{1}{2} \lambda_i \xi_i^{+2} \end{aligned} \quad (2.5.41)$$

de manera que la magnitud de la suma cuadrática

$$\begin{aligned} Q_{\xi_i}^2 &= \left(w_{\xi_i^-} - w_0 \right)^2 + \left(w_{\xi_i^+} - w_0 \right)^2 \\ &= \left(\gamma_i \xi_i^- + \frac{1}{2} \lambda_i \xi_i^{-2} \right)^2 + \left(\gamma_i \xi_i^+ + \frac{1}{2} \lambda_i \xi_i^{+2} \right)^2 \end{aligned} \quad (2.5.42)$$

constituye una medida de la variación que experimenta w_{PL2} según la dirección del eje u_i en el recorrido de ξ_i (figura 2.5.2). Cuando se verifica $\xi_i^+ = -\xi_i^-$, entonces se puede expresar

$$Q_{\xi_i}^2 = 2 \left[\left(\gamma_i \xi_i^+ \right)^2 + \left(\frac{1}{2} \lambda_i \xi_i^{+2} \right)^2 \right] \quad (2.5.43)$$

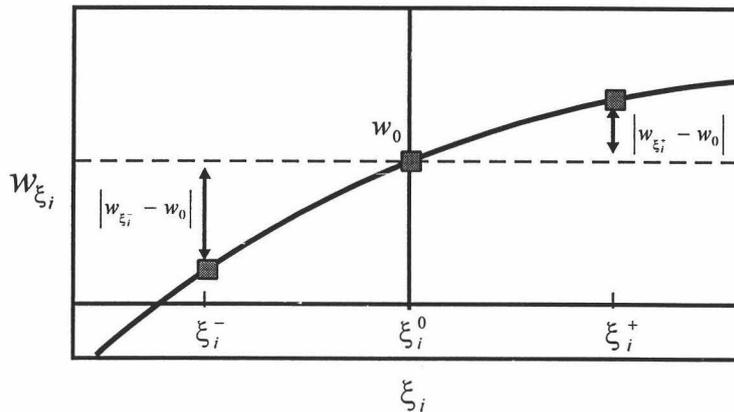


Figura 2.5.2.- Variación de w a lo largo del eje canónico ξ_i

Conviene destacar que $Q_{\xi_i}^2$ es una medida del cambio en w , sin discriminar cual es su naturaleza (cuadrática o lineal). Por otra parte, también conviene notar que en su elaboración se están considerando realmente tres puntos, ya que forzosamente $w_{\xi_i^0} - w_0 = 0$.

A partir de $Q_{\xi_i}^2$ es inmediato definir un cuadrado medio cuya raíz cuadrada

$$S_{\xi_i} = \sqrt{Q_{\xi_i}^2 / 2} \quad (2.5.44)$$

representa la variación de w_{PL2} según la dirección del eje \mathbf{u}_i , en términos de sus unidades originales. En caso de ser $\xi_i^+ = -\xi_i^-$, entonces S_{ξ_i} viene dado por

$$S_{\xi_i} = \xi_i^+ \sqrt{\gamma_i^2 + \left(\frac{1}{2} \lambda_i \xi_i^+\right)^2}. \quad (2.5.45)$$

El cociente entre S_{ξ_i} y w_0 permite, en principio, elaborar un coeficiente de variación que represente en términos porcentuales la variabilidad de w_{PL2} respecto a w_0 en el segmento de extremos (ξ_i^-, ξ_i^+) . Sin embargo, w_0 puede tomar valores absolutos inferiores a la unidad e incluso anularse, de manera que tal tipo de coeficiente resulta inadecuado.

Una alternativa para valorar la importancia relativa entre dos variables canónicas, es considerar la relación

$$Q_{\xi_i}^2 / Q_{\xi_j}^2. \quad (2.5.46)$$

También se puede considerar la proporción de variación debida a un eje respecto a la variación total

$$q_{\xi_i} = \frac{Q_{\xi_i}^2}{\sum_{j=1}^n Q_{\xi_j}^2} \quad (2.5.47)$$

2.5.5.2.- Reducción de las dimensiones canónicas de la respuesta. Cuando la respuesta no varía apreciablemente en alguna de las direcciones canónicas, es posible representarla de forma simplificada en términos de aquellas que sí tengan un efecto relevante.

Esta reducción de la dimensionalidad, que constituye una práctica habitual en la MSR, puede ser de interés a la hora de caracterizar un proceso y la forma en que se integra con otros. De hecho, puede ocurrir que, en base a la forma en que opera el sistema, algunas combinaciones canónicas estén indicando cuál es la dirección natural en que se modifica la actividad de una determinada etapa, resultando que otro tipo de cambios es más irrelevante.

Lo apropiado de la reducción se puede poner de manifiesto en términos del efecto de cada factor canónico, utilizando como criterio $Q_{\xi_i}^2$, o bien al observar el error transmitido a los coeficientes originales cuando se considera la transformación inversa a la canónica a partir del modelo reducido.

2.5.5.3- Recuperación de coeficientes. Considérese un modelo expresado en forma canónica A en donde las variables se numeran de manera que solo el efecto de las r primeras se considera relevante sobre la respuesta, siendo las $n+r$ restantes despreciables. Entonces, la restricción

$$w_{\text{PL}2r} = w_0 + \sum_{i=1}^r \left(\gamma_i \xi_i + \frac{1}{2} \lambda_i \xi_i^2 \right) \quad (2.5.48)$$

es una representación supuestamente adecuada para explicar $w_{\text{PL}2}$ reduciendo la dimensionalidad de n a r coordenadas canónicas.

Obviamente, un criterio para valorar la calidad de la aproximación es considerar la magnitud de los factores omitidos, i.e.:

$$w_{\text{PL}2} - w_{\text{PL}2r} = \sum_{i=r+1}^n \left(\gamma_i \xi_i + \frac{1}{2} \lambda_i \xi_i^2 \right) \quad (2.5.49)$$

Sin embargo, también puede ser de interés analizar la capacidad de recuperación del modelo original a partir de la forma restringida. De forma general, si se define la matriz diagonal de restricción \mathbf{R} con dimensión $n \times n$ y elementos $r_i (=r_{ii})$ tales que $r_i=1$ si el término i -ésimo se incluye en el modelo y $r_i=0$ en caso contrario, entonces es inmediato escribir el modelo restringido como

$$w_{\text{PL}2\mathbf{R}} = w_0 + \xi' \mathbf{R} \boldsymbol{\gamma} + \frac{1}{2} \xi' \boldsymbol{\Lambda}_{\mathbf{R}} \xi \quad (2.5.50)$$

en donde se ha considerado $\boldsymbol{\Lambda}_{\mathbf{R}} = \mathbf{R} \boldsymbol{\Lambda}$.

Considerando la transformación inversa a la que dio lugar al vector $\boldsymbol{\gamma}$, la recuperación de los coeficientes de \mathbf{g} viene dada por:

$$\mathbf{g}_{\mathbf{R}} = \mathbf{U} \mathbf{R} \boldsymbol{\gamma} \quad (2.5.51)$$

El error implicado $\mathbf{g} - \mathbf{g}_{\mathbf{R}} = \mathbf{U} (\mathbf{I}_n - \mathbf{R}) \mathbf{g}$, se puede expresar en términos relativos

$$\text{ER}(g_i) = \left| \frac{g_i - g_{i_{\mathbf{R}}}}{g_i} \right| \quad (2.5.52)$$

para obtener:

$$\text{ER}(g_i) = \left| \frac{\sum_{j=1}^n (1 - r_j) u_{ij} \gamma_j}{\sum_{j=1}^n u_{ij} \gamma_j} \right| \quad (2.5.53)$$

De forma análoga se puede estudiar la calidad de la recuperación de los coeficientes de segundo grado. Considerando

$$\mathbf{G}_R = \mathbf{U} \Lambda_R \mathbf{U}' \quad (2.5.54)$$

el error relativo para cada uno de los g_{ij} puede expresarse como

$$\text{ER}(g_{ij}) = \left| \frac{\sum_{k=1}^n (1-r_k) u_{jk} u_{ik} \lambda_k}{\sum_{j=1}^n u_{jk} u_{ik} \lambda_k} \right| \quad (2.5.55)$$

2.5.5.4.- Aplicación del análisis canónico para valorar la calidad de la aproximación PL1. La caracterización de la respuesta que se obtiene de la descomposición canónica de un modelo de segundo grado, proporciona criterios adecuados para valorar la idoneidad de la representación mediante el formalismo de primer grado.

Como se ha puesto de manifiesto, la descomposición canónica supone determinar cuáles son las direcciones del cambio y, en términos cualitativos, cómo se da dicho cambio según cada una de esas direcciones. Por tanto, la calidad de la aproximación del formalismo PL1, o dicho en otros términos, la linealidad de la respuesta en el espacio log-log, puede caracterizarse en función de la magnitud del autovalor λ asociado a cada dirección.

Como ilustración considérense las situaciones representadas en la tabla 2.5.2. Si bien el caso (a) resulta trivial por representar la falta de respuesta, en (b) la respuesta es lineal en la dirección ξ_1 y una representación de primer grado es adecuada. Sin embargo, en una situación como la representada en (c), el modelo de primer grado no se adapta al comportamiento fundamental del proceso, que es en esta dirección, de naturaleza puramente cuadrática. La situación intermedia entre las dos anteriores, representada en (d), supone una falta de linealidad cuya caracterización es inmediata a partir de la magnitud del valor λ asociado. Se ganará más en apreciación al examinar los diagramas de contorno de la función de error representados en la figura 2.4.4. Los contornos del error relativo del formalismo de primer grado son más elongados en el mecanismo de la inhibición competitiva que en el de la inhibición acompetitiva. Obsérvese además, la dirección en que se da en cada caso el aumento del error. Mas adelante se volverá sobre esta idea al considerar la descomposición canónica de los mecanismos de inhibición.

La agregación de etapas individuales es un proceso fundamental para obtener una representación en forma de sistema S. La calidad de la representación

en sistemas S se ha puesto de manifiesto en relación con casos concretos pero sin un criterio que llegue mas allá de la mera evidencia *a posteriori* (véase Voit y Savageau, 1987). El análisis canónico permite caracterizar de manera apropiada la función que resulta de un proceso de agregación, poniendo de manifiesto las condiciones en que se da, o se deja de dar, una descripción adecuada en términos del formalismo de primer orden.

2.5.6. Ejemplos de análisis

2.5.6.1. Ejemplo 1: Análisis canónico del modelo de Inhibición incompetitiva. La inhibición incompetitiva es un mecanismo atípico cuando se trata de sistemas unireactivos, sin embargo, constituye un ejemplo sencillo de adición secuencial de dos ligandos enzimáticos en un orden obligado, resultando ser un proceso frecuente en sistemas multireactivos (Segel, 1975).

La valoración del modelo clásico de inhibición incompetitiva

$$v = \frac{V_m x_1}{k_1 + \left(1 + \frac{x_2}{k_2}\right) x_1} \quad (2.5.56)$$

en los parámetros

$$V_{max}=1; k_1=1; k_2=1; x_{10}=1; x_{20}=1 \quad (2.5.57)$$

conduce a una representación estandarizada del proceso cuya aproximación w_{PL2} viene dada por $w_{PL2} = w_0 + \mathbf{l}'\mathbf{g} + \frac{1}{2}\mathbf{l}'\mathbf{G}\mathbf{l}$, con

$$w_0 = -1.0986, \quad \mathbf{g} = \begin{pmatrix} 0.333 \\ -0.333 \end{pmatrix}, \quad \frac{1}{2}\mathbf{G} = \begin{pmatrix} -0.111 & -0.056 \\ -0.056 & -0.111 \end{pmatrix} \quad (2.5.58)$$

El espectro de $\frac{1}{2}\mathbf{G}$ viene dado por $\sigma(\frac{1}{2}\mathbf{G}) = \{-0.167, -0.056\}$, de manera que la matriz de rotación es

$$\mathbf{U} = \begin{pmatrix} 0.707 & 0.707 \\ 0.707 & -0.707 \end{pmatrix}. \quad (2.5.59)$$

que diagonaliza a $\frac{1}{2}\mathbf{G}$ dando lugar a:

$$\Lambda = \begin{pmatrix} -0.167 & 0 \\ 0 & -0.056 \end{pmatrix}. \quad (2.5.60)$$

El gradiente de w_{PL2} respecto al sistema de referencia canónico, que se obtiene como $\gamma = U^t g$, resulta

$$\gamma = \begin{pmatrix} 0 \\ 0.471 \end{pmatrix}. \quad (2.5.61)$$

Finalmente, dividiendo cada coordenada de γ por la coordenada de λ correspondiente, se obtiene, tras cambiar el signo, la localización del extremo de la superficie:

$$\xi_e = \begin{pmatrix} 0 \\ 4.240 \end{pmatrix}. \quad (2.5.62)$$

La rotación inducida por U conduce a la formación de las variables canónicas $\xi_1 = 0.7071(l_1 + l_2)$ y $\xi_2 = 0.7071(l_1 - l_2)$. Como ya se ha indicado, cada u_{ij} representa al coseno del ángulo que forma la dirección de la nueva variable ξ_j respecto a la definida por la variable original l_i . Como $\cos(45^\circ) = 0.7071$, la dirección de la variable canónica ξ_1 es la bisectriz del primer cuadrante del sistema de referencia definido por las direcciones de l_1 y l_2 . Análogamente, la dirección de ξ_2 es la definida por la bisectriz del cuarto cuadrante del sistema de referencia original (figura 2.5.3). Por tanto, es inmediato deducir que la *participación* de cada variable es la misma en la definición de cada uno de los ejes canónicos (como proporción 0.7071^2 supone el 50%). Del mismo modo, resulta que cada variable tiene un *reparto* igualitario en cada una de las direcciones canónicas.

Las direcciones obtenidas pueden ser interpretadas como sigue. Hay dos pautas de comportamiento características del proceso de inhibición competitiva. La primera, definida por ξ_1 , la proporciona la variación en el mismo sentido del sustrato y del inhibidor. La segunda, definida por ξ_2 , caracteriza la descompensación entre los niveles de sustrato e inhibidor.

Atendiendo a sus efectos, la pauta definida por ξ_1 es de naturaleza puramente cuadrática: $\gamma_1 = 0$ y $\lambda_1 < 0$, con un punto estacionario que coincide con el centro de aproximación (tal y como se deduce si lo determinamos con la expresión (2.4.3)). El perfil ofrecido por w_{PL2} siguiendo la dirección de ξ_1 es precisamente el que se consideró en el apartado 2.4, donde se puso de manifiesto la presencia de este extremo condicionado.

En contraste, en la dirección de ξ_2 se da una pauta preferentemente lineal, ya que la elipse es más elongada en esta dirección. No obstante, aunque la magnitud del coeficiente cuadrático es reducida, el valor de λ_2 pone de manifiesto

la curvatura propia de la saturación del proceso, que se da en la medida en que aumenta la concentración de sustrato y se reduce la de inhibidor (cf. con la figura 2.5.3). Sin embargo, la región donde se da la cinética de orden cero no está próxima al centro de aproximación, tal y como se deduce de la magnitud de la coordenada ξ_{2e} , que indica la localización del punto estacionario de la superficie cuadrática en la dirección de ξ_2 (figura 2.5.4).

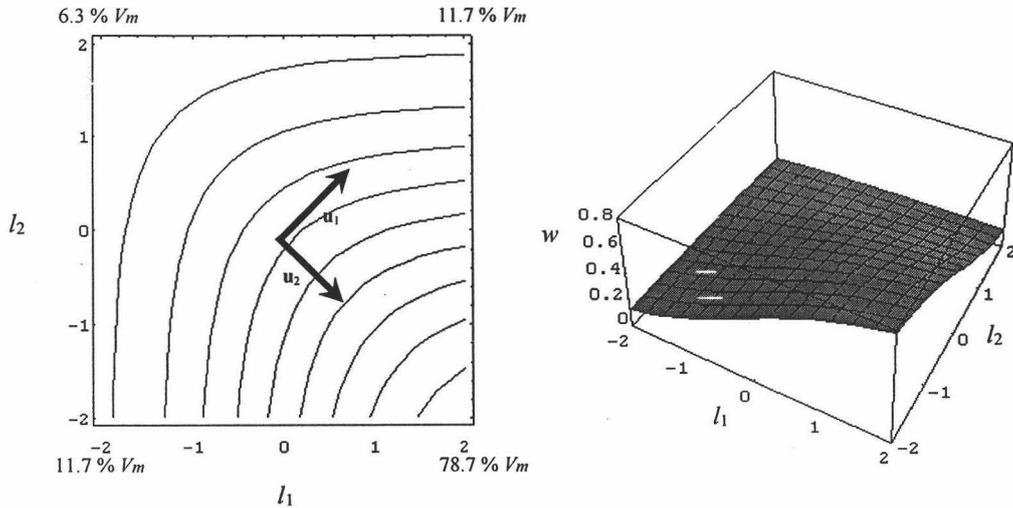


Figura 2.5.3.- Superficie obtenida a partir del mecanismo de inhibición acompetitiva en coordenadas logarítmicas (ecuación (2.5.56) valorada según se indica en (2.5.57)). Sobre el diagrama de contorno de la izquierda se ha representado el sistema de referencia canónico. Los valores de los vértices indican el valor de v en términos proporcionales a V_{max} .

En términos de las coordenadas canónicas, el modelo puede reducirse a

$$w_{PL2} \cong w_0 + \gamma_2 \xi_2 + \lambda_1 \xi_1^2 \quad (2.5.63)$$

en donde queda representada de manera explícita la dependencia de tipo lineal respecto a ξ_2 y de naturaleza cuadrática respecto a ξ_1 . A partir de este modelo, la recuperación de los órdenes cinéticos de primer orden es completa al considerar $g_{10} = u_{12}\gamma_2$ y $g_{20} = u_{22}\gamma_2$. Sin embargo, la omisión del componente cuadrático para ξ_2 da lugar a una matriz de coeficientes de segundo grado mas deficiente:

$$\frac{1}{2} \mathbf{G}_R = \begin{pmatrix} -0.0833 & -0.0833 \\ (25\%) & (50\%) \\ -0.0833 & -0.0833 \\ (50\%) & (25\%) \end{pmatrix} \quad (2.5.64)$$

en donde los porcentajes entre paréntesis indican el error relativo implicado.

La descomposición canónica permite valorar la calidad de una aproximación de primer grado en función de los principios operativos del sistema. Si el funcionamiento es tal que los aumentos en x_1 se correlacionan con reducciones de x_2 (se sigue la dirección de ξ_2), la exactitud de la aproximación PL1 al proceso se mantendrá en un intervalo mas amplio que si la dinámica del sistema induce cambios de las dos variables en el mismo sentido (según la dirección de ξ_1) (cf. con la 2.4.4).

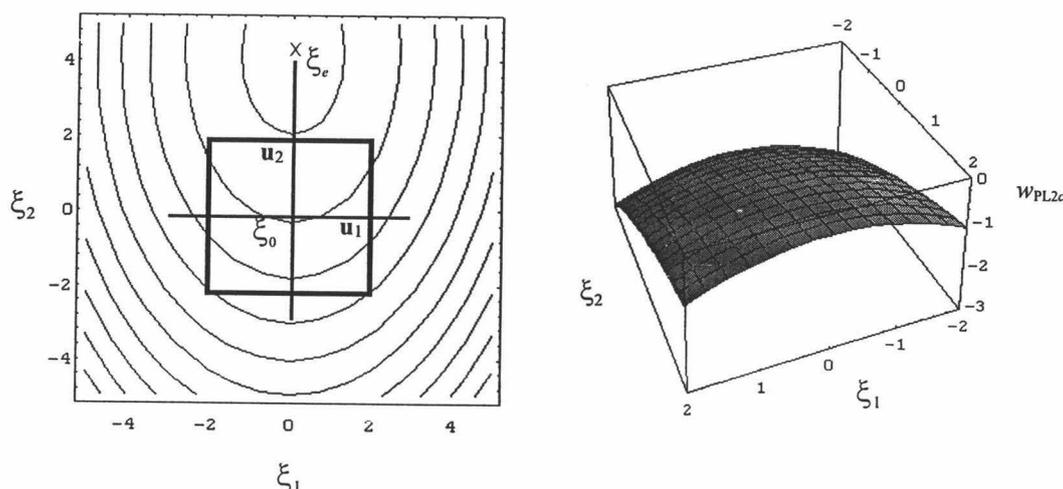


Figura 2.5.4.- Superficie w_{PL2} de aproximación al mecanismo de inhibición competitiva orientada según el sistema de referencia canónica. En el diagrama de contorno de la izquierda se ha considerado un recinto de análisis mas extenso para proporcionar una visión ampliada de la superficie. Los parámetros son los indicados en (2.5.58).

Comparación con la inhibición competitiva. Utilizando los mismos valores dados en (2) para evaluar el modelo clásico de inhibición competitiva

$$v = \frac{V_m x_1}{k_1 \left(1 + \frac{x_2}{k_2}\right) + x_1}$$

la formulación w_{PL2} resultante queda determinada por

$$w_0 = -1.0986, \quad \mathbf{g} = \begin{pmatrix} 0.667 \\ -0.333 \end{pmatrix}, \quad \frac{1}{2} \mathbf{G} = \begin{pmatrix} -0.111 & -0.056 \\ -0.056 & -0.111 \end{pmatrix}. \quad (2.5.65)$$

La matriz hessiana es la misma que la obtenida para el modelo de inhibición acompetitiva y, por tanto $\sigma(\frac{1}{2}\mathbf{G}) = \{-0.167, -0.056\}$. Sin embargo, la relación de las direcciones canónicas con la forma en que varía la respuesta es diferente. Considerando

$$\mathbf{U} = \begin{pmatrix} -0.707 & 0.707 \\ 0.707 & 0.707 \end{pmatrix}, \quad (2.5.66)$$

el producto $\mathbf{U}^t \mathbf{g}$ da lugar a :

$$\gamma = \begin{pmatrix} -0.7071 \\ 0.2357 \end{pmatrix}. \quad (2.5.67)$$

El aumento conjunto de los niveles de sustrato e inhibidor (dirección $\xi_2 = 0.7071l_1 + 0.7071l_2$) se traduce en una tendencia predominantemente lineal ($\gamma_2 = 0.236; \lambda_2 = 0.056$) que induce un aumento en el nivel de la respuesta. Sin embargo, es en la descompensación entre los niveles de sustrato e inhibidor (dirección $\xi_1 = -0.7071l_1 + 0.7071l_2$) en donde se refleja el componente cuadrático mayor. No obstante, en esta dirección la magnitud del gradiente es mucho mas acusada que en la dirección equivalente relativa al caso de inhibición acompetitiva, de tal manera que la velocidad de reacción es mucho mas sensible a los aumentos en el nivel de sustrato que se vean acompañados por reducciones en el nivel de inhibidor.

Obsérvese que en el caso de la inhibición acompetitiva las pautas lineal y cuadrática se segregan de manera clara en las dos direcciones canónicas. Sin embargo, en el mecanismo de inhibición competitiva aparece una dirección fundamental de cambio, la que define \mathbf{u}_1 , según la cual se da un gradiente de magnitud considerable, pero que varía al separarse del origen debido a un componente cuadrático importante. En términos cuantitativos, la variación de w_{PL2} en cada dirección se puede caracterizar según el valor de Q_{ξ}^2 . Considerando los extremos de l_i como ± 1 , entonces los extremos para ξ_1 y ξ_2 vienen dados por ± 1.4142 , de donde se obtiene

$$Q_{\xi_1^+}^2 = 2.2222$$

$$Q_{\xi_2^+}^2 = 0.2469$$

resultando que

$$Q_{\xi_1^+}^2 / Q_{\xi_2^+}^2 = 9.00$$

o también: $q_{\xi_1^+} = 90\%$ frente a $q_{\xi_2^+} = 10\%$.

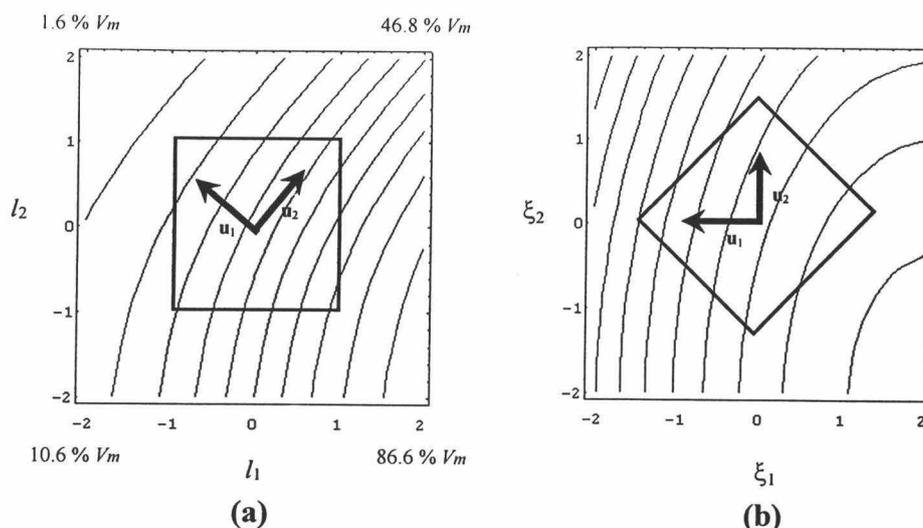


Figura 2.5.5.- Mecanismo de inhibición competitiva. **(a)** Contornos obtenidos a partir del modelo racional y **(b)** aproximación de segundo grado orientada según las direcciones canónicas.

Por otra parte, las coordenadas del extremo en w_{PL2} son ahora

$$\xi_e = \begin{pmatrix} 2.1213 \\ -2.1213 \end{pmatrix}. \quad (2.5.68)$$

No se alcanza, como en el caso anterior, ningún extremo condicionado. Sin embargo, el aumento de sustrato acompañado de la retirada de inhibidor lleva antes a la región de saturación que en el caso anterior.

2.5.6.2.- Ejemplo 2. Control de la Fosfofructokinasa. El siguiente modelo fue formulado por Ritcher y Betz (1976) para describir la regulación de la actividad PFK en base a la carga energética celular, que viene dada en función de los niveles de ATP y de AMP:

$$v = V_{max} \frac{x_3/k_{13} (x_3/k_{13} + 1)^3}{L \frac{(x_1/k_{11} + 1)^4}{(x_2/k_{12} + 1)^4} + (x_3/k_{13} + 1)^4} \frac{x_1}{(k_1 + x_1)}, \quad (2.5.69)$$

en donde las variables se han nombrado como sigue:

$$x_1 = [\text{ATP}]; x_2 = [\text{AMP}]; x_3 = [\text{F6P}]. \quad (2.5.70)$$

El primer miembro de la ecuación (2.5.69) está basado en el modelo de Monod sobre control alostérico. Representa la modulación de la transformación de F6P (x_3) en FBP por parte del ATP (x_1), que actúa como efector negativo, y del AMP (x_2), que interviene como efector positivo. El otro término representa la cinética hiperbólica relativa al papel del ATP como segundo sustrato de la reacción. Los valores asumidos para los parámetros del modelo así como para los valores nominales de las concentraciones se han tomado de Spain (1985) y se presentan en la tabla 2.5.3.

Tabla 2.5.3.- Valores asumidos para los parámetros del modelo de Ritche y Betz*.

Concentraciones (x_0) (mM)	Parámetros (mM, salvo L que es adimensional)
$x_{10} = 1.5$	$k_1 = 0.01; k_{12} = 0.01$
$x_{20} = 0.3$	$k_{11} = 0.02; k_{13} = 0.03$
$x_{30} = 0.5$	$L = 250$

* Tomados de Spain (1985; pág. 240)

El modelo original no contempla de manera explícita la concentración de la PFK, que queda incluida en V_{max} . En adelante se asumirán los valores de w como fracción de V_{max} , de manera que $w = \ln v/V_{max}$.

La representación PL2 de la ecuación (2.5.69) centrada en los valores indicados en la tabla (2.5.3) queda definida por

$$w_{PL2} = w_0 + \mathbf{l}'\mathbf{g} + \frac{1}{2}\mathbf{l}'\mathbf{G}\mathbf{l}$$

siendo

$$w_0 = -0.153575,$$

$$\mathbf{g} = \begin{pmatrix} -0.3283 \\ 0.3284 \\ 0.3768 \end{pmatrix}, \quad \frac{1}{2}\mathbf{G} = \begin{pmatrix} -0.6104 & 0.5932 & 0.5783 \\ 0.5932 & -0.5764 & -0.5671 \\ 0.5783 & -0.5671 & -0.5705 \end{pmatrix}. \quad (2.5.71)$$

Es destacable la magnitud de los coeficientes de segundo grado, especialmente los correspondientes a las interacciones, que llegan a ser 6 veces

superiores a los lineales (nótese que en 2.5.71 se indica $\frac{1}{2} g_{ij}$).

La resolución de la ecuación característica $|\frac{1}{2}\mathbf{G} - \lambda\mathbf{I}_3| = 0$ permite obtener el espectro de $\frac{1}{2}\mathbf{G}$, que resulta

$$\sigma(\frac{1}{2}\mathbf{G}) = \{-1.7453, -0.0128, 0.0007\}. \quad (2.5.72)$$

Una primera impresión es que, prácticamente, todo el componente no lineal (en términos del espacio doble logarítmico) se da en una sola dirección canónica, la asociada a λ_1 . La matriz de rotación \mathbf{U} se construye a partir de los autovectores asociados a $\sigma(\frac{1}{2}\mathbf{G})$, resultando:

$$\mathbf{U} = \begin{pmatrix} -0.5896 & 0.5566 & 0.5853 \\ 0.5746 & -0.2202 & 0.7882 \\ 0.5676 & 0.8011 & -0.1900 \end{pmatrix}. \quad (2.5.73)$$

Al considerar $\Lambda = \mathbf{U}'(\frac{1}{2}\mathbf{G})\mathbf{U}$ y $\gamma = \mathbf{U}'\mathbf{g}$ se obtiene

$$\Lambda = \begin{pmatrix} -1.7453 & & 0 \\ & -0.0128 & \\ 0 & & 0.0007 \end{pmatrix} \quad \text{y} \quad \gamma = \begin{pmatrix} 0.5961 \\ 0.0468 \\ -0.0048 \end{pmatrix}. \quad (2.5.74)$$

El examen de \mathbf{U} permite observar cómo a la definición del primer eje canónico contribuyen por igual las tres variables implicadas: $u_{i1}^2 \cong 33.3\%$ (para $i=1,2,3$). El segundo eje está localizado prácticamente en el plano formado por l_3 y l_1 (con mayor proyección sobre l_3), y para el tercer eje se tiene una situación parecida, puesto que se localiza en el plano constituido por l_1 y l_2 (teniendo mayor proyección sobre l_2). Sin embargo, al valorar la magnitud del cambio en cada una de las tres direcciones obtenidas, según la magnitud de los coeficientes de γ y de Λ , es manifiesta la poca relevancia de las direcciones definidas por \mathbf{u}_2 y \mathbf{u}_3 en comparación con la definida por \mathbf{u}_1 . Este aspecto queda caracterizado de manera mas concisa en términos de q_ξ . En la tabla 2.5.4 se resumen los elementos del análisis considerado. Obsérvese que el cambio según el primer eje canónico representa el 99.98% del cambio total en w_{PL2} al considerar como región de análisis la definida por $-1 \leq l_i \leq 1$.

La constitución del agregado canónico ξ_1 , en función del cual se explica el 99% de la variación de la respuesta, indica que el papel que está desempeñando el ATP es como inhibidor, y no como sustrato (esto viene dado por la elección realizada del centro de aproximación). Por otra parte, un aumento en el nivel de ATP (x_1) queda compensado (en el sentido de mantener la velocidad constante) con un aumento de la misma magnitud en AMP (x_2) o en F6P (x_3).

Tabla 2.5.4.- Elementos del análisis canónico de la superficie w_{PL2} relativa al modelo de Ritche y Betz.

	Dirección u_1	dirección u_2	dirección u_3
ξ	$\xi_1 =$ $-0.59l_1 + 0.57l_2 + 0.57l_3$	$\xi_2 =$ $0.55l_1 - 0.22l_2 + 0.80l_3$	$\xi_3 =$ $0.58l_1 + 0.79l_2 - 0.19l_3$
γ	0.5961	0.0468	-0.0048
λ	-1.7453	-0.0128	0.0007
ξ_e	0.1708	1.8287	3.2326
$\sum_i u_{ij} ^{(*)}$	1.7318	1.5779	1.5635
$Q_{\xi_i^+}^2$	56.9289	0.0129	0.0001
$q_{\xi_i^+}$	99.98%	$2.2 \cdot 10^{-2}\%$	$2.1 \cdot 10^{-4}\%$

(*) Proporciona ξ_i^+ en base a considerar $-1 \leq l_i \leq 1$

La preponderancia de la primera variable canónica permite simplificar la representación del modelo a la expresión

$$w_{PL2} \cong w_0 + \gamma_1 \xi_1 + \lambda_1 \xi_1^2. \quad (2.5.75)$$

El valor de $q_{\xi_1^+}$ ya da una idea de la exactitud de la misma. No obstante, lo adecuado de esta representación se puede juzgar, de manera adicional, al considerar el error de recuperación de los coeficientes a partir de las expresiones

$$g_{u_1} = \gamma_1 u_1 \quad (2.5.76)$$

y

$$G_{u_1} = 2\lambda_1 u_1 u_1^t, \quad (2.5.77)$$

que dan lugar a:

$$g_{u_1} = \begin{pmatrix} -0.3515 \\ (7.1\%) \\ 0.3425 \\ (4.3\%) \\ 0.3383 \\ (10.2\%) \end{pmatrix}; \quad \frac{1}{2} G_{u_1} = \begin{pmatrix} -0.6067 & 0.5913 & 0.5841 \\ (0.60\%) & (0.30\%) & (1.00\%) \\ 0.5913 & -0.5762 & -0.5692 \\ & (0.03\%) & (0.40\%) \\ 0.5841 & -0.5692 & -0.5623 \\ & & (1.40\%) \end{pmatrix} \quad (2.5.78)$$

(las anotaciones entre paréntesis indican el error relativo de recuperación de cada coeficiente respecto a los valores originales dados en 2.5.71).

El interés del análisis canónico para caracterizar el comportamiento de un proceso complejo, se hace evidente si se repasa en los tres modelos considerados. El modelo mecanicista de Ritcher y Betz (2.5.69) será el más adecuado para describir el funcionamiento de la PFK en términos de los tres efectores considerados (ATP, AMP y F6P). Sin embargo, el elevado grado de complejidad descriptiva que implica este modelo, lo hace inmanejable cuando se considera su integración con otros procesos. Una vez establecido un valor nominal x_0 , lo adecuado de la aproximación mediante un desarrollo en serie de Taylor viene avalado por la teoría matemática de la aproximación. El examen de los coeficientes de la matriz hessiana del modelo w_{PL2} , ponen de manifiesto el elevado grado de interacción entre las variables implicadas en el entorno del valor nominal. Esto implica que el gradiente de la función de velocidad variará notablemente en la medida en que las concentraciones de los intermediarios se desvíen del centro de aproximación. No obstante, la expresión del modelo w_{PL2} no proporciona una idea clara de la forma que adopta la superficie, pues todos los elementos de G vienen a tener la misma magnitud. La rotación inducida por la transformación $\xi = U'I$, resume toda la no linealidad del modelo en un solo coeficiente (λ_1) y una dirección en el espacio de I . De forma adicional, en esta dirección queda explicado todo el comportamiento de la respuesta, ya que la componente lineal de importancia también se da en términos de ξ_1 . Por otra parte, el hecho de ser $\lambda_1 > \gamma_1$ implica que el extremo de w_{PL2} se va a localizar próximo al centro de aproximación; concretamente $\xi_{1e} = 0.17$ (figura 2.5.6). La naturaleza del extremo debe ser interpretada con precaución, pues debido a la fuerte curvatura de la superficie aproximada, la rama parabólica descendente puede deberse a la falta de ajuste del modelo cuadrático. Que esto es así se deduce de la consideración de la superficie original (figura 2.5.7). En la figura 2.5.8 se representan los contornos obtenidos al valorar el modelo de Ritcher y Betz y el w_{PL2} (este último orientado según las direcciones canónicas).

El problema es que en el interior del recinto de análisis que se ha considerado se alcanza la saturación del proceso. El modelo de segundo grado caracteriza bien la curvatura hasta alcanzar la cinética de orden cero, puesto que utiliza el máximo de la superficie cuadrática. Sin embargo, más allá de este punto, la propia estructura del modelo cuadrático impone el cambio en el signo del gradiente, de manera que lo que debería ser una *meseta estacionaria* queda representado por una *ladera descendente*. No obstante, este problema viene determinado, fundamentalmente, por el hecho de que toda la información que lleva a la determinación de los parámetros de w_{PL2} procede de un único punto, el valor nominal, y la derivada de la función original w en dicho punto. No se considera la información que aportarían otros puntos, como bien pudieran ser los extremos (I_i^-, I_i^+) . Este aspecto será tratado más adelante, en el capítulo 3, donde se volverá a considerar el modelo actual de la cinética de la PFK pero desde una perspectiva más propia del método estadístico.

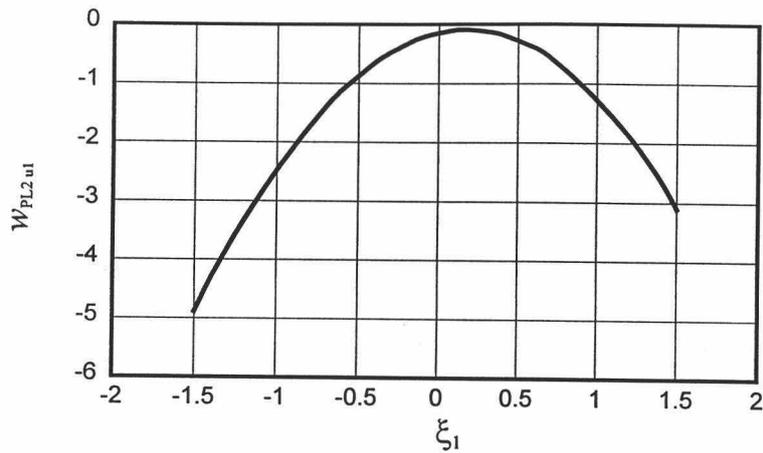
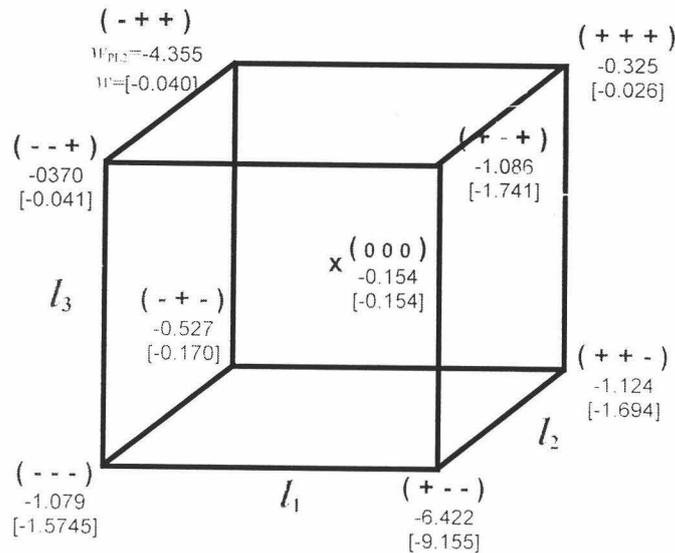


Figura 2.5.6.- Proyección de w_{PL2} sobre el primer eje canónico (cf. con la figura 2.5.8).



Variables de diseño	$l^- = -1$	$l_0 = 0$	$l^+ = 1$
Variables originales	$x_i^- = 0.37 x_{i0}$	$x_i = x_{i0}$	$x_i^+ = 2.72 x_{i0}$
x_1	0.5518	1.50	4.0774
x_2	0.1104	0.30	0.8155
x_3	0.1839	0.50	1.3591

Figura 2.5.7.- Recinto de análisis del modelo y valoración de las variables que intervienen.

2.5. Análisis canónico de la ley potencial de segundo grado.

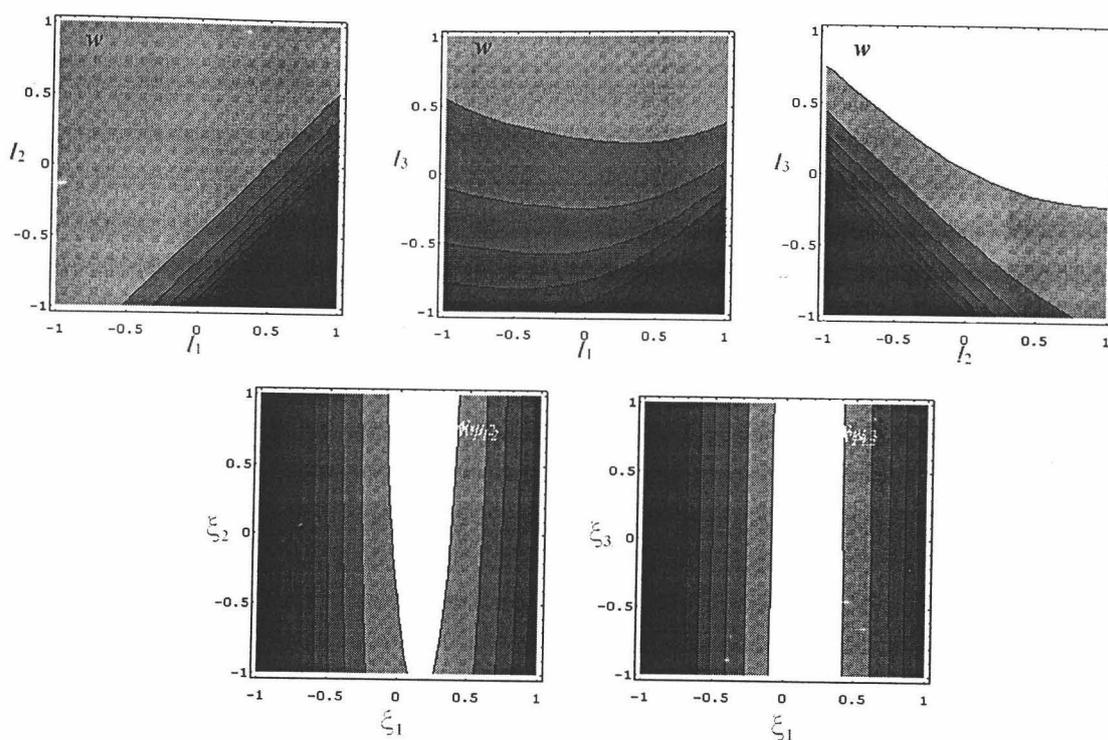


Figura 2.5.8.- Proyecciones de la superficie w_{PL2} sobre los planos definidos por cada pareja de variables. Arriba en coordenadas logarítmicas y abajo en coordenadas canónicas (el diagrama de contorno correspondiente a la proyección sobre el plano formado por ξ_2 y ξ_3 se ha suprimido debido a que la cinética es estacionaria en esta dimensión).

2.5.6.3. Ejemplo 3: Comparación entre las estrategias reversible e irreversible. Análisis de la cinética de la fumarasa. En términos analíticos, la obtención de un modelo PL1 a partir de la formulación mecanicista de una cinética de carácter reversible, puede hacerse según dos criterios. Si convenimos en expresar el modelo mecanicista como

$$v(\mathbf{x}) = \frac{P_N^+(\mathbf{x}) - P_N^-(\mathbf{x})}{P_D(\mathbf{x})} \quad (2.5.79)$$

en donde $P(\mathbf{x})$ representa un polinomio respecto a las variables de concentración de manera que $P_D(\mathbf{x})$ es el polinomio del denominador, y $P_N^+(\mathbf{x})$ y $P_N^-(\mathbf{x})$ son los polinomios que permiten caracterizar la dirección del flujo neto respecto a un intermediario dado, digamos x_i . La justificación de esta forma de expresar la ley de velocidad puede verse en Savageau, 1969a ; 1972 o 1976.

Un primer criterio es desarrollar en serie de Taylor el logaritmo de $v(\mathbf{x})$ tal y como está formulada en (+). El otro, es hacer dos aproximaciones: una sobre el

influjo neto: considerando $P_N^-(\mathbf{x})=0$, y otra sobre el eflujo neto: tomando $P_N^+(\mathbf{x})=0$. En el primer caso se obtiene una sola expresión, digamos $v_{PL1}(\mathbf{x})$, que permite caracterizar el funcionamiento del proceso original en una única dirección (la de influjo o la de eflujo). En el segundo caso, se obtienen dos expresiones: $v_{PL1}^+(\mathbf{x})$ y $v_{PL1}^-(\mathbf{x})$, cuya diferencia permite representar la inversión del flujo. Estos dos criterios se corresponden con las estrategias *reversible* e *irreversible* consideradas por Sorribas y Savageau (1989c).

En la BST han sido utilizadas las dos alternativas descritas de aplicación del formalismo de la ley potencial sobre un modelo mecanicista. Como ejemplos puntuales sirvan los siguientes: (1) aproximación a la cinética de la fumarasa en el modelo sobre el metabolismo de *Dictyostelium discoideum* (Shiraishi y Savageau, 1992a), en donde se utiliza la estrategia irreversible; y (2) la aproximación a la cinética de las transcetolasas I y II, o de la transaldolasa en el modelo sobre el metabolismo del eritrocito humano (Ni y Savageau, 1996a), en donde se opta por la estrategia reversible.

En la revisión sobre los aspectos fundamentales de la BST hecha en el capítulo 1, ya se han visto los criterios bajo los cuales se considera superior la estrategia reversible (según Sorribas y Savageau, 1989c). Un criterio adicional para discriminar entre la calidad de las dos representaciones lo proporciona el análisis canónico.

A continuación se va a tratar este aspecto sobre la etapa de la fumarasa, de acuerdo a la consideración hecha por Shiraishi y Savageau (1992a) a partir del modelo de Albe y Wright (1992). Según estos autores, la transformación reversible de ácido fumárico en ácido málico en *D. discoideum*, viene dada por el modelo michaeliano:

$$v(\mathbf{x}) = \frac{x_3(x_1 - x_2/10)}{0.1 + x_1 + 0.1x_2} \quad (2.5.80)$$

en donde x_1 representa la concentración de ácido fumárico, x_2 la de ácido málico y x_3 la de la propia enzima. Los valores nominales de las tres especies considerados por Shiraishi y Savageau (op. cit.) son:

$$x_{10} = 4.0 \times 10^{-2}; \quad x_{20} = 2.2 \times 10^{-1}; \quad x_{30} = 25.7 \quad (2.5.81)$$

La superficie de saturación de este modelo se representa en la figura 2.5.8.

En base a los valores nominales considerados, la aplicación del formalismo de la ley potencial de primer orden según la estrategia irreversible, da lugar al modelo:

$$v_{PL1} = 8.21 X_1^{1.98} X_2^{-1.36} X_3 \quad (\text{Shiraishi y Savageau, 1992a}) \quad (2.5.82)$$

2.5. Análisis canónico de la ley potencial de segundo grado.

(en donde la notación utilizada es la propia de la BST, de manera que el valor 8.21 es el correspondiente al parámetro α según se define en esta teoría). Obsérvese que la magnitud de los órdenes cinéticos aparentes es superior de lo que cabría esperar de un proceso típicamente micheliano. Por otra parte, la concentración de ácido málico actúa como inhibidor de su propia síntesis a partir del fumárico, siendo inviable la inversión del flujo a partir del modelo obtenido.

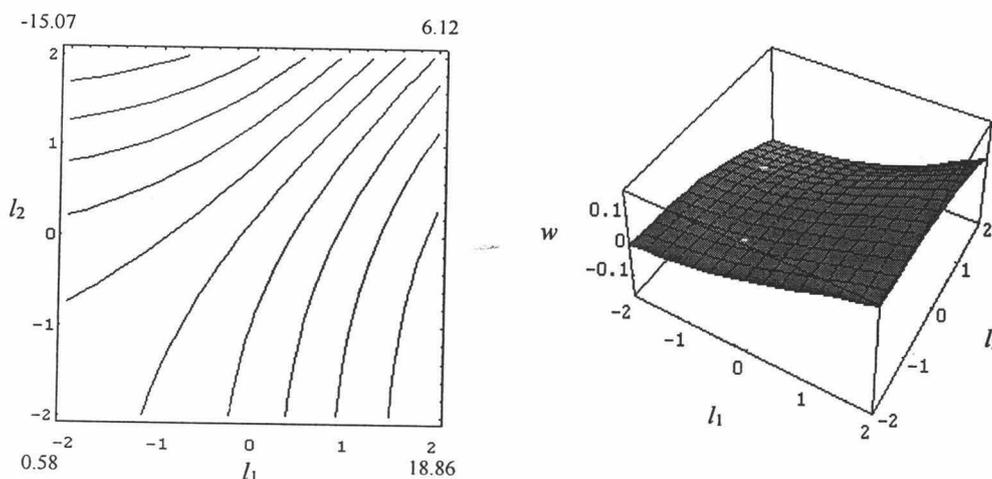


Figura 2.5.8.- Representación de la superficie generada por el modelo michaeliano para la actividad de la fumarasa. Se ha considerado una traslación de la respuesta para poder representar los valores negativos en coordenadas logarítmicas.

La aplicación del formalismo de segundo grado, según la línea considerada en este trabajo, da lugar a los parámetros:

$$w_0 = 1.0493; \mathbf{g} = \begin{pmatrix} 1.9753 \\ -1.3580 \\ 1 \end{pmatrix}; \frac{1}{2} \mathbf{G} = \begin{pmatrix} -1.4510 & 1.3748 & 0 \\ 1.3748 & -1.4167 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (2.5.83)$$

Dada la linealidad de $v(\mathbf{x})$ respecto a la concentración de enzima, su consideración en el análisis subsiguiente no aporta ninguna información, de manera que se excluirá esta variable pudiendo así suprimir la fila y la columna de ceros de la matriz hessiana.

El análisis canónico del modelo de segundo grado obtenido da lugar a los siguientes elementos:

$$\gamma = \begin{pmatrix} -2.3597 \\ -0.4218 \end{pmatrix}; \quad \Lambda = \begin{pmatrix} -2.8087 & 0 \\ 0 & -0.0589 \end{pmatrix};$$

$$\mathbf{U} = \begin{pmatrix} -0.7115 & -0.7027 \\ 0.7027 & -0.7115 \end{pmatrix}; \quad (2.5.84)$$

Como es de esperar, la mayor variación de la respuesta se da en la dirección del eje \mathbf{u}_1 , que representa la descompensación entre los niveles de los dos intermediarios (obsérvese que la contribución de las dos variables es la misma). Al considerar un recinto de ± 1 en términos de las l_i , se tiene:

$$q_{\xi_1^+} = 99\% \text{ y } q_{\xi_2^+} = 1\%,$$

de donde se deduce que el cambio según la dirección de \mathbf{u}_2 (la variación en el mismo sentido de la concentración de los dos intermediarios) no tiene un efecto apreciable sobre la respuesta (figura 2.5.9).

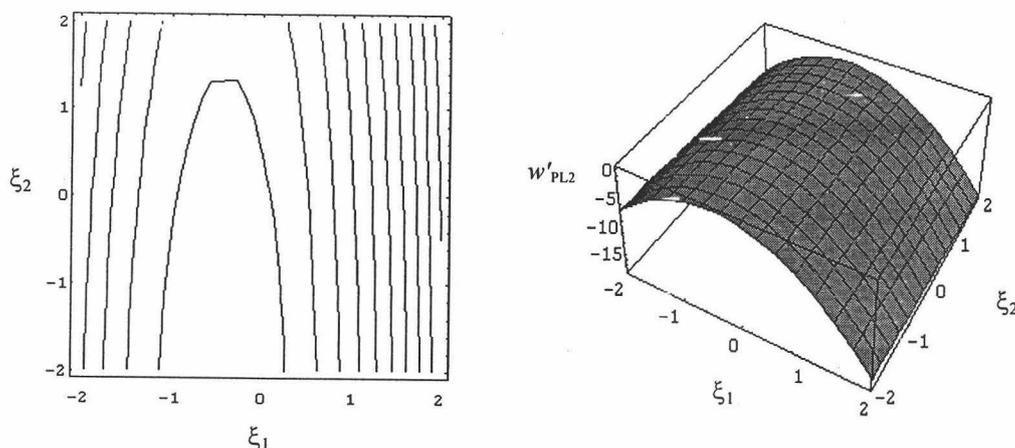


Figura 2.5.9.- Contornos de la superficie w_{PL2} según la orientación de los ejes canónicos.

Del resultado obtenido, es inmediato caracterizar la actividad de la fumarasa en los términos:

$$w_{PL2}(\xi_1) = 1.0493 - 2.3597\xi_1 - 2.8087\xi_1^2 \quad (2.5.85)$$

en donde se pone de manifiesto la relevancia del componente cuadrático. Esta fuerte curvatura implica que el error de truncamiento del formalismo de primer orden es considerable y, por tanto, que el gradiente de w (i.e., el vector de

órdenes cinéticos aparentes) puede variar apreciablemente en el entorno del centro de aproximación.

Según la *estrategia reversible*, la aproximación de segundo grado al influjo sobre el ácido málico ($x_1 \rightarrow x_2$) da lugar a los parámetros:

$$w_0^+ = 1.8478; \mathbf{g}^+ = \begin{pmatrix} 0.7531 \\ -0.1358 \\ 1 \end{pmatrix}; \frac{1}{2}\mathbf{G}^+ = \begin{pmatrix} -0.0930 & 0.0168 & 0 \\ 0.0168 & -0.0587 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}$$

mientras que la aproximación al proceso inverso ($x_1 \leftarrow x_2$) resulta

$$w_0^- = 1.2499; \mathbf{g}^- = \begin{pmatrix} -0.2469 \\ 0.8642 \end{pmatrix}; \mathbf{G}^- = \mathbf{G}^+.$$

La igualdad de las hessianas se traduce en que las matrices Λ y \mathbf{U} van a ser las mismas en los dos sentidos del flujo, resultando:

$$\Lambda = \begin{pmatrix} -0.0998 & 0 \\ 0 & -0.0518 \end{pmatrix}; \mathbf{U} = \begin{pmatrix} -0.9260 & -0.3775 \\ 0.3775 & -0.9260 \end{pmatrix}$$

Por otra parte, los gradientes canónicos son

$$\gamma^+ = \begin{pmatrix} -0.7486 \\ -0.1585 \end{pmatrix} \text{ y } \gamma^- = \begin{pmatrix} 0.5549 \\ -0.7070 \end{pmatrix}$$

que al considerarlos junto a los elementos de \mathbf{U} , ponen de manifiesto que x_1 actúa como efector positivo en w_{PL2}^+ y como efector negativo en w_{PL2}^- , ocurriendo al contrario al referirnos a x_2 . Sin embargo, el aspecto que mas interesa destacar es la pérdida de curvatura en las dos representaciones relativas a la estrategia reversible (cf. la matriz Λ obtenida ahora con la relativa a la estrategia irreversible).

Per tanto, un método de diagnóstico válido para cuantificar la posible superioridad de una estrategia de agregación concreta, lo proporciona el análisis canónico de las representaciones de segundo grado de los modelos alternativos. En la misma línea del análisis mostrado para la cinética de la fumarasa, se ha realizado para la transaldolasa y las transcetolasas I y II del modelo sobre el metabolismo del eritrocito humano realizado por Ni y Savageau. El resultado ha sido el mismo: la estrategia irreversible da lugar a modelos con un componente cuadrático de mayor magnitud que la estrategia reversible.

2.6. Cambio de aproximación por reducción del grado

Si bien un modelo de segundo grado va a permitir una descripción más fiel del sistema bajo estudio, su mayor complejidad puede suponer un inconveniente al no ser posible aplicar muchos de los criterios y técnicas desarrolladas en el contexto de la BST. Sin embargo, la formulación PL2 puede constituir un soporte muy adecuado para el refinamiento de un modelo de primer grado o para formular modelos de este tipo alternativos sin suponer un coste experimental añadido. La idea principal que se pretende desarrollar en este apartado es que la superioridad, en cuanto a exactitud de aproximación, de la formulación PL2 respecto a la PL1, permite determinar con mayor precisión cuál es el valor nominal en el que opera el sistema, de forma que sea posible obtener representaciones PL1, mediante lo que se podría definir como una *modulación de parámetros*, a partir de un modelo PL2.

Para facilitar el análisis, supóngase una simple ley de velocidad dependiente de una sola variable de concentración: $v = v(x)$. La aproximación de segundo grado a v en el punto $x=x_0$ da lugar a los parámetros:

$$\begin{aligned} g_1(x_0) &= \left. \frac{\partial \ln v(x)}{\partial \ln x} \right|_{x=x_0} \\ g_2(x_0) &= \left. \frac{\partial^2 \ln v(x)}{\partial (\ln x)^2} \right|_{x=x_0} \end{aligned} \quad (2.6.1)$$

en donde se expresa de forma explícita que los coeficientes g son relativos al punto x_0 , y se eliminan los subíndices innecesarios para simplificar la notación, llamando g_1 y g_2 a las derivadas de primer y segundo grado respectivamente. En estas condiciones, la aproximación PL2 viene dada por:

$$v_{\text{PL2}} = v(x_0) \left(\frac{x}{x_0} \right)^{g_1(x_0) + \frac{1}{2} g_2(x_0) \ln(x/x_0)} \quad (2.6.2)$$

La reducción del grado en el punto x_0 , para obtener un modelo PL1, es inmediata, ya que el logaritmo del exponente se anula y por tanto

$$v_{\text{PL1}_0} = v(x_0) X^{g_1(x_0)}, \quad (2.6.3)$$

en donde se indica con el subíndice PL1₀ la elección de x_0 como centro de aproximación y $X=x/x_0$. En este caso, el modelo de segundo grado no aporta nada nuevo a un ajuste directo de primer grado. Sin embargo, la situación toma mayor



interés cuando se elige un valor nominal x_c diferente a x_0 . Entonces, si la distancia entre estos dos puntos no es demasiado grande, v_{PL2} puede servir como soporte adecuado para obtener un desarrollo en serie de Taylor de primer grado en escala doble logarítmica, según queda expresado con:

$$T_1(w_{PL2_0}(x), x_c) = w_{PL2_0}(x_c) + \left. \frac{d w_{PL2}(x)}{d \ln x} \right|_{x=x_c} (\ln x - \ln x_c). \quad (2.6.4)$$

La evaluación del modelo cuadrático en x_c , que constituye el primer término de la serie, viene dada por

$$w_{PL2_0}(x_c) = w(x_0) + [g_1(x_0) + \frac{1}{2}g_2(x_0)\ln(x_c/x_0)]\ln(x_c/x_0) \quad (2.6.5)$$

y su tangente en dicho punto será

$$\left. \frac{\partial w_{PL2_0}(x)}{\partial \ln x} \right|_{x=x_c} = g_1(x_0) + g_2(x_0)\ln(x_c/x_0). \quad (2.6.6)$$

Este valor constituye el orden cinético aparente del modelo PL1 como aproximación del PL2, de manera que v_{PL1} queda finalmente representado como

$$v_{PL1_c} = v_{PL2_0}(x_c) X^{g_1(x_0) + g_2(x_0)\ln(x_c/x_0)} \quad (2.6.7)$$

en donde se hace explícito que está referido al centro de aproximación x_c , y por tanto, ahora $X = x/x_c$.

A modo de ilustración, considérese una ley cinética que presente un punto extremo, por ejemplo un mecanismo de inhibición por sustrato o perfiles de procesos ping-pong o de inhibición clásica de tipo acompetitivo o no competitivo (cf. con los apartados 2.3 o 2.4). En estas situaciones, la aproximación PL2 centrada en el punto de extremo de la ley de velocidad, es muy eficiente. Sin embargo, las aproximaciones de tipo PL1 son cualitativamente opuestas a uno u otro lado de dicho punto. En la figura 2.6.1 se ha representado una cinética de inhibición por sustrato aproximada mediante una función PL2 en el valor que genera el máximo:

$$x_0 = \sqrt{k_m/k_i} \quad (2.6.8)$$

(véase el apartado 2.3.2). A ambos lados de este punto se han obtenido dos modelos PL1 utilizando como centros de aproximación x_{c_1} y x_{c_2} , que corresponden a una variación del 20% respecto a x_0 . El aspecto mas notable es la diferencia cualitativa que existe entre los dos modelos de primer grado aún

cuando los centros de aproximación son relativamente cercanos. En esta situación, el modelo de segundo grado es mucho más robusto, pues mantiene su exactitud en un rango notablemente más amplio que el correspondiente a las aproximaciones de primer grado, captando además el comportamiento que caracteriza al proceso. Esta superioridad es muy sugerente ante una situación experimental, donde la forma de la ley de velocidad $v=v(x)$ es desconocida. En estas condiciones, se puede utilizar la aproximación de segundo grado como *soporte* para obtener modelos de primer grado, tal y como se hace, en un contexto puramente analítico, a partir del modelo mecanicista v . La calidad de la aproximación así obtenida dependerá, sobre todo, de la distancia entre el centro de aproximación PL2 y el punto elegido para desarrollar la PL1. Si esta distancia no es muy grande, las aproximaciones de primer grado que se obtienen sobre el modelo de segundo grado v_{PL2} son prácticamente idénticas a las que se obtienen directamente a partir de la función original v . En la tabla 2.6.1 se presentan los parámetros que caracterizan a los modelos representados en la figura 2.6.1. La pequeña variación entre las velocidades v y v_{PL2} en los puntos x_{c1} y x_{c2} , da lugar a constantes cinéticas aparentes prácticamente idénticas en los modelos de primer grado resultantes al aproximar sobre v y sobre v_{PL2} . La diferencia entre los órdenes cinéticos aparentes, relativos a las aproximaciones alternativas, tampoco es significativa (la tasa de variación no supera en ninguno de los casos al 1.5%).

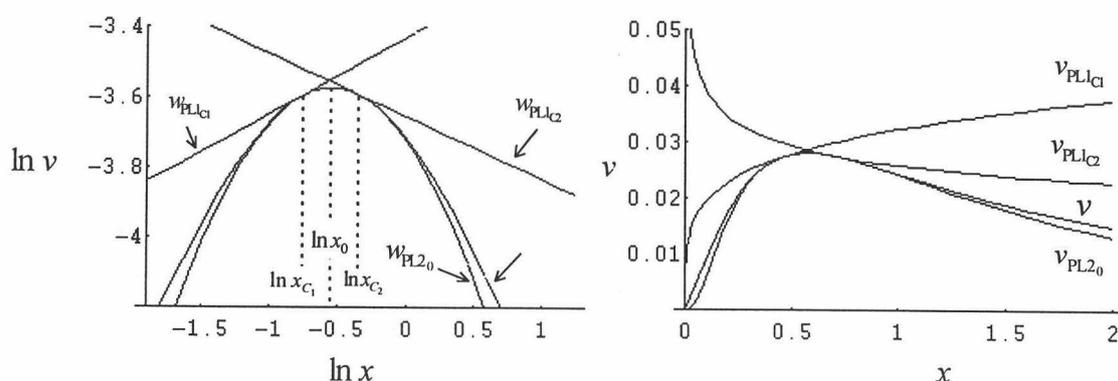


Figura 2.6.1.- Cinética de inhibición por sustrato y aproximación de segundo grado PL2 que permite obtener las dos aproximaciones de primer grado representadas como PL1_{c1} y PL1_{c2} en diferentes centros de aproximación. En la representación de la izquierda se utilizan coordenadas logarítmicas y a la derecha aparecen los mismos modelos según su representación cartesiana. La cinética original utilizada así como los valores de los parámetros de cada modelo se presentan en la tabla subsiguiente.

Tabla 2.6.1.- Descripción del modelo original utilizado y de la aproximación v_{PL2} . Modelos alternativos v_{PL1} .

Modelo original:

$$v = x / (k_m + x + k_i x^2)$$

$k_m=10; k_i=30$ (unidades arbitrarias)

Aproximación PL2:

$$v_{PL2_0} = 0.02805 \left(\frac{x}{0.58} \right)^{-0.972 \ln(x/0.58)}$$

$g_1=0; g_2=-0.972$

Valoración de la función original y la PL2 en los puntos nominales

	$x_{c1} = 0.46188$	$x_0 = 0.57735$	$x_{c2} = 0.69282$
v	0.027392	0.028050	0.027610
v_{PL2}	0.027387	0.028050	0.027610

Modelos PL1 resultantes (según los parámetros de la BST)

Aproximación		Parámetros PL1	
sobre:	basada en:	α	g
x_{c1}	v	0.032388	0.213499
	v_{PL2}	0.032382	0.216982
x_{c2}	v	0.032646	-0.175349
	v_{PL2}	0.032382	-0.177206

La cinética presentada puede parecer un caso extremo, ya que la aproximación de segundo grado se comporta especialmente bien cuando se desarrolla sobre un máximo. Sin embargo, el ejemplo es ilustrativo de la importancia que tiene una elección adecuada del centro de aproximación, así como de la capacidad de los modelos cuadráticos para servir como soporte para el desarrollo de modelos de primer grado.

La elección del centro de aproximación suele hacerse de forma previa a la formulación del modelo. De hecho, es una práctica muy frecuente recurrir a diferentes fuentes bibliográficas para obtener datos relativos a parámetros cinéticos y concentraciones de intermediarios, que serán considerados de forma conjunta al formular el modelo. Este proceder es justificable si se considera el coste experimental que puede suponer obtener el conjunto de datos necesarios a partir de un experimento programado. Pero en contrapartida, hay que tener presente las muy probables deficiencias en cuanto a homogeneidad experimental se refiere (véase Box et al., 1988, donde se previene sobre los peligros de ajustar modelos a datos ya existentes). Como consecuencia, cabe esperar que los valores

utilizados para formular el modelo, procedentes de diferentes fuentes, no sean los mismos que los que se obtendrían de forma conjunta y haciendo uso de técnicas de diseño experimental.

Este argumento puede ser suficiente para justificar la necesidad de un refinamiento del modelo *a posteriori*. Sin embargo, no es el único. De un experimento bien diseñado se pueden esperar buenas estimaciones de los valores buscados, pero téngase presente, que estos valores estarán sujetos a error experimental, de manera que, en el mejor de los casos, lo que puede darse es un intervalo mas o menos estrecho que contendrá al valor buscado con una cierta probabilidad. En este sentido, también puede revestir interés aprovechar la superioridad del modelo de segundo grado para refinar el correspondiente modelo de primer grado.

A continuación se presenta un ejemplo que permite contrastar esta idea. En la figura 2.6.2 se representa un sencillo modelo secuencial constituido por dos variables dependientes, una independiente y tres etapas de velocidad. La primera y la última de estas etapas son cinéticas hiperbólicas. En la segunda se ha introducido cierta complejidad con el fin de diversificar el modelo, tratándose de una cinética sigmoideal en donde el producto actúa como inhibidor.

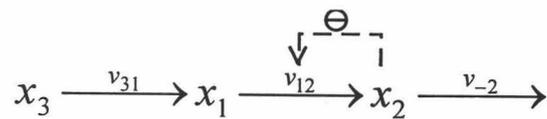


Figura 2.6.2.- Esquema metabólico secuencial con retroinhibición por producto final. Los modelos y parámetros de los que se ha derivado la aproximación potencial son los siguientes: v_{12} y v_{-2} son cinéticas unireactivas de tipo hiperbólico con $k_m=3$ en los dos casos. La etapa v_{31} es una cinética de inhibición competitiva alostérica dada por (Segel,

1993)

$$v_{31} = \frac{\alpha(1 + \alpha + \gamma)^{n-1}}{L + (1 + \alpha + \gamma)^n},$$

en donde se ha utilizado $n=2.5$, $\alpha = x_1/0.10$, $\gamma = x_2/0.15$ y $L=1000$. En los tres casos la velocidad máxima asumida es 1 y la elección de las unidades es arbitraria.

Si se asumen los valores nominales $x_{10}=1.5$, $x_{20}=1.1$ y $x_{30}=3.0$ (unidades arbitrarias), los modelos PL1 y PL2 obtenidos son, respectivamente, los siguientes¹:

$$PL1: \begin{cases} \dot{x}_1 = 0.500 X_3^{0.500} - 0.466 X_1^{0.800} X_2^{-0.098} \\ \dot{x}_2 = 0.466 X_1^{0.800} X_2^{-0.098} - 0.268 X_2^{0.732} \end{cases} \quad (2.6.9)$$

¹ Los modelos PL1 de este apartado se expresan utilizando la notación de los PL2 y no la estándar de la BST. Los resultados se presentan con tres cifras decimales, sin embargo, los cálculos se han realizado siempre con aritmética de doble precisión.

$$\text{PL2:} \begin{cases} \dot{x}_1 = 0.500 X_3^{0.500-0.120l_3} - 0.466 X_1^{0.800-0.294l_1-0.095l_2} X_2^{-0.098-0.095l_1-0.096l_2} \\ \dot{x}_2 = 0.466 X_1^{0.800-0.294l_1-0.095l_2} X_2^{-0.098-0.095l_1-0.096l_2} - 0.268 X_2^{0.732-0.098l_2} \end{cases} \quad (2.6.10)$$

en donde $X_1=x_1/1.500$; $X_2=x_2/1.100$ y $X_3=x_3/3.000$ y $l_i=\text{Ln } X_i$ para $i=1,2,3$.

La estimación de las concentraciones de x_1 y x_2 en el estado estacionario cambian en función del modelo utilizado. En la tabla 2.6.2 se resumen estos valores, que se han obtenido algebraicamente para el modelo PL1 (véase el capítulo 1) y por simulación mediante el programa *SPL2* para el modelo PL2 (utilizando en este caso, los puntos x_{i0} como condiciones iniciales). El modelo PL1 subestima el punto de estado estacionario respecto a la aproximación dada por el PL2, que da valores superiores en un 47% y un 13% para x_1 y x_2 respectivamente.

Por reducción del grado en el punto de estado estacionario a partir de la aproximación PL2, se obtiene el modelo PL1' siguiente:

$$\text{PL1':} \begin{cases} \dot{x}_1 = 0.500 X_3^{0.500} - 0.500 X_1^{0.273} X_2^{-0.394} \\ \dot{x}_2 = 0.500 X_1^{0.273} X_2^{-0.394} - 0.500 X_2^{0.539} \end{cases} \quad (2.6.11)$$

en donde ahora $X_1=x_1/2.682$, $X_2=x_2/2.929$ y $X_3=x_3/3.000$. Como era de esperar, el estado estacionario pronosticado por el modelo PL1' es exactamente el mismo que el pronosticado por el PL2, ya que la nueva aproximación está centrada en ese punto.

Tabla 2.6.2.- Valores de estado estacionario para los modelos dados en (2.6.9) a (2.6.11). La variable independiente x_3 es siempre $x_3=3$ ($=x_{30}$).

Variable	Modelo		
	PL1 ⁽¹⁾	PL2 ⁽²⁾	PL1' ⁽¹⁾
x_1	1.81887	2.68208	2.68208
x_2	2.57566	2.92941	2.92941

(1) Valores obtenidos algebraicamente

(2) Valores obtenidos mediante simulación (*SPL2*) utilizando como condiciones iniciales los valores nominales de las variables.

Un análisis mas detallado del ejemplo propuesto, permite apreciar como la superior capacidad predictiva del modelo de segundo grado no se limita a la mayor exactitud en la caracterización de los niveles de estado estacionario. Las diferencias en los valores paramétricos de los dos modelos de primer grado PL1 y

PL1' origina que dichos modelos no sean equivalentes. Según el PL1, donde el nivel estacionario de x_1 es mas bajo, la etapa v_{12} está menos saturada que en la situación descrita por el PL1', tal y como se deduce de la magnitud del orden cinético aparente g_{21} ($= h_{11}$) para cada caso. Así, un valor $g_{21}=0.800$ en el primer modelo, supone que el proceso v_{12} es mas sensible a las variaciones de x_1 que en el segundo, en donde $g_{21}=0.273$. Por tanto, la capacidad de respuesta a los cambios externos también es diferente en ambas situaciones. Esto se pone de manifiesto al evaluar, por ejemplo, la ganancia logarítmica L_{13} en cada caso. En el modelo PL1, la capacidad de respuesta a la variación de x_3 es mayor que en el PL1', y un aumento del 10% en x_3 induce un aumento de tan solo el 7% en x_1 . Sin embargo, según el modelo PL1', el mismo aumento en x_3 induce una amplificación en x_1 de aproximadamente un 32% sobre su valor estacionario. En la tabla ** se resumen las ganancias logarítmicas obtenidas según cada uno de los modelos considerados. Puede comprobarse que las ganancias estimadas por simulación del modelo de segundo grado coinciden con las (calculadas algebraicamente) a partir del modelo PL1' obtenido por reducción del grado. Estos valores son notablemente distintos a las ganancias obtenidas a partir de la aproximación de primer grado original PL1.

Tabla 2.6.3.- Ganancias logarítmicas de los modelos dados en (2.6.9) a (2.6.11). (L_{ij} es la ganancia logarítmica de x_i respecto a x_j y $x_3=x_{30}=3$).

Variable	Modelo		
	PL1 ⁽¹⁾	PL2 ⁽²⁾	PL1' ⁽¹⁾
L_{13}	0.70861	3.29888	3.16912
L_{23}	0.68362	0.92612	0.92694

(1) Valores obtenidos algebraicamente

(2) Valores obtenidos mediante simulación (SPL2) utilizando como condiciones iniciales los valores nominales de las variables.

Para finalizar este apartado, se formalizará la reducción del modelo de segundo grado siguiendo la notación matricial.

Cada una de las etapas de velocidad v_i , viene descrita, según la formulación PL2 en coordenadas logarítmicas, por la expresión:

$$w_{PL2_i} = w_{i0} + I' g_i + \frac{1}{2} I' G_i I. \quad (2.6.12)$$

De la igualdad

$$\frac{\partial w_i}{\partial l_j} = \frac{\partial \ln v_i}{\partial \ln x_j} \quad (2.6.13)$$

se deduce que la derivada parcial de w_i respecto a l_j es el orden cinético aparente de la variable j -ésima respecto a la ley de velocidad v_i . Dado que la derivada (matricial) de la forma cuadrática $l'G_i l$ es (c.f. Peña, 1989b):

$$\frac{\partial(l'G_i l)}{\partial l} = 2G_i l, \quad (2.6.14)$$

la expresión matricial para los OCA relativos al vector l y la aproximación PL2 de la etapa v_i viene dada por:

$$\frac{\partial w_{PL2_i}}{\partial l} = g_i + G_i l, \quad (2.6.15)$$

que constituye un vector con la misma dimensión que l y que denominaremos \check{g}_i . A partir del vector Γ_i , definido en el apartado 2.2, y de g es inmediato expresar \check{g}_i , ya que

$$\check{g}_i = \Gamma_i - g_i. \quad (2.6.16)$$

Cada una de las coordenadas de \check{g}_i , al ser evaluadas en el punto $\mathbf{x}=\mathbf{x}_c$, representan una aproximación lineal al orden cinético aparente de la etapa $v_i(\mathbf{x})$ con respecto a la variable x_j en dicho punto. Denominaremos $\check{g}_{ij}(\mathbf{x}_c)$ a cada una de estas coordenadas que quedan definidas por:

$$\check{g}_{ij}(\mathbf{x}_c) = g_{ij0} + \sum_{k=1}^{n+m} g_{ijk} l_{kc}. \quad (2.6.17)$$

siendo $l_{kc} = \ln(x_{kc} / x_{k0})$.

De este modo, la representación de una etapa v_i mediante un modelo de primer grado obtenido por reducción de uno de segundo grado en el punto \mathbf{x}_c queda definida por:

$$v_{PL1_i}(\mathbf{x}) = v_{PL2_i}(\mathbf{x}_c) \prod_{j=1}^{n+m} X_j^{\check{g}_{ij}(\mathbf{x}_c)} \quad (2.6.18)$$

en donde $X_j = x_j / x_{jc}$.

2.7. Formulación respecto a centros de aproximación alternativos

El punto elegido como centro de aproximación para el desarrollo en serie según el formalismo de la ley potencial, es el determinante de las propiedades que será capaz de reproducir el modelo, ya sea este de primero o de segundo grado. Este aspecto es especialmente relevante cuando la aproximación se hace de forma analítica, a partir de los modelos clásicos de tipo mecanicista, puesto que la elección de un determinado punto puede condicionar un ajuste especialmente bueno en un amplio recorrido de las variables pero, sin embargo, resultar que el sistema opera básicamente en el entorno de un valor nominal diferente. Es entonces particularmente interesante el hecho de poder formular el modelo de acuerdo a un centro de aproximación pero hacerlo operativo respecto a un punto diferente.

Supóngase un modelo en donde la etapa v_i viene descrita, en términos de la formulación PL2, por la expresión:

$$v_i(x) = v_{i0} X_1^{g_{i10} + \frac{1}{2} g_{i11} l_1}, \quad (2.7.1)$$

siendo $X_1 = x/x_0$ y x_0 el valor más adecuado para llevar a cabo el ajuste. Sin embargo, se desea referir el sistema a un valor x'_0 , diferente al x_0 preestablecido, pero manteniendo la calidad del ajuste conseguida al utilizar este último valor como centro de aproximación. Esto se puede conseguir introduciendo la variable auxiliar

$$X_2 = \frac{x'_0}{x_0}, \quad (2.7.2)$$

que actuará a modo de variable independiente, es decir, sin una ecuación diferencial asociada y, por tanto, con un valor siempre constante, de manera que $X_1 = X'_1 X_2$, siendo

$$X'_1 = \frac{x_0}{x'_0}. \quad (2.7.3)$$

En consecuencia, $v_i(x)$ se podrá expresar

$$v_i(x) = v_{i0} X'_1^{g_{i10} + \frac{1}{2}(g_{i11} l'_1 + g_{i12} l_2)} X_2^{g_{i20} + \frac{1}{2}(g_{i21} l'_1 + g_{i22} l_2)}, \quad (2.7.4)$$

con $v_{i0} = v_i(x_0)$, $l'_1 = \ln(x_1 / x'_0)$ y $l_2 = \ln(x'_0 / x_0)$. El aparente aumento del número de parámetros no es tal, ya que $g_{i12} = g_{i11}$ y $g_{i2k} = g_{i1k}$ para $k=0,1,2$, con lo que

$$G_{i1}(l'_1, l_2) \equiv G_{i2}(l'_1, l_2). \quad (2.7.5)$$

A modo de ilustración se presenta el siguiente ejemplo. Una cinética sigmoideal se aproxima globalmente mal cuando se utiliza como centro un valor inferior al punto crítico $x_c = k_m(n-1)^{1/n}$ (cf. con el apartado 2.3). Sin embargo, la elección de un valor x_0 superior a x_c da lugar a aproximaciones cualitativamente muy superiores a la hora de caracterizar la cinética de saturación, y que siguen siendo adecuadas para caracterizar el proceso a bajas concentraciones de sustrato. En la figura 2.7.1 se representa tal situación. La elección de un valor nominal inferior al de x_c , $x_0 = 0.6k_m$, da lugar a una aproximación localmente convexa que resulta inadecuada para describir la saturación del proceso. Por el contrario, el modelo desarrollado sobre el punto $x_0 = 1.6k_m$ es preferible aún cuando el error en el punto anterior $0.6k_m$ sea relativamente mayor. Sin embargo, el acoplamiento de esta etapa con las otras reacciones que componen el sistema, puede imponer, a efectos de homogeneidad de las variables, que el valor nominal al que este referida la etapa v_i sea $x_0 = 0.6$. Esto se puede hacer introduciendo en el modelo original, dado por

$$v_{PL2(x_0=1.6k_m)} = 0.8038 X_1^{0.587-0.7098l_1} \quad (2.7.6)$$

con $X_1 = x/1.6$ y l_1 su logaritmo, la variable auxiliar

$$X_2 = \frac{0.6}{1.6}, \quad (2.7.7)$$

obteniendo así el modelo

$$v_{PL2} = 0.8038 X_1^{0.587-0.7098l'_1-0.7098l_2} X_2^{0.587-0.7098l'_1-0.7098l_2} \quad (2.7.8)$$

que da lugar a un perfil de saturación para x idéntico al anterior y tiene a esta variable referida al valor nominal 0.6, i.e.:

$$X'_1 = \frac{x}{0.6}.$$

El coste que supone este procedimiento es el de la inclusión de la variable auxiliar X_2 y el de un nuevo término en la función $G_1(l)$ que actúa de OCA para x . Sin embargo, el número de parámetros independientes implicados es el mismo que antes: v_0 , g_{10} y g_{11} .

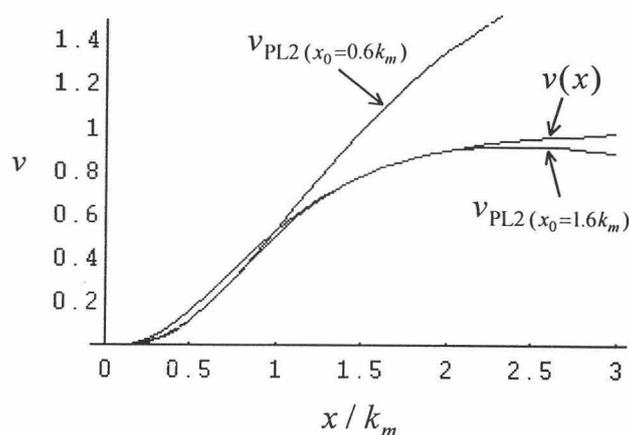


Figura 2.7.1.- Dos aproximaciones PL2 alternativas sobre una cinética sigmoideal $v(x)$ con parámetros $k_m=1$, $V_{max}=1$ y $n=3$. La aproximación que utiliza como valor nominal $x_0=0.6k_m$ es globalmente inferior a la que utiliza como valor nominal $x_0=1.6k_m$. Los modelos PL2 son, desarrollados respecto a x :

$$v_{PL2(x_0=0.6)} = 0.1776(x / 0.6)^{2.4671-0.6574 \ln(x/0.6)} \quad \text{y} \quad v_{PL2(x_0=1.6)} = 0.8038(x / 1.6)^{0.5887-0.7098 \ln(x/1.6)}$$

Cuando se trata de aproximaciones de primer grado, el problema se simplifica, ya que la variable auxiliar introducida puede ser asimilada por el valor de v_0 y la constante introducida en el OCA la asimila el parámetro g correspondiente. De hecho, cuando se utiliza la notación desarrollada en la BST, el problema es trivial, ya que se puede utilizar un valor nominal para una variable en una etapa dada y especificar otro distinto para esa variable al participar en otra etapa diferente. Por tanto, es preciso hacer énfasis en que la necesidad de referir una ley de velocidad a un valor nominal diferente al que se ha utilizado como centro de aproximación, viene dada por el hecho de expresar el sistema utilizando las variables como índices, i.e. $X_i=x_i/x_{i0}$, de manera que es preciso que los valores x_{i0} sean únicos para cada x_i . De no ser así, cabrían dos alternativas que son poco sugerentes al representar sistemas de segundo grado. Una es utilizar una definición de constante aparente de velocidad del mismo modo que se hace en la BST, esto es:

$$CAV = \frac{v_0}{\prod x_{i0}^{G_i(l)}} \quad (2.7.9)$$

pero el inconveniente es que utilizar como OCAs las funciones G_i propias de la formulación PL2, supone que la CAV será variable y dependiente de los valores actuales de x_i , no solo de los nominales. La otra alternativa es considerar índices diferentes para cada valor nominal alternativo, lo que resulta incuestionable por razones obvias.



2.8. Agregación en Π_2^L

Con anterioridad ya se ha descrito la importancia que reviste la agregación de etapas de velocidad por tratarse de un procedimiento fundamental en la consecución de la estructura de sistema S por parte de un sistema en que cada proceso viene definido por su propia ley (marginal) de velocidad (véase por ejemplo Savageau et al., 1987; Voit y Savageau, 1987; Sorribas y Savageau, 1989). De forma totalmente análoga a como se contempla la agregación de etapas definidas mediante leyes PL1, se puede plantear la agregación de etapas definidas mediante leyes PL2 como una ley de composición interna en el espacio de las formulaciones de segundo grado Π_2^L

Con el fin de mantener el mayor grado de generalidad posible, se va a considerar la estrategia reversible de agregación según la definición dada en el capítulo 1 y que está basada en la naturaleza de las entradas m_{ij} de la matriz de incidencia relativa al sistema bajo estudio. De este modo, se definen las funciones agregadas respecto al nodo x_i como

$$\begin{cases} V_{+i} = \sum_{j=1}^r m_{ij} v_j & \text{si } m_{ij} > 0 \\ V_{-i} = \sum_{j=1}^r m_{ij} v_j & \text{si } m_{ij} < 0 \end{cases} \quad i=1, \dots, n \quad (2.8.1)$$

tratándose en el primer caso de la agregación de influjos y en el segundo de la agregación de eflujos. En uno u otro caso, la metodología que conduce a la ley agregada es la misma y por tanto se tratará en adelante el caso genérico

$$V_A(\mathbf{x}) = \sum_{j=1}^r m_{ij} v_j(\mathbf{x}) \quad (2.8.2)$$

en que todos los m_{ij} son o bien positivos (y entonces $V_A(\mathbf{x}) = V_{+i}(\mathbf{x})$) o bien negativos (y entonces $V_A(\mathbf{x}) = V_{-i}(\mathbf{x})$). Con el fin de simplificar la notación en la medida de lo posible, se obviarán en adelante estos factores m_{ij} asumiendo que son valores unitarios (en caso contrario basta con considerar cada v_j como su producto por el correspondiente m_{ij}) y positivos. En consecuencia, el problema es definir los parámetros que caracterizan a la función V_A , dada genéricamente por la expresión:

$$V_A(\mathbf{x}) = \sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}) \quad (2.8.3)$$

en términos de los parámetros implicados en las etapas parciales $v_i(\mathbf{x})$, siendo cada una de ellas una función de tipo PL2 relativa a un centro de aproximación $\mathbf{x}_0 = \mathbf{x}_0^{(i)}$, i.e.:

$$v_i \in \Pi_2 / v_i(\mathbf{x}) = v_{i0} \prod_{j=1}^n X_j^{(i) G_{ij}(I^{(i)})} \quad (2.8.4)$$

siendo

$$v_{i0} = v_i(\mathbf{x}_0^{(i)})$$

$$X_j^{(i)} = \frac{x_j}{x_{j0}^{(i)}} \quad (2.8.5)$$

$$I^{(i)} = (\ln X_1^{(i)}, \dots, \ln X_n^{(i)})^t$$

$$G_{ij}(I^{(i)}) = g_{ij0} + \frac{1}{2} \sum_{k=1}^n g_{ijk} \ln(x_k / x_{k0}^{(i)})$$

El superíndice entre paréntesis de las variables que representan a los nodos (x ó X) indica la etapa respecto a la cual se ha definido el centro de aproximación \mathbf{x}_0 . De este modo no se impone la restricción de que todas las etapas se desarrollen sobre un mismo punto \mathbf{x} . Como consecuencia, la agregación

$$v_1 \bullet \dots \bullet v_k \rightarrow V_A$$

requiere de la declaración explícita de un punto $\mathbf{x}_0^{(A)}$ que será el centro de aproximación relativo al proceso agregado.

Una vez asumido $\mathbf{x}_0^{(A)}$, la expresión de V_A se puede obtener por desarrollo en serie de Taylor en el espacio doble logarítmico de la función $W_A(\mathbf{x}) = \ln V_A(\mathbf{x})$:

$$W_A(\mathbf{x}) = W_A(\mathbf{x}_0) + \sum_i \frac{\partial W_A(\mathbf{x})}{\partial l_i} l_i + \frac{1}{2!} \sum_{i,j} \frac{\partial^2 W_A(\mathbf{x})}{\partial l_i \partial l_j} l_i l_j \quad (2.8.6)$$

Sin embargo, igual que ocurre con la obtención de la expresión agregada a partir de leyes potenciales de primer grado, la agregación en Π_2^L permite obtener los componentes de la formulación de segundo grado de forma sistemática a partir de los componentes de la formulación de primer grado. Así pues, se trata de obtener una expresión que permita definir la constante de velocidad y los coeficientes de primer y segundo grado de los órdenes cinéticos aparentes de la

función agregada en términos de los parámetros de las funciones constituyentes. Llamaremos a la constante V_{A0} para indicar $V_{A0} = V_A(\mathbf{x}_0^{(A)})$. Los coeficientes g relativos a los órdenes cinéticos tendrán tres subíndices: el primero será el alusivo a la etapa de velocidad (i para señalar etapas parciales y A para señalar a la ley agregada); el segundo indicará cuál es la primera variable de derivación; y el tercero será igual a cero, si se trata de un coeficiente de primer grado, o bien, indicará cuál es la segunda variable de derivación, si se trata de un coeficiente de segundo grado.

Primero. La obtención de V_{A0} es inmediata a partir de la valoración en $\mathbf{x}_0^{(A)}$ de cada una de las etapas que intervienen en la agregación:

$$V_{A0} = \sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}_0^{(A)}). \quad (2.8.7)$$

Segundo. Los coeficientes correspondientes a los órdenes cinéticos de primer grado para la ley agregada se ajustan a la definición

$$g_{Aj0} = \left. \frac{\partial \ln V_A(\mathbf{x})}{\partial \ln x_j} \right|_{x_j = x_{j0}^{(A)}}. \quad (2.8.8)$$

La derivación respecto a $\ln x_j$ es igual que si se hace respecto a $\ln x_j/x_{j0}$, por tanto, se puede expresar

$$g_{Aj0} = \left. \frac{\partial \ln(\sum v_i(\mathbf{x}))}{\partial \ln l_j} \right|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}} = \frac{1}{\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}_0^{(A)})} \sum_{i=1}^r \left(\left. \frac{\partial v_i(\mathbf{x})}{\partial l_j} \right) \right|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}}. \quad (2.8.9)$$

Como se verifica

$$\left. \frac{\partial v_i(\mathbf{x})}{\partial l_j} \right|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}} = v_i(\mathbf{x}_0^{(A)}) \left. \frac{\partial w_i(\mathbf{x})}{\partial l_j} \right|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}} \quad (2.8.10)$$

se deduce que

$$\left. \frac{\partial v_i(\mathbf{x})}{\partial l_j} \right|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}} = v_i(\mathbf{x}_0^{(A)}) \left(g_{ij0} + \sum_{k=1}^{n+m} g_{ijk} l_k^{(i)} \right) \Big|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}} \quad (2.8.11)$$

de manera que finalmente se obtiene

$$g_{Aj0} = \frac{\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}_0^{(A)}) \left(g_{ij0} + \sum_{k=1}^{n+m} g_{ijk} l_k^{(i)} \right)_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}}}{\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}_0^{(A)})}, \quad (2.8.12)$$

siendo esta la relación que permite determinar cuál es el coeficiente de primer grado respecto a la variable x_j de la ley agregada V_A , en términos de los valores de las etapas individuales en $\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}$ y de sus parámetros componentes.

La expresión obtenida es esencialmente la misma que la dada por Voit y Savageau (1987) para la agregación de formulaciones PL1. En los dos casos se trata de un promedio ponderado de los órdenes cinéticos aparentes, relativos a la variable considerada, de cada una de las etapas individuales, siendo el factor de ponderación el valor de dicha etapa en el centro de aproximación.

Sin embargo, la estructura de la formulación PL2 permite centrar la aproximación a la ley agregada en un punto que no es necesariamente el mismo que el considerado para todas y cada una de las aproximaciones individuales (que también pueden ser diferentes ahora). Esto es posible al tratar, para cada etapa, con una aproximación lineal al orden cinético aparente considerado respecto al punto en el que se centra la agregación $\mathbf{x}_0^{(A)}$. Esta aproximación ya se ha presentado en el apartado 2.6 y viene dada por la función

$$\check{g}_{ij}(\mathbf{x}_0^{(A)}) = \left(g_{ij0} + \sum_{k=1}^{n+m} g_{ijk} l_k^{(i)} \right)_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}}, \quad (2.8.13)$$

de manera que al valorar cada l_j como

$$l_j = \ln(x_{j0}^{(A)} / x_{j0}^{(i)}) \quad (2.8.14)$$

se obtiene una estimación lineal del orden cinético aparente correspondiente a la formulación PL1. En estos términos, la expresión (2.8.12) se puede escribir como

$$g_{Aj0} = \frac{\sum_{i=1}^r \check{g}_{ij}(\mathbf{x}) v_i(\mathbf{x})}{\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x})} \Big|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}} \quad (2.8.15)$$

haciendo así mas explícita la analogía con la dada por Voit y Savageau (1987) (véase también Ni y Savageau, 1996).

Tercero. Finalmente, queda por tratar la obtención de los coeficientes de segundo grado para la ley agregada. Definiendo genéricamente este coeficiente como:

$$g_{Ajk} = \frac{\partial^2 \ln V_A(\mathbf{x})}{\partial l_j \partial l_k} \Big|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}} = \frac{\partial [g_{Aj0}(\mathbf{x})]}{\partial l_k} \Big|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}} \quad (2.8.16)$$

se tiene

$$g_{Ajk} = \frac{\frac{\partial}{\partial l_k} \left[\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}) g_{ij}(\mathbf{x}) \right] \sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}) - \sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}) g_{ij}(\mathbf{x}) \frac{\partial}{\partial l_k} \left[\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}) \right]}{\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x})} \Big|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}} \quad (2.8.17)$$

Es inmediato comprobar que las derivadas implícadas en esta expresión vienen dadas por:

$$\frac{\partial}{\partial l_k} \left[\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}) g_{ij}(\mathbf{x}) \right] = \sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}) (g_{ij}(\mathbf{x}) g_{ik}(\mathbf{x}) + g_{ijk}) \quad (2.8.18)$$

$$\frac{\partial}{\partial l_k} \left[\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}) \right] = \sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}) g_{ik}(\mathbf{x})$$

de manera que finalmente se obtiene

$$g_{Ajk} = \frac{\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}) (g_{ij}(\mathbf{x}) g_{ik}(\mathbf{x}) + g_{ijk})}{\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x})} \Big|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}} - g_{Aj0} g_{Ak0} \quad (2.8.19)$$

que es la expresión que permite determinar el valor del coeficiente de segundo grado respecto a las variables x_j y x_k de la ley agregada V_A en términos de los parámetros implicados en las etapas individuales.

En caso de coincidir el punto de aproximación de las leyes individuales, y estos con el de la ley agregada, la expresión de los coeficientes cuadráticos se reduce a

$$g_{Ajk} = \frac{\left(\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}) (g_{ij0} g_{ik0} + g_{ijk}) \right) - \left(\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}) g_{ij0} \right) \left(\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}) g_{ik0} \right)}{\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x})} \Bigg|_{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}} \quad (2.8.20)$$

En consecuencia, la expresión PL2 completa de V_A , en su forma matricial, relativa al espacio doble logarítmico se puede escribir como

$$w_{A(PL2)} = w_0^{(A)} + \mathbf{l}^{(A)t} \mathbf{g}^{(A)} + \frac{1}{2} \mathbf{l}^{(A)t} \mathbf{G}^{(A)} \mathbf{l}^{(A)} \quad (2.8.21)$$

en donde

$$w_0^{(A)} = \ln V(\mathbf{x}_0^{(A)}) \quad (2.8.22)$$

es el logaritmo natural de la valoración de V_A en el centro de aproximación. El vector

$$\mathbf{l}^{(A)t} = \left(\ln(x_1 / x_{10}^{(A)}), \dots, \ln(x_{n+m} / x_{n+m,0}^{(A)}) \right) \quad (2.8.23)$$

es el vector de variables expresadas como índices respecto a $\mathbf{x}_0^{(A)}$ y, finalmente el vector

$$\mathbf{g}^{(A)} = \left(g_{1,0}^{(A)}, \dots, g_{n+m,0}^{(A)} \right)^t \quad (2.8.24)$$

(en donde t indica siempre transposición) y la matriz simétrica

$$\mathbf{G}^{(A)} = \begin{pmatrix} g_{1,1}^{(A)} & \cdots & g_{1,n+m}^{(A)} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ g_{1,n+m}^{(A)} & \cdots & g_{n+m,n+m}^{(A)} \end{pmatrix} \quad (2.8.25)$$

representan a los coeficientes de primer y segundo grado respectivamente, relativos a $\mathbf{x}_0^{(A)}$.

En la tabla siguiente (tabla 2.8.1) se resumen estos resultados.

Tabla 2.8.1.- Resumen de las fórmulas de agregación

	Etapas parciales v_i ($i=1, \dots, r$)	Etapa agregada V_A
Centro de aproximación	$\mathbf{x}_0^{(i)}$	$\mathbf{x}_0^{(A)}$
Valor nominal	$v_i(\mathbf{x}_0^{(i)})$	$V_{A0} = \sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}_0^{(A)})$
Coefficientes de 1 ^{er} grado	g_{ij0} $j=1, \dots, n+m$	$g_{A j0} = \frac{\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}) g_{ij}(\mathbf{x})}{\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x})} \Big _{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}}$
Coefficientes de 2 ^o grado	g_{ijk} $j, k=1, \dots, n+m$	$g_{A jk} = \frac{\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x}) (g_{ij}(\mathbf{x}) g_{ik}(\mathbf{x}) + g_{ijk})}{\sum_{i=1}^r v_i(\mathbf{x})} \Big _{\mathbf{x}=\mathbf{x}_0^{(A)}} - g_{A j0} g_{A k0}$

con $g_{ij}(\mathbf{x}) = g_{ij0} + \sum_{k=1}^{n+m} g_{ijk} \ln(x_k / x_{k0}^{(i)})$



2.9. Consideraciones sobre la *reformulación* de los modelos generales de segundo grado a modelos de primer grado

2.9.1. Introducción. Reformulación de ecuaciones diferenciales como sistemas S

La representación de un sistema dinámico en los términos de un sistema S proporciona un considerable número de ventajas, especialmente la eficiencia computacional (Irvine y Savageau, 1990) y la posibilidad de caracterizar la solución estacionaria de manera explícita (e.g. Savageau, 1969b ; 1976). Sin embargo, el mayor inconveniente que puede presentar este tipo de representación es su exactitud, ya que desde su origen, los sistemas S se contemplan como una aproximación a la dinámica del sistema, y como tal, solo resulta apropiada en el entorno de un *punto operativo*, o *valor nominal*, de las variables de estado.

No obstante, los sistemas S pueden ser contemplados desde otra perspectiva. Puesto que ciertas no linealidades se pueden describir por medio de ecuaciones diferenciales lineales, ya sea mediante la transformación adecuada de las variables o bien mediante la introducción de *variables auxiliares*, por extensión, parece natural asumir que el mismo principio sea aplicable a los sistemas S. Cuando esto ocurre, es posible representar de manera exacta (en contraste con la idea de función de aproximación) el comportamiento del sistema dinámico original. Denominaremos *reformulación*¹ al procedimiento mediante el cual se obtiene una representación, normalmente como sistema S, de un sistema dinámico dado. Cabe matizar que a partir de un problema concreto, el procedimiento de *reformulación* no es único, y estrategias alternativas pueden llevar a representaciones distintas (véase Savageau, 1988).

Las bases de la reformulación vienen dadas por los resultados sobre diferenciación de funciones compuestas (Savageau y Voit, 1987). Concretamente, la representación alternativa se consigue mediante la aplicación, normalmente de forma iterativa, de tres tipos de procedimientos básicos (véase Savageau y Voit, 1987):

1. Cambio de origen adecuado para evitar que las variables puedan tomar valores negativos.
2. Descomposición de funciones compuestas.
3. Reducción de sumas de productos de funciones potenciales a una función potencial.

Normalmente, el proceso supone la definición de variables auxiliares y, para cada una de ellas, una nueva ecuación diferencial. De este modo, la

¹ *Recasting* en la presentación original (Savageau y Voit, 1987).

dinámica de un sistema originalmente n -dimensional se contempla como la evolución de una cantidad n -dimensional en un espacio de dimensión mayor, digamos $(n+k)$ -dimensional. Se trata de un procedimiento comparable a la representación de una ecuación diferencial de orden superior mediante un sistema de ecuaciones diferenciales de primer orden (Savageau y Voit, 1987).

Savageau y Voit han contemplado un buen número de posibilidades de reformulación, entre las que se incluyen modelos bien conocidos como el de Lotka-Volterra (Voit y Savageau, 1986), casos derivados de las ecuaciones de Bessel, van der Pol, Duffing, etc., sistemas binarios y ecuaciones diferenciales implícitas (Savageau y Voit, 1987, apéndices A-C).

Por otra parte, la misma estrategia de reformulación es aplicable a los sistemas de ecuaciones algebraicas no lineales. Savageau (1993), ha desarrollado un método para la localización de las raíces de sistemas de ecuaciones (algebraicas) no lineales basada en la metodología de los sistemas S.

En el apartado siguiente se van a introducir una forma posible de reformulación que hace posible la representación de sistemas generales de segundo grado (PL2) como sistemas generales de primer grado (PL1).

2.9.2. Consideraciones sobre la reformulación de sistemas PL2

En un primer apartado, se va considerar una forma de reproducir las funciones descritas mediante formulaciones de segundo grado (v_{PL2}) en términos de modelos de primer grado (v_{PL1}). Sobre esta idea se examinará la estrategia de reformulación respecto a modelos generales según se describen conforme a la representación GMA.

2.9.2.1.- Expresión v_{PL1} de una función v_{PL2} . En el espacio original de las variables, una etapa, digamos $v_j(\mathbf{x})$, descrita según el formalismo de la ley potencial de segundo grado, se ha venido expresando como

$$v_{\text{PL2}j}(\mathbf{x}) = v_{j0} \prod_{k=1}^{n+m} X_k^{G_{jk}(l)} . \quad (2.9.1)$$

Recordemos que las identidades de los elementos que intervienen son

$$v_{j0} = v_j(\mathbf{x}_0), \quad X_k = x_k / x_{k0}, \quad l_k = \ln X_k \quad y$$

$$G_{jk}(I) = g_{jk0} + \frac{1}{2} \sum_{q=1}^{n+m} g_{jkq} l_q, \quad (2.9.2)$$

para $k=1, \dots, n+m$. Teniendo en cuenta la forma de los $G_{ij}(I)$, cada una de las funciones potenciales que intervienen en (2.9.1) se pueden escribir como

$$X_k^{G_{jk}(I)} = X_k^{g_{jk0}} \prod_{q=1}^{n+m} X_k^{\frac{1}{2} g_{jkq} l_q}. \quad (2.9.3)$$

Si se considera ahora la definición de las $(n+m)^2$ variables

$$X_{k(q)} = X_k^{l_q}, \quad (2.9.4)$$

se puede sustituir cada una de las exponenciales compuestas de (2.9.3) por una nueva variable, obteniéndose

$$X_k^{G_{jk}(I)} = X_k^{g_{jk0}} \prod_{q=1}^{n+m} X_{k(q)}^{\frac{1}{2} g_{jkq}} \quad (2.9.5)$$

De este modo, la etapa (2.9.1) puede expresarse como el producto de funciones potenciales

$$v_j(\mathbf{x}) = v_{j0} \prod_{k=1}^{n+m} X_k^{g_{jk0}} \prod_{q=1}^{n+m} X_{k(q)}^{\frac{1}{2} g_{jkq}}. \quad (2.9.6)$$

que se ajusta al formalismo de primer grado. Formalmente, lo que se ha conseguido es representar el campo escalar v_{PL2_j} , correspondiente al polinomio definido en Π_2^L y que toma valores en R_{n+m}^+ para aplicarlos sobre R^+ , mediante una función relativa al espacio Π_1^L que toma valores en $R_{(n+m)^2}^+$ y los aplica sobre R^+ .

2.9.2.2.- Reformulación de sistemas GMA_{PL2} en sistemas GMA_{PL1} . Consideremos ahora a cada función v_{PL2_j} como la función que describe a la etapa j -ésima en el conjunto de un sistema dinámico de orden n . En su forma mas general, la descripción formal del sistema viene dada según

$$\dot{x}_i = \sum_{j=1}^r m_{ij} v_{PL2_j}(\mathbf{x}), \quad i=1, \dots, n, \quad (2.9.7)$$

siendo m_{ij} el elemento adecuado de la matriz de incidencia a partir de la cual se define la estructura del sistema. No se imponen restricciones de tipo estructural, de manera que la expresión (2.9.7) es conforme con la representación GMA.

La notación subsiguiente se simplifica si se consideran las derivadas en el tiempo respecto a las variables X_i , en lugar de hacerlo según las x_i , tal y como se trató en el apartado 2.2. Para ello basta con introducir un cambio de escala en la constante de velocidad de cada etapa en los términos del nodo sobre o desde el que incide. Definiendo

$$v'_{ij0} = \frac{v_{j0}}{x_{i0}} \quad (2.9.8)$$

el sistema (2.9.7) es equivalente al descrito por

$$\dot{X}_i = \sum_{j=1}^r \left[m_{ij} v'_{ij0} \prod_{k=1}^{n+m} X_k^{G_{jk}(l)} \right], \quad i=1, \dots, n. \quad (2.9.9)$$

Según lo expuesto en 2.9.2.1, la expresión anterior es equivalente a la

$$\dot{X}_i = \sum_{j=1}^r \left[m_{ij} v'_{ij0} \prod_{k=1}^{n+m} X_k^{g_{jk0}} \prod_{q=1}^{n+m} X_{k(q)}^{\frac{1}{2} g_{jkq}} \right], \quad i=1, \dots, n, \quad (2.9.10)$$

al introducir las $(n+m)^2$ variables $X_{k(q)} = X_k^{l_q}$. Se debe ahora considerar la forma en que se da la variación de cada una de esta variables auxiliares.

Conforme a la notación habitual, al llamar $l_{k(q)} = \ln X_{k(q)}$, resulta inmediato que

$$l_{k(q)} = l_k l_q. \quad (2.9.11)$$

De aquí se sigue que la derivada respecto al tiempo de $l_{k(q)}$ vendrá dada, en términos de l_k y de l_q , por

$$\dot{l}_{k(q)} = l_q \dot{l}_k + l_k \dot{l}_q \quad (2.9.12)$$

Equivalentemente, se puede escribir

$$\dot{l}_{k(q)} = \frac{1}{X_{k(q)}} \dot{X}_{k(q)}. \quad (2.9.13)$$

Igualando la (2.9.12) y la (2.9.13) se obtiene

$$\dot{X}_{k(q)} = X_{k(q)} \left[l_k \frac{1}{X_q} \dot{X}_q + l_q \frac{1}{X_k} \dot{X}_k \right]. \quad (2.9.14)$$

Las derivadas del miembro derecho son las correspondientes a la propia definición del sistema dinámico (2.9.10). Por otra parte, la aparición de los términos l_k y l_q requiere considerar un nuevo cambio de variable, que puede expresarse como

$$X_{(k)} = l_k \quad (2.9.15)$$

y cuya variación dinámica vendrá dada por

$$\dot{X}_{(k)} = \frac{1}{X_k} \dot{X}_k. \quad (2.9.16)$$

Consecuentemente, el sistema GMA_{PL2} puede expresarse como un sistema GMA_{PL1} a partir de las siguientes consideraciones relativas a los elementos que participan:

Variables:

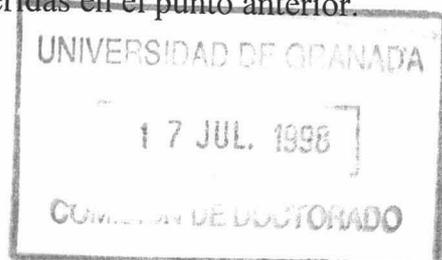
- Se mantienen las $n+m$ ecuaciones originales que representan los nodos del sistema.
- Se introducen $(n+m)^2$ variables $X_{k(q)} = X_k^{l_q}$ ($k, q=1, \dots, n+m$)
- Se introducen n variables $X_{(k)} = l_k$

Parámetros:

- No se introduce ningún parámetro adicional, salvo el cambio (2.9.8), que resulta conveniente pero no necesario.

Ecuaciones:

- Se mantienen las n ecuaciones diferenciales originales que definen el sistema pero expresadas en los términos del formalismo de primer grado (según se indica en el apartado 2.9.2.1).
- Se introducen $(n+m)^2$ expresiones adicionales que dan cuenta de la variación de las nuevas variables ($X_{k(q)}$) requeridas en el punto anterior.
- Se introducen n expresiones adicionales que dan cuenta de la variación de las nuevas variables ($X_{(k)}$) requeridas en el punto anterior.



$$\left\{ \begin{array}{l} \text{(a) } n \text{ ecuaciones} \\ \quad i=1, \dots, n \end{array} \right\} \left\{ \dot{X}_i = \sum_{j=1}^r m_{ij} \left[v'_{ij0} \prod_{k=1}^{n+m} X_k^{g_{jk0}} \prod_{q=1}^{n+m} X_{k(q)}^{\frac{1}{2}g_{jkq}} \right] \right.$$

$$\left. \begin{array}{l} \text{(b) } (n+m)^2 \text{ ecuaciones} \\ \quad k, q=1, \dots, (n+m) \end{array} \right\} \left\{ \dot{X}_{k(q)} = X_{k(q)} \left[X_{(k)} X_q^{-1} \dot{X}_q + X_{(q)} X_k^{-1} \dot{X}_k \right] \right.$$

$$\left. \begin{array}{l} \text{(c) } n \text{ ecuaciones} \\ \quad k=1, \dots, n \end{array} \right\} \left\{ \dot{X}_{(k)} = X_k^{-1} \dot{X}_k \right.$$

2.9.2.3.- Valoración del criterio de reformulación considerado. La ampliación del sistema original con $n+(n+m)^2$ nuevas ecuaciones parece un coste excesivo para representar un sistema GMA_{PL2} como un GMA_{PL1} —habida cuenta de que si lo que se persigue es la representación como sistema S, aún se deben introducir nuevas variables con su correspondiente ecuación diferencial (c.f. Savageau y Voit, 1987)—. No obstante, debe notarse la extraordinaria redundancia implicada en el procedimiento considerado. Parece claro que una etapa obligada de reformulación es la consideración de las variables $X_{k(q)}$ conforme a la (2.9.4). Sin embargo, puesto que $l_{k(q)} = l_{q(k)}$, la diferencia entre las ecuaciones $\dot{X}_{k(q)}$ y $\dot{X}_{q(k)}$ es únicamente el valor actual de la respectiva variable que actúa a modo de factor de proporcionalidad. Esto puede leerse como el aumento en una unidad del orden cinético aparente correspondiente a cada variable. Por tanto, conocida digamos $\dot{X}_{k(q)}$, se tiene $\dot{X}_{q(k)} = X_{q(k)} X_{k(q)}^{-1} \dot{X}_{k(q)}$.

Por otra parte, aunque el sistema original tenga la estructura de sistema S (de segundo grado), el sistema reformulado nunca va a tenerla de forma inmediata, puesto que cada una de las $\dot{X}_{k(q)}$ viene dada en términos de la suma de dos de las ecuaciones diferenciales originales: \dot{X}_k y \dot{X}_q .

Finalmente, las $\dot{X}_{(k)}$ vuelven a ser una variación sobre el mismo tema, ya que cada una de estas ecuaciones se deduce de reducir en una unidad el valor del exponente de la variable X_k en la ecuación original \dot{X}_k .

2.10. Estudio de un modelo teórico mediante el formalismo de segundo grado

El objetivo de este apartado es ilustrar algunos de los principios expuestos en apartados precedentes, al tiempo que se pone de manifiesto la capacidad del formalismo potencial de segundo grado para representar situaciones donde el formalismo de primer grado resulta insuficiente.

El sistema considerado es el ciclo de sustrato constituido por las enzimas fosfofructokinasa (PFK) y fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBPasa). La aplicación del formalismo PL2 se va a hacer sobre las consideraciones que, desde un punto de vista puramente teórico, han realizado Boiteux *et al.* (1980). En un primer apartado (2.10.1) se hará una breve introducción a lo que el bioquímico entiende por *ciclo de sustrato*. En el apartado siguiente (2.10.2) se presentará el mecanismo de control propuesto por Boiteux *et al.*, que servirá de base para el desarrollo de un modelo PL2 en los apartados subsiguientes. La formulación obtenida deberá ser adecuada para representar el modelo teórico de Boiteux *et al.*

2.10.1. Ciclo de sustrato de la PFK-FBPasa

La capacidad de controlar el funcionamiento de un proceso de naturaleza reversible (p.e. una ruta anfibólica) es máxima si la energía libre asociada al mismo es negativa tanto en un sentido (digamos el catabólico) como en el otro (el anabólico) (Koshland, 1984). Esto permite la acción, a nivel cinético, de señales reguladoras que actúen como inductoras de uno de los procesos al tiempo que desactivan el otro. Sin embargo, a falta de un mecanismo de regulación adecuado, siempre es termodinámicamente posible que los dos mecanismos antagónicos operen simultáneamente para constituir un ciclo improductivo. Estos ciclos son conocidos como *ciclos de sustrato* o *ciclos fútiles* (figura 2.10.1).

Existe un número relativamente elevado de reacciones que potencialmente pueden constituir ciclos de sustrato, sin embargo, hay evidencia experimental de muy pocos de ellos; su detección no es fácil y requiere del uso de isótopos radioactivos (Clarck *et al.*, 1973; Bloxham *et al.*, 1973; Hue y Hers, 1974; Katz y Rognstad, 1978). Desde su descubrimiento en los años cincuenta, el papel de estos ciclos es controvertido. Los más estudiados son los implicados en el metabolismo glucídico (véase p.e. Katz y Rognstad, 1976) que, según parece, pueden estar relacionados con la termogénesis (Clarck *et al.*, 1973; Newsholme y Start, 1973) y la amplificación del control respecto a efectores de naturaleza alostérica (Newsholme y Start, 1973; Koshland, 1984). Sin embargo, la evidencia experimental no es concluyente. Hay ciclos cuya actividad no ha sido observada

in vivo y es más que probable la existencia de mecanismos de control dirigidos a evitar el reciclaje.

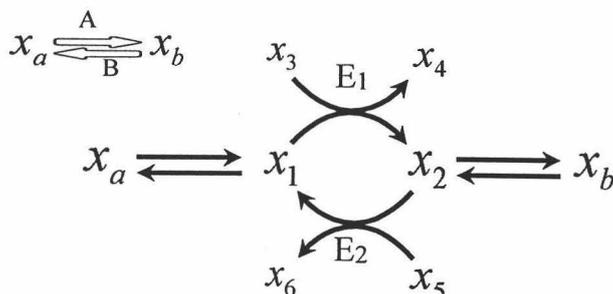


Figura 2.10.1.- Esquema general de un ciclo de sustrato en una ruta anfibólica A-B. El enzima E_1 cataliza la formación de x_2 a partir de x_1 de acuerdo con el funcionamiento del proceso general en el sentido definido por A. El enzima E_2 cataliza la etapa contraria, que es acorde con el sentido del proceso definido por B. El ciclo entre E_1 y E_2 conduce a un consumo fútil de x_3 y x_5 al mismo tiempo que reduce el flujo neto entre los extremos de la ruta x_a y x_b .

Boiteux, Hess y Sel'kov (1980) han propuesto un modelo teórico que explica cómo el acoplamiento entre señales desestabilizadoras puede actuar como conmutador, entre el proceso catabólico y el anabólico, de un modo que evita eficientemente el reciclaje. El sistema estudiado es uno de los ciclos que aparecen en el metabolismo de los carbohidratos, el constituido por la fosfofructokinasa¹ (PFK) y la fructosa-1,6-bisfosfatasa² (FBPasa) (figura 2.10.2). La PFK cataliza la fosforilación de una molécula de fructosa-6-fosfato (F6P) en la posición 1 a partir de una molécula de ATP, transformándola en fructosa-1,6-bisfosfato (FBP) con la consiguiente liberación de ADP. Por su parte, la FBPasa lleva a cabo la eliminación hidrolítica de este grupo fosfato de la posición 1 de la FBP para dar lugar a F6P. La actividad simultánea de la PFK y de la FBPasa actúa como una ATPasa improductiva, cuyo resultado final es la disipación de energía y la reducción del flujo neto a través de toda la ruta, ya sea en su sentido glucolítico o en el gluconeogénico.

Por tanto, es evidente que la eficiencia del metabolismo glucídico requiere de un sistema de control que actúe a modo de conmutador entre los procesos glucolítico y gluconeogénico. El modelo propuesto por Boiteux et al. explica cómo este tipo de regulación se puede conseguir (sin coste energético adicional) a partir de la activación por producto de la PFK y la inhibición por sustrato de la FBPasa. La ocurrencia de estos mecanismos es bien conocida, véase por ejemplo

¹ EC 2.7.1.11

² EC 3.1.3.11

Bloxham y Lardy (1973) o Newsholme y Start (1973) así como las referencias citadas por Boiteux et al. (1980).

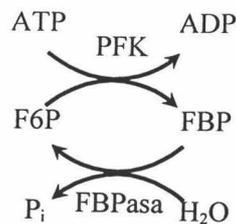


Figura 2.10.2.- Ciclo de sustrato constituido por la PFK y la FBPasa. Las dos etapas tienen variaciones de energía libre (ΔG^0) negativas (-3.4 y -4.0 Kcal/mol respectivamente; Lehninger, 1980)

2.10.2. Modelo de regulación de Boiteux, Hess y Sel'kov

El modelo propuesto en 1980 por estos autores¹ es un modelo puramente teórico, basado en evidencias experimentales y que surge a partir del análisis gráfico de los perfiles de saturación de las etapas implicadas en la producción y consumo de la F6P y de la FBP. En la página siguiente se han reproducido las representaciones fundamentales necesarias para hacer aquí una presentación concisa del mismo.

La representación fundamental es aquella que muestra la dependencia de las etapas que inciden "sobre" y "desde" la FBP como función de la concentración de esta última.

En una primera aproximación esquemática (1), se analiza la relación que mantienen las dos etapas responsables del ciclo: la PFK y la FBPasa. Este tipo de representación permite obtener, por sustracción, la velocidad neta, que será positiva cuando el flujo transcurra en el sentido glucolítico y negativa cuando lo haga en el sentido gluconeogénico. En principio, pueden darse dos estados estacionarios donde se igualan las velocidades de la PFK y de la FBPasa (indicados como 1 y 2 en esta figura). Uno de estos estados (el 1) tiene lugar a muy baja actividad de las enzimas del ciclo mientras que el otro (el 2) se corresponde con actividades altas tanto de la PFK como de la FBPasa, resultando un estado peligroso para el metabolismo energético de la célula.

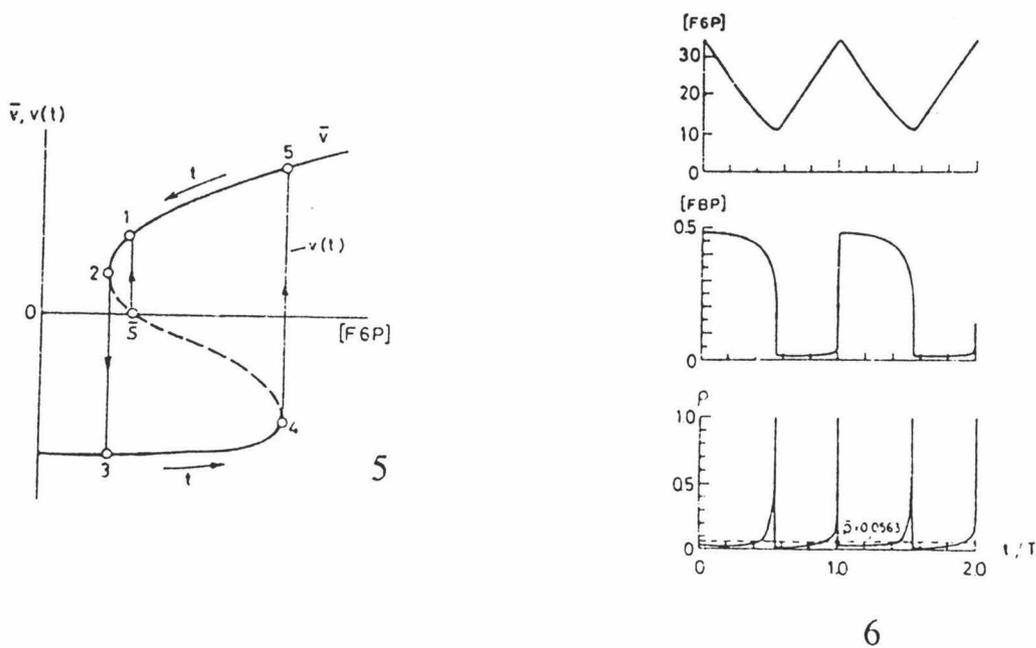
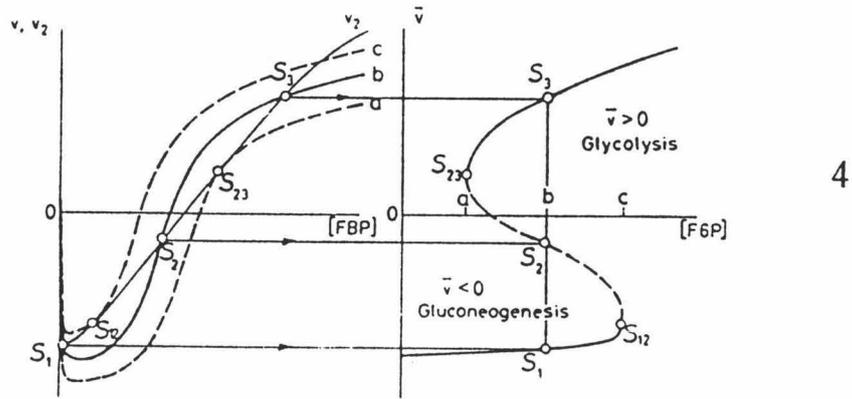
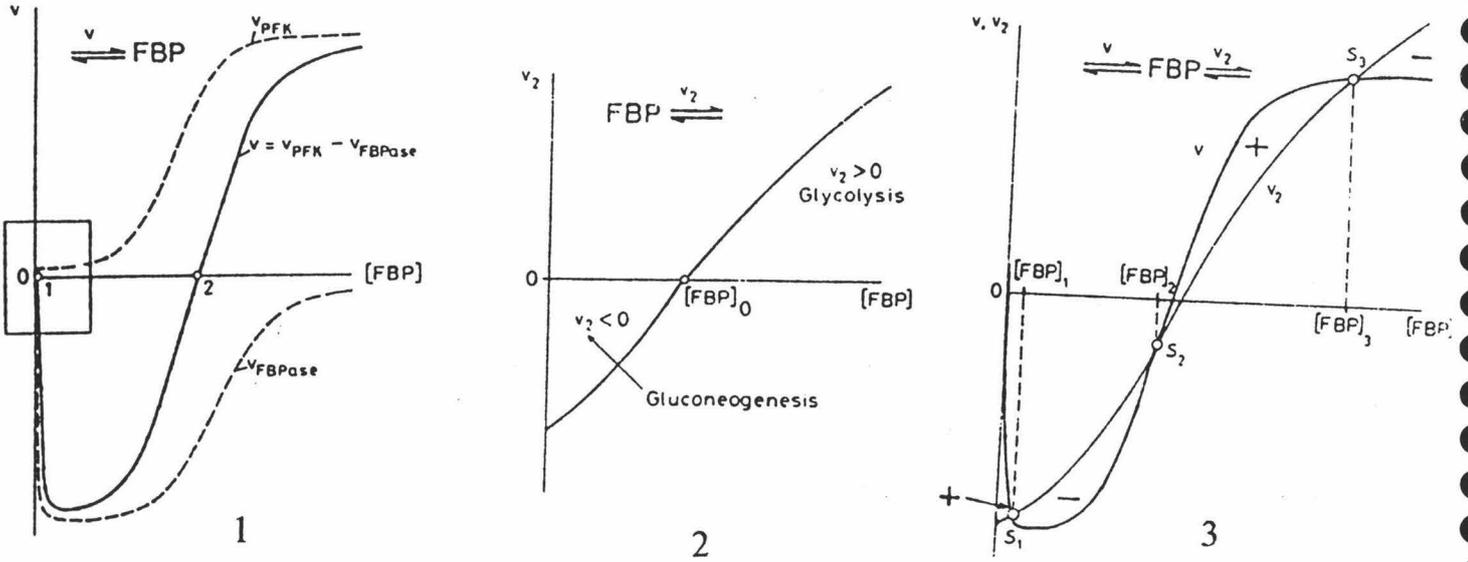
La relación de la FBP con la parte baja de la glucólisis se representa en (2). El aspecto fundamental de esta relación es el sentido glucolítico del flujo

¹ *Current Topics in Cellular Regulation*, 17, págs. 171-203 (1980).

Creative Functions of Instability and Oscillations in Metabolic Systems

BENNO HESS
EVGENIJ E. SEL'KOV*

Max-Planck-Institut für
Ernährungsphysiologie
Dortmund, Federal Republic of
Germany



cuando los niveles de FBP son altos y su sentido gluconeogénico cuando son bajos.

La representación conjunta de las cuatro etapas mencionadas permite obtener una imagen de la forma en que estos interactúan para generar el comportamiento global de la ruta (3).

A niveles intermedios de F6P, la intersección entre los flujos netos correspondientes al balance $v_{\text{PFK}} - v_{\text{FBPasa}}$ y al de la interacción con la parte baja de la glucólisis, pueden dar lugar a tres estados estacionarios alternativos (indicados como S_1 , S_2 y S_3). Los estados S_1 y S_3 representan a los estados estacionarios propios de los regímenes gluconeogénico y glucolítico respectivamente. El primero se corresponde con un nivel bajo de FBP mientras que el segundo lo hace con un nivel alto. El estado S_2 , que se da a una concentración intermedia de FBP, representa una situación en la que hay una alta tasa de reciclaje por parte del sistema PFK-FBPasa. Sin embargo, al contrario que los estados S_1 y S_3 , este estado intermedio es inestable; pequeñas alteraciones del mismo provocan que el sistema lo abandone para situarse, de forma estable, en el estado S_1 (gluconeogénico) o el S_2 (glucolítico) según sea el sentido de la alteración. Los signos (+) y (-) de la figura indican el signo de la derivada respecto a la variación del nivel de FBP. La inestabilidad de S_2 se hace patente al comprobar que para desviaciones $S_2 - \delta$ se favorece la progresiva reducción de FBP hasta alcanzar el estado S_1 (la derivada es negativa), mientras que para desviaciones $S_2 + \delta$ el sistema favorece el aumento de FBP hasta alcanzar S_3 (la derivada es positiva). Sin embargo, una desviación de S_1 en el sentido $S_1 - \delta$ se compensa aumentando el nivel de FBP (derivada positiva) mientras que la desviación en el sentido $S_1 + \delta$ se compensa con una reducción del mismo (derivada negativa) de manera que, en cualquiera de los dos casos, tras una pequeña perturbación $\pm \delta$, se retorna al estado S_1 que resulta ser estable. Un razonamiento análogo permite comprobar la estabilidad de S_3 .

Las variaciones en el nivel de F6P inciden sobre la localización de los estados estacionarios alternativos (4). El aumento en el nivel de F6P induce una mayor actividad de la PFK de manera que la curva de saturación correspondiente a esta etapa se desplaza en sentido ascendente (la velocidad es mayor para cualquier valor prefijado de FBP) provocando la transición de la velocidad neta $v_{\text{PFK}} - v_{\text{FBPasa}}$ desde la posición indicada por b a la indicada por c. La reducción de F6P tiene el efecto contrario; la actividad de la PFK disminuye y la velocidad neta se desplaza desde la posición b a la a.

El desplazamiento de la curva $v_{\text{PFK}} - v_{\text{FBPasa}}$ originado por la variación en el aporte de F6P da lugar a la aparición de estados estacionarios híbridos inestables. El incremento del nivel de F6P por encima de un valor crítico $F6P_c$, hace desaparecer los estados híbridos y solo va a ser factible el estado estacionario estable S_3 correspondiente al régimen glucolítico. De manera análoga, la reducción de F6P por debajo de un nivel crítico $F6P_a$ solo hace factible al estado estacionario estable S_1 correspondiente al régimen gluconeogénico, desapareciendo los estados híbridos transitorios.

La forma en que incide la variación de F6P en la aparición y localización de los estados estacionarios alternativos, genera una relación de histeresis entre la variación de la señal de entrada al sistema (el nivel de F6P) y el estado estacionario del flujo neto $v_{\text{PFK}} - v_{\text{FBPasa}}$ (4 y 5).

En la figura 6 aparece el comportamiento dinámico del sistema en términos de la variación de F6P, la de FBP y la tasa de reciclaje ρ , que está definida como:

$$\rho = \begin{cases} v_{\text{FBPasa}} / v_{\text{PFK}} & \text{Si } v_{\text{FBPasa}} > v_{\text{PFK}} \\ v_{\text{PFK}} / v_{\text{FBPasa}} & \text{Si } v_{\text{FBPasa}} < v_{\text{PFK}} \end{cases}$$

Por encima de cierta concentración crítica de la F6P, el nivel de FBP se mantiene estable en el estado estacionario propio del proceso glucolítico. La elevada concentración de FBP en este estado mantiene activada a la PFK y fuertemente inhibida a la FBPasa, evitando así el reciclaje. Aunque la concentración de F6P varíe, la FBP permanece en este estado hasta que la F6P descienda por debajo de un punto crítico. En ese momento el sistema experimenta una rápida transición para invertir el sentido de la flujo a través de la ruta. El nivel de FBP cae estrepitosamente hasta alcanzar el estado estacionario característico del régimen gluconeogénico, que resulta ser insuficiente para ejercer la acción activadora sobre la PFK e inhibidora sobre la FBPasa, impidiéndose así nuevamente el reciclaje. Es durante la transición de un estado a otro cuando la PFK y la FBPasa desarrollan su actividad de forma simultánea dando lugar al reciclaje. Sin embargo, el acoplamiento entre las señales que inestabilizan los estados híbridos intermedios impide que la peligrosa situación de reciclaje sea mantenida.

2.10.3. Modelo PL2 del ciclo de la PFK-FBPasa

Se considerará ahora la formulación del modelo teórico propuesto por Boiteux *et al.* según la metodología PL2. Conviene señalar que no se trata de discutir la validez biológica del modelo conceptual de estos autores, o de las suposiciones sobre las que se elabora, sino de ilustrar cómo la formulación de segundo grado puede resultar muy eficiente para describir un sistema tan particular, en el que el régimen de funcionamiento es capaz de conmutar entre dos estados alternativos bien distintos.

Las principales características del modelo teórico que deben quedar reflejadas en la aproximación PL2 son las siguientes:

- El modelo debe ser capaz de representar el estado inducido por concentraciones bajas de FBP, en el que la PFK esta inactiva y domina la actividad de la FBPasa, y también la situación opuesta, en la que el nivel de

FBP es suficientemente elevado como para activar a la PFK y bloquear la actividad de la FBPaasa invirtiendo así el sentido de la ruta.

- El modelo debe permitir que el sistema descrito alcance de forma estable los estados estacionarios propios de los regímenes glucolítico y gluconeogénico manteniendo la inestabilidad de los estados híbridos intermedios.
- Finalmente, el modelo debe ser capaz de reproducir la *curva característica de entrada*, que muestra la dependencia de la actividad del ciclo (expresada como la velocidad neta $v_{PFK}-v_{FBPaasa}$) para valores constantes de F6P o cuando la concentración de esta especie varía lentamente.

En la figura 2.10.3 se esquematiza el sistema y se introduce la notación que se va a seguir en adelante. La forma de proceder va a ser la siguiente: 1) se establece un modelo inicial de tipo mecanicista para las etapas de la PFK y de la FBPaasa. Los valores asignados a los parámetros se escogen *ad hoc* de manera que las curvas de saturación relativas a cada etapa sean similares a las propuestas por Boiteux et al. (las unidades de las variables y parámetros son siempre arbitrarias y en la elección inicial de valores se ha intentado conseguir la mayor simplicidad numérica); 2) A partir de los modelos mecanicistas formulados, se obtiene (analíticamente) la aproximación PL2 para cada etapa; 3) Tomando como referencia el perfil PL2 que describe la cinética del ciclo respecto a los niveles de F6P y de FBP, se elabora la aproximación que describe la interacción de la FBPaasa con la parte baja de la glucólisis; y 4) finalmente se analiza el comportamiento dinámico del sistema formulado.

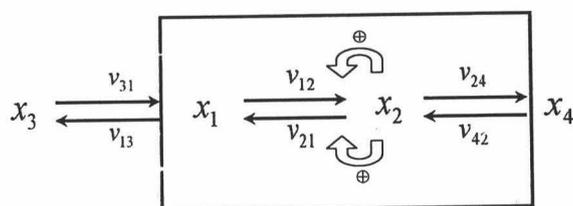


Figura 2.10.3.- Ciclo de la PFK-FBPaasa. La notación utilizada para los nodos es la siguiente: x_1 es la F6P, x_2 la FBP, x_3 representa el *pool* de hexosas monofosfato y x_4 a los intermediarios glucolíticos de la parte mas avanzada de la ruta. En cuanto a las reacciones: v_{12} es la etapa de la PFK, v_{21} la etapa de la FBPaasa y $v_{13}-v_{31}$ y $v_{24}-v_{42}$ representan las etapas que conectan a la F6P y a la FBP con los *pools* metabólicos de las fases temprana y tardía de la glucólisis respectivamente. En el interior del recuadro se delimita el subsistema de interés.

2.10.3.1. Formulación del modelo. Se considerarán cuatro etapas fundamentales.

a) Etapa de la PFK (v_{12}): Del mismo modo que en el trabajo original de Boiteux et al. solo se va a considerar aquí la influencia de la F6P y de la FBP sobre la cinética de la PFK, obviando la acción de otros efectores bien conocidos de esta enzima como son el ATP, AMP, citrato, etc. cuya consideración solo llevaría a un aumento innecesario de la complejidad del modelo.

La caracterización inicial de esta etapa, que servirá como base para la aproximación PL2, consiste en una cinética moderadamente sigmoideal tanto para la saturación marginal por sustrato como para la saturación marginal por activador (coeficientes de Hill $n_1=n_2=2$ para la F6P y FBP respectivamente). La ley de velocidad considerada es

$$v_{12} = 4 \left(\frac{x_1^2}{1 + x_1^2} \right) \left(\frac{x_2^2}{0.490 + x_2^2} \right) \quad (2.10.1)$$

La aproximación PL2 se elabora sobre el centro $x_{10}=1$ y $x_{20}=0.750$, cuya elección se ha hecho al considerar $x_{10}=k_{m1}$ ($=1.000$) y x_{20} ligeramente superior a k_{m2} ($=0.700$). El modelo PL2 resultante es:

$$v_{12} = 1.069 X_1^{1.000-0.500l_1} X_2^{0.930-0.498l_2} \quad (2.10.2)$$

en donde $X_1 = x_1 / 1.000$, $X_2 = x_2 / 0.750$ y, como siempre, l_1 y l_2 son sus respectivos logaritmos naturales.

b) Etapa de la FBPasa (v_{21}): El modelo racional que describe esta etapa es el propio de una cinética de inhibición por sustrato clásica. Este tipo de cinética también ha sido considerado por Hervagault y Canu (1987) en un modelo sobre el ciclo de la PFK-FBPasa (en él la única señal desestabilizadora es la inhibición de la FBPasa por la FBP). El modelo considerado aquí es el siguiente:

$$v_{21} = \frac{2 x_2}{0.050 + x_2 + x_2^2}, \quad (2.10.3)$$

en donde el valor asignado a los parámetros ($k_m=0.050$ y $k_f=1.000$) se ha elegido de manera que el acoplamiento con el perfil de la PFK permita reproducir la representación original de Boiteux et al. Concretamente se ha intentado que: 1) la magnitud de las velocidades máximas alcanzables por ambas etapas sean similares; y 2) que la zona de máxima actividad de la FBPasa coincida con la zona inicial de falta de respuesta de la PFK, sincronizando, en términos del nivel de FBP, la activación de la PFK con la inhibición de FBPasa.

Como ya se ha dicho, la aproximación de segundo grado a este tipo de cinética es especialmente eficiente si se considera como centro el valor

$$x_{20}^{v_{21}} = \sqrt{k_m / k_I}, \quad (2.10.4)$$

que en este caso es $x_{20}^{v_{21}} = 0.224$. En consecuencia el modelo PL2 obtenido es:

$$v_{21} = 1.3820 X_2'^{-0.1545 l_2}. \quad (2.10.5)$$

Se ha escrito X_2' para indicar que la construcción de la variable X_2 es diferente a la relativa a la etapa v_{12} , concretamente:

$$X_2' = x_2 / 0.224. \quad (2.10.6)$$

Para hacer homogénea la definición de X_2 respecto a las dos etapas, es necesaria la introducción de una variable *técnica*, tal y como se expuso en el apartado 2.7. Llamaremos X_5 a esta nueva variable, que queda definida como

$$X_5 = 0.750 / 0.224 \quad (2.10.7)$$

y cuya consideración permite expresar

$$v_{21} = 1.3820 X_2^{-0.1545 l_2 - 0.1545 l_5} X_5^{-0.1545 l_2 - 0.1545 l_5}, \quad (2.10.8)$$

siendo ahora $X_2 = x_2 / 0.750$ y l_2 su logaritmo. Como $l_5 = \ln X_2$ es un factor constante, se puede sustituir el término $-0.1545 l_5$ por su valor (-0.1867) , para expresar finalmente

$$v_{21} = 1.3820 X_2^{-0.1867 - 0.1545 l_2} X_5^{-0.1867 - 0.1545 l_2}. \quad (2.10.9)$$

En la figura 2.10.4 se representan los perfiles PL2 para las etapas v_{12} y v_{21} y su balance neto

$$V_C = v_{\text{PFK}} - v_{\text{FBPasa}} \quad (2.10.10)$$

(cf. con la representación original de Boiteux *et al.*; figura 1 del esquema). Mediante la aproximación potencial solo es posible representar uno de los puntos de equilibrio entre la actividad de las dos etapas; el correspondiente a la alta tasa de reciclaje. El punto estacionario correspondiente a la tasa de reciclaje baja (muy cercano al origen) solo puede aparecer si se introduce un término aditivo en la ley de velocidad de la PFK. Sin embargo, las relaciones aditivas entre las variables desaparecen siempre al aplicar el formalismo de la ley potencial, que solo

considera sus productos. No obstante, la existencia de este punto no es relevante en ningún momento y su ausencia no condiciona el comportamiento del sistema.

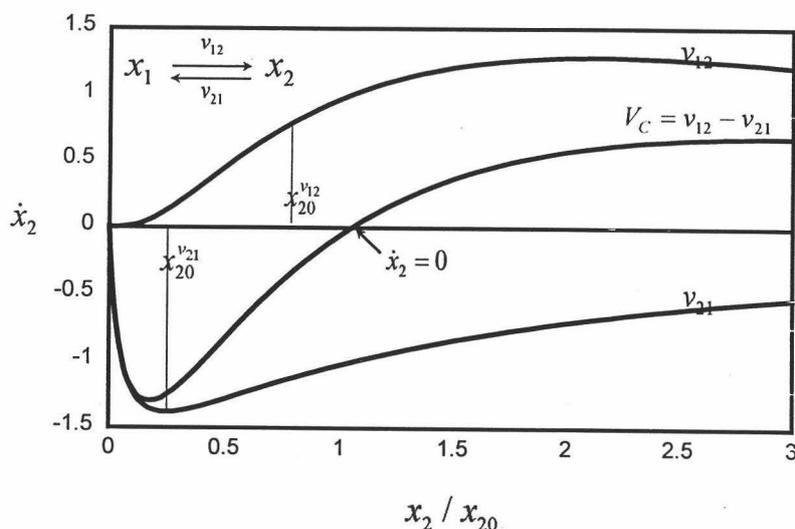


Figura 2.10.4.- Perfiles de saturación de las etapas de la PFK (v_{21}) y de la FBPasa (v_{12}) respecto a la FBP (x_2) según los modelos PL2. El nivel x_1 de F6P se mantiene constante en el valor $x_{10}=1$. V_c representa el flujo neto a través del ciclo, que viene dado por la diferencia $V_c=v_{PFK}-v_{FBPasa}$. La escala de la abscisa está estandarizada con $x_{20}=0.750$.

c) **Interacción de la FBP con la parte baja de la glucólisis (v_{24} y v_{42}):** En el modelo de Boiteux et al. la interacción de la FBP con la parte baja de la glucólisis exhibe un perfil cuasi lineal que queda bien aproximado mediante la diferencia de un par de ecuaciones potenciales de primer grado. La primera, que representa al consumo glucolítico de FBP, viene dada por

$$v_{24} = 0.5490 X_2^{1.3500} \quad (2.10.11)$$

y la segunda, que representa la producción gluconeogénica de FBP, por

$$v_{42} = 0.8960 X_2^{-0.3500}, \quad (2.10.12)$$

siendo en los dos casos $X_2 = x_2 / 0.750$. Los valores de los parámetros implicados en los dos casos se han seleccionado de manera que el balance neto

$$V_G = v_{24} - v_{42} \quad (2.10.13)$$

ofrezca un perfil similar al sugerido por Boiteux et al. (figura 2.10.5).

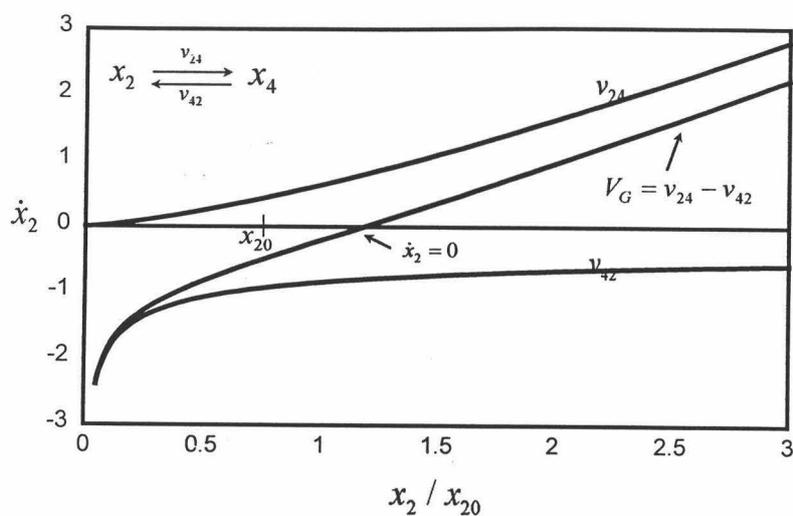


Figura 2.10.5.- Perfil PL2 de las etapas v_{24} y v_{42} y de su balance neto V_G . En las dos etapas se ha considerado $x_{20}=0.75$, que es el valor utilizado para estandarizar la escala del eje de abscisas.

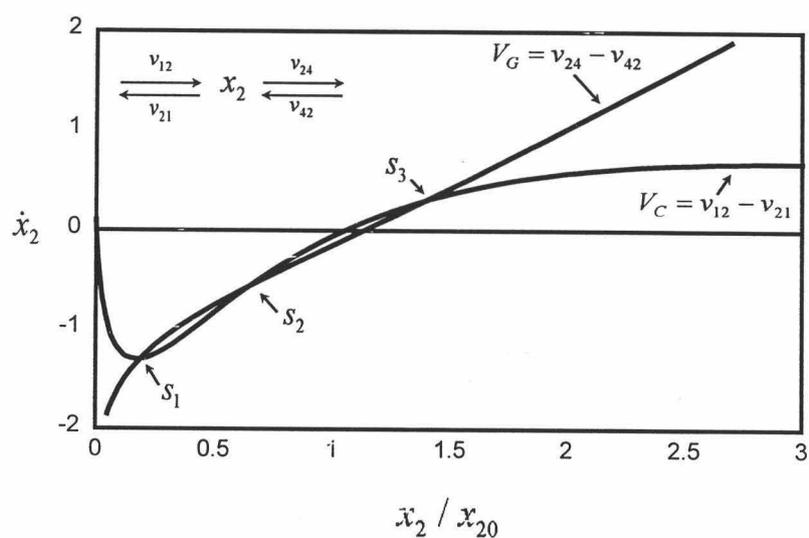


Figura 2.10.6.- Interacción entre el flujo neto a través del ciclo PFK-FBPasa y las etapas que conectan a la FBP con la parte baja de la glucólisis. S_1 , S_2 y S_3 representan los tres estados estacionarios posibles.

2.10.3.2.- Valoración y análisis del modelo. La interacción entre las velocidades netas V_C y V_G (definidas por 2.10.10 y 2.10.13 respectivamente) da lugar a la aparición de los tres estados estacionarios descritos por Boiteux et al. (figura 2.10.6; cf. con la figura 3 de la reproducción de trabajo de estos autores). La notación seguida aquí es la misma que la utilizada por estos autores. S_1 y S_3 representan a los estados estacionarios estables correspondientes a los regímenes gluconeogénico y glucolítico respectivamente. S_2 es el estado intermedio que puede localizarse arbitrariamente cerca del origen de ordenadas, según sea el nivel de F6P, dando lugar a una tasa de reciclaje elevada. Sin embargo, igual que en el modelo original S_2 es inestable. En todos los casos, las condiciones de estabilidad se pueden deducir del modo sugerido por Boiteux *et al.* a partir del signo de la derivada de x_2 en el entorno de cada estado estacionario.

El aumento en el nivel de F6P da lugar a un desplazamiento progresivo en sentido ascendente de la curva V_C respecto a la V_G . Esto ocasiona la pérdida final de las intersecciones S_1 y S_2 quedando S_3 como el único estado estacionario factible. La reducción del nivel de F6P tiene el efecto contrario. La curva V_C se desplaza progresivamente en sentido descendente respecto a la V_G hasta que la única intersección factible sea la S_1 .

Sin embargo, la pérdida de uno de los estados estacionarios estables requiere que la magnitud del cambio en el nivel de F6P sobrepase cierto valor umbral. Cuando los cambios en la F6P son inferiores a este umbral, la posición del punto estacionario varía muy poco y el sistema no modifica su régimen de funcionamiento. Esta falta de respuesta ante la variación en un rango limitado de la señal de entrada (la concentración de F6P) da lugar a un fenómeno de histeresis, que induce que el sistema permanezca de forma estable en uno de los estados estacionarios o que conmute al otro estado estable alternativo en función de la magnitud de la señal de entrada.

La simulación del comportamiento dinámico del sistema cuando se controla la variación de F6P permite apreciar el comportamiento descrito (figura 2.10.7 y tabla 2.10.1). En el estado inicial la concentración de F6P es suficientemente alta como para situar al sistema en el estado estacionario propio del régimen glucolítico. El aumento progresivo de F6P no altera sensiblemente este estado, la PFK se mantiene desarrollando su máxima actividad y la FBPasa está prácticamente inhibida. En esta situación el nivel de reciclaje es prácticamente despreciable. La reducción de F6P tampoco modifica el estado del sistema si esta disminución no sobrepasa un valor umbral. Sin embargo, cuando esto ocurre, hay una transición rápida al estado estacionario propio del régimen gluconeogénico. Ahora el nivel de FBP es demasiado bajo tanto para activar a la PFK como para inhibir a la FBPasa, de manera que toda la actividad la desarrolla esta última manteniendo un régimen en el que se evita el reciclaje. El único momento en que se da una tasa de reciclaje alta es durante la transición de un estado a otro.

Tabla 2.10.1.- Valores relevantes de las variables respecto a la simulación (unidades arbitrarias).

Valor	x_1 (F6P)	x_2 (FBP)
Centro de aproximación (x_{i0})	1	0.75
Inicial ($x_{i_{t_0}}$)	1.35	0.75
Máximo alcanzado	2.63	2.66 (estado glucolítico)
Mínimo alcanzado	0.07	0.19 (estado gluconeogénico)

La variación de F6P sigue una función sinusoidal con periodo $T=2$ y amplitud $A=1.28$ (la amplitud se obtiene por variación del $\pm 95\%$ respecto al valor inicial; i.e.: $1.35(1\pm 0.95)$)

La dependencia de la variación de la FBP respecto al nivel de F6P se representa en la figura 2.10.8. Según el modelo obtenido, la transición desde el estado glucolítico al gluconeogénico es más suave que la transición en el sentido inverso. Ocurre así por que la variación de la posición relativa de la curva V_C respecto a la V_G , inducida por la variación del nivel de F6P, permite que el punto S_3 se pueda desplazar más que el S_1 , que permanece prácticamente constante hasta que se pierde al conmutar el estado. En la figura 2.10.9 se representa la curva característica de entrada, que muestra la histeresis de la actividad del ciclo frente a variaciones lentas de la F6P. También se puede apreciar aquí como el rango de variación permitido para el estado estacionario glucolítico es mayor que para el gluconeogénico.

En cada estado del sistema, la aproximación lineal a los órdenes cinéticos aparentes (introducida en el apartado 2.7) permite conocer una estimación de la sensibilidad de cada una de las velocidades de reacción ante las variaciones de las variables de concentración implicadas. En la figura 2.10.10 se resume la valoración de estas aproximaciones para las etapas que constituyen el ciclo. En ella se puede apreciar cómo la etapa favorable a cada estado está saturada (el correspondiente $\bar{g} \approx 0$) mientras que la etapa responsable del flujo en el sentido inverso al dominante es especialmente sensible a los cambios de concentración (el correspondiente \bar{g} es máximo en valor absoluto).

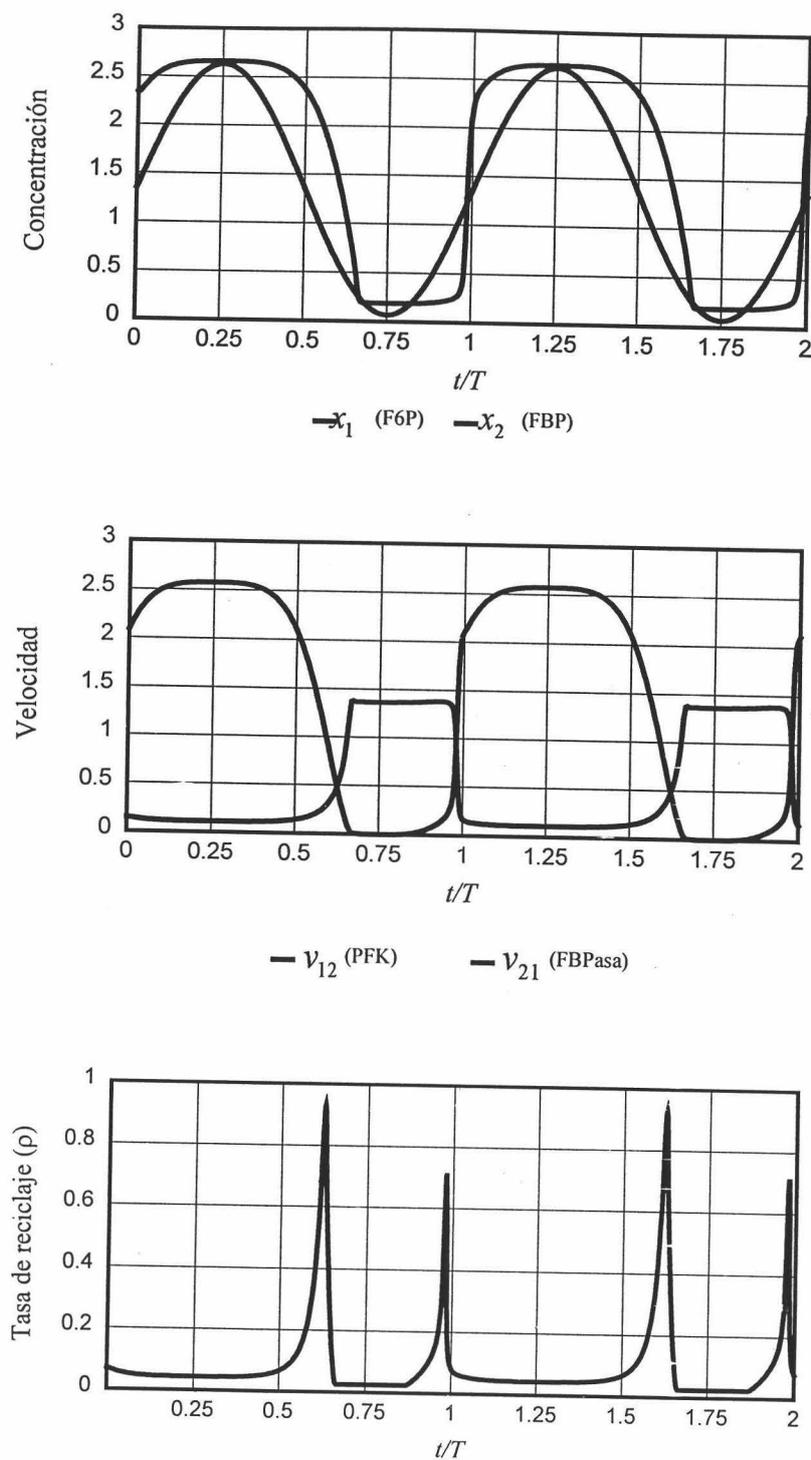


Figura 2.10.7.- Comportamiento dinámico del ciclo PFK-FBPasa según la variación periódica de F6P. La escalas de tiempo (t), concentración y velocidad son adimensionales. T representa el periodo de oscilación de la F6P.

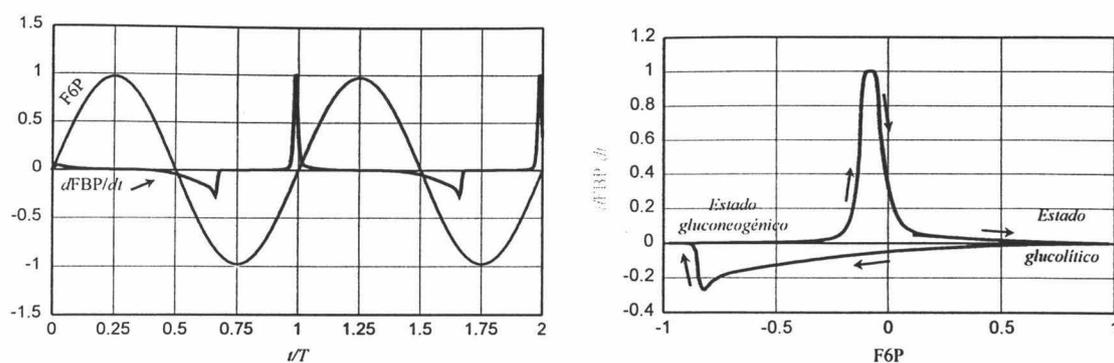


Figura 2.10.8.- Variación de la concentración FBP en función del nivel de F6P. Los valores de $d\text{FBP}/dt$ se aproximan mediante diferencias finitas $d\text{FBP}/dt \approx (\text{FBP}_{t+\Delta t} - \text{FBP}_t) / \Delta t$, siendo $\Delta t = 0.005$. En la representación estos valores se han estandarizado dividiéndolos por su máximo (97.30). La concentración de F6P también se ha estandarizado según la expresión: $(\text{F6P}_t - \text{F6P}_{t_0}) / A$, en donde F6P_{t_0} es el valor inicial y A es la amplitud de la oscilación.

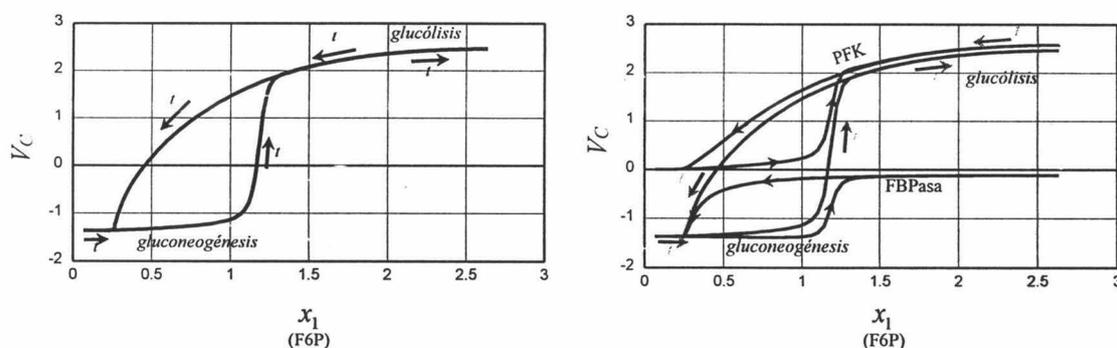
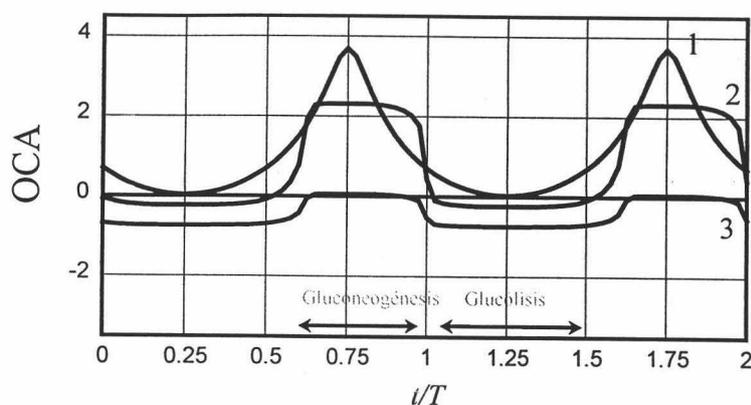


Figura 2.10.9.- Histeresis en el ciclo PFK-FBPasa al considerar a la F6P como señal de entrada. A la derecha aparece la *curva característica de entrada* correspondiente a la actividad *global* del ciclo. A la izquierda se descompone esta curva en la actividad PFK y la FBPasa.

El valor negativo del orden cinético aparente estimado para la PFK respecto a la FBP ($\check{g}_{12,2}$) es debido, obviamente, a una falta de ajuste del modelo cuadrático. A partir del punto de saturación en el que $\check{g}_{12,2} = 0$ (que corresponde a un nivel de FBP $x_2 = 1.8985$ inferior al del estado estacionario definido por $S_3 = 2.6631$) la estructura parabólica del modelo deja de ser adecuada. Lo que debería ser una falta de respuesta, caracterizada por un coeficiente $\check{g}_{12,2}$ nulo, se representa con una variación en sentido negativo de la misma debido a que $\check{g}_{12,2} < 0$. Por tanto, y siempre limitándonos a interpretar nuestro modelo, en el régimen glucolítico la actividad de la PFK debe de estar saturada tanto por su sustrato como por su activador, desarrollando así una actividad máxima. Esta falta de respuesta de la PFK a un mayor aumento del nivel de F6P confiere

estabilidad al estado estacionario S_3 y permite que las fluctuaciones en el nivel de FBP sean amortiguadas por la actividad de la etapa v_{24} que retira el exceso de este intermediario en sentido glucolítico.



Etapa:	PFK		FBPasa
Nodo:	F6P ($\check{g}_{12,1}$)	FBP ($\check{g}_{12,2}$)	FBP ($\check{g}_{21,1}$)
$g_{ij,k0}$	1.0000	0.9300	0.0000
Max $\check{g}_{ij,k}$	3.6955	2.3144	0.0559
Min $\check{g}_{ij,k}$	0.0321	-0.2349	-0.7356

Figura 2.10.10.- Aproximación lineal a los órdenes cinéticos aparentes (OCA) instantáneos mediante la valoración de la función

$$\check{g}_{ij,k}(t) = g_{ij,k0} + \sum_r g_{ij,k,r} I_r$$

en cada iteración de la simulación. Los perfiles son: (1) $\check{g}_{12,1}(t)$; (2) $\check{g}_{12,2}(t)$ y (3) $\check{g}_{21,1}(t)$.

Por otra parte, en este estado la FBPasa es más sensible que nunca a los cambios en la concentración de su sustrato. De este modo, cuando el nivel de la FBP comienza a disminuir, la actividad fosfatasa contribuye de manera creciente a su retirada favoreciendo así a la transición rápida al estado gluconeogénico.

Una vez alcanzado el régimen gluconeogénico, la FBPasa se encuentra desarrollando su máxima actividad en lo que podría llamarse una "pseudosaturación" respecto a su sustrato. La magnitud del orden cinético aparente en este estado es prácticamente nula, llegando incluso a tomar valores positivos. Esto es debido a que el nivel de FBP en el estado estacionario gluconeogénico es ligeramente inferior al valor del punto crítico en que la actividad de la FBPasa alcanza su máximo ($S_1 < x_{20}^{v_{21}}$), induciendo así que $\gamma_{21,2} > 0$. En este estado la PFK no desarrolla prácticamente actividad, pero sin embargo, es muy sensible a los cambios en la concentración tanto de su activador como de su sustrato, de manera que contribuirá a la transición rápida al estado glucolítico cuando los niveles de estos comiencen a aumentar.

El comportamiento descrito por Boiteux *et al.* cuando se simula el funcionamiento autónomo del sistema también se puede reproducir con el modelo obtenido (figura 2.10.11). Independientemente de cuales sean las condiciones iniciales, el sistema oscila hasta alcanzar siempre un mismo estado estacionario. En este estado se da un 100% de reciclaje (figura 2.10.11-b). Sin embargo no es un estado estable y cualquier perturbación induce la transición hacia el régimen glucolítico o gluconeogénico.

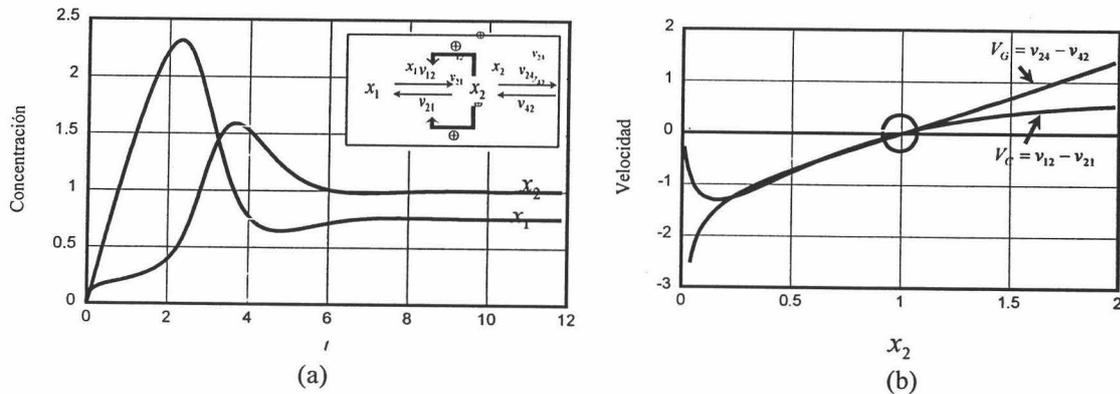


Figura 2.10.11.- (a) Comportamiento autocatalítico del sistema autónomo (el indicado en el recuadro) a partir del estado de reposo (las condiciones iniciales han sido $x_1=0.01$ y $x_2=0.01$). En la evolución de x_2 se puede observar el paso por un estado estacionario que no se estabiliza (véase Nicolis y Prigogine, 1997). (b) El estado estacionario alcanzado ($x_1=0.7568$; $x_2=1.0005$ indicado por el círculo) es un estado inestable en el que se da el 100% de reciclaje (comportamiento conforme con el propuesto por Boiteux *et al.*, 1980).

2.10.3.3.- Consideraciones sobre la aproximación de primer grado. Es indiscutible que el modelo PL2 construido aquí sobre los supuestos teóricos de Boiteux *et al.* tiene más carácter de boceto que de modelo formal. Los valores paramétricos considerados son aproximaciones que, grosso modo, permiten reproducir los perfiles de saturación presentados por estos autores. Sin embargo, esta aproximación resulta suficientemente ilustrativa para demostrar cómo la formulación de segundo grado puede ser una herramienta muy adecuada para representar, en el contexto de la BST, sistemas que difícilmente son reproducibles de forma directa mediante modelos más simples. La reproducción del sistema propuesto mediante aproximaciones de primer grado requiere de las siguientes consideraciones.

Para aproximar de forma eficiente el estado S_1 (gluconeogénico), la aproximación a la cinética de la PFK mediante el formalismo (clásico) de la ley potencial debería desarrollarse sobre la región inicial de la sigmoide que describe su saturación. De ser así, el orden cinético aparente $g_{12,2}$ será mayor que la unidad y, por tanto, la curva resultante será cóncava. Respecto a la cinética de la FBPasa,

la proximidad del punto de máxima actividad permite elegir entre tres alternativas cualitativamente distintas según que el centro de aproximación (digamos x_{20}) sea menor, igual o mayor que el punto $x_{20}^{v_{21}}$ (definido por la expresión 4). De estas alternativas las dos primeras son las menos convenientes. Si se considera $x_{20} < x_{20}^{v_{21}}$, el orden cinético $g_{21,2}$ será positivo y el tramo inicial de la cinética de la fosfatasa se aproxima muy bien. Sin embargo, no se puede describir la inhibición por sustrato y, por tanto, el estado glucolítico es inalcanzable. Algo parecido ocurre si se considera $x_{20} = x_{20}^{v_{21}}$. En esta situación la actividad de la FBPasa es constante e insensible a las variaciones en el nivel de su sustrato ($g_{21,2}=0$; recuérdese que este punto es el óptimo para la aproximación de segundo grado). Así pues, la única manera de describir la inhibición de la FBPasa por la FBP es elegir $x_{20} > x_{20}^{v_{21}}$, obteniendo así un valor $g_{21,2} < 0$. La combinación entre esta aproximación a la FBPasa y la cóncava a la PFK permite describir de forma adecuada el estado estacionario gluconeogénico. Sin embargo, la descripción del estado glucolítico S_3 será en general inadecuada (figura 2.10.12-a).

De forma alternativa, la elección de un punto de aproximación a la cinética de la PFK cercano a su región de saturación permite representar adecuadamente el estado glucolítico S_3 . Sin embargo, si se mantiene el modelo mecanicista subyacente (el establecido en las expresiones 2.10.1 y 2.10.3) la mejora es a costa de perder la capacidad de representar el estado estable gluconeogénico S_1 (figura 2.10.12-b).

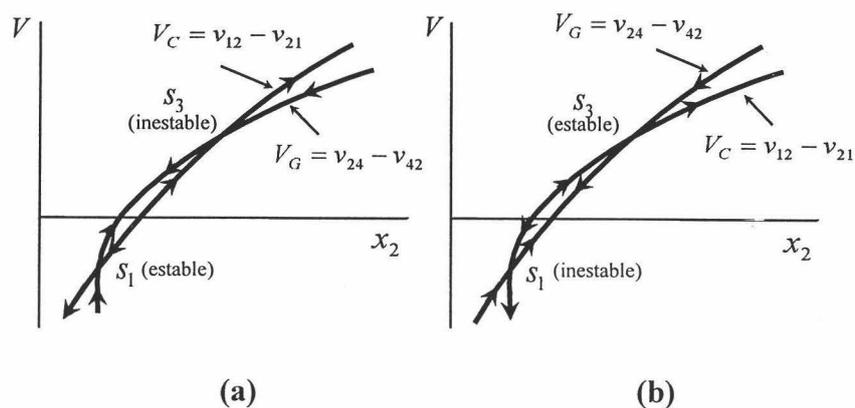


Figura 2.10.12.- Las dos situaciones mas comunes al describir el modelo de Boiteux et al. mediante aproximaciones potenciales de primer grado. Las flechas indican el sentido en que varía la FBP debido a cada proceso (i.e. el signo de su derivada). En las dos representaciones la aproximación a la FBPasa tiene, para la FBP, un orden cinético negativo ($g_{21,2} < 0$). En (a) la aproximación a la PFK es cóncava respecto a la variación de FBP ($g_{12,2} > 1$) y en (b) convexa ($0 < g_{12,2} < 1$).

2.11. Fórmulas computacionales para la representación de segundo grado.

En este apartado se va a considerar la forma en que se puede ganar eficiencia computacional en lo referente a la integración numérica de los sistemas de segundo grado. La idea a desarrollar es que, básicamente, la estructura matemática de los sistemas descritos según la formulación PL2 hace que sean factibles consideraciones análogas a las hechas, en el desarrollo de la BST, para los sistemas PL1.

2.11.1. Implementación de las ecuaciones de segundo grado

De forma general, un sistema descrito mediante la formulación PL2, queda definido por la expresión:

$$\dot{x}_i = \sum_{j=1}^r m_{ij} \left(v_{j0} \prod_{k=1}^{n+m} X_k^{G_{jk}(l)} \right) \quad (2.11.1)$$

en donde la notación es la ya introducida: m_{ij} es el elemento que ocupa la fila i y la columna j de la matriz de incidencia con dimensiones $(n+m) \times r$; $X_k = x_k / x_{k0}$; y $G_{jk}(l)$ es la función

$$G_{jk}(l) = g_{jk0} + \frac{1}{2} \sum_{q=1}^{n+m} g_{jkq} l_q \quad (2.11.2)$$

con $l_q = \ln(x_q / x_{q0})$.

El sistema diferencial (2.11.1) es susceptible de ser resuelto numéricamente en la forma en que aparece formulado. Sin embargo, igual que ocurre cuando la representación viene dada en la forma PL1, su integración directa no es eficiente; cada iteración implica la evaluación de un número elevado de exponenciaciones que, además de requerir un mayor tiempo de cómputo, inducen una pérdida de precisión en los resultados al facilitar la propagación de los errores de redondeo. De forma añadida, las representaciones de segundo grado implican a un elevado número de funciones logarítmicas cuya evaluación agrava aún más el problema. Por tanto, se hace necesario considerar el desarrollo de una estrategia que permita ganar eficiencia computacional.

En el caso de los sistemas PL1, las exponenciaciones se evitan mediante una transformación conveniente de las variables. Definiendo (Savageau, 1970; 1976):

$$\begin{aligned} y_i &= \ln x_i \\ g'_{ij} &= g_{ij} - \delta_{ij} \\ h'_{ij} &= h_{ij} - \delta_{ij} \end{aligned} \quad (2.11.3)$$

(en donde g_{ij} y h_{ij} representan a los OCA propios de la BST y δ_{ij} es la delta de Kronecker; $\delta_{ij}=1$ si $i=j$ y $\delta_{ij}=0$ si $i \neq j$), las ecuaciones dinámicas

$$\dot{x}_i = \alpha_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{g_{ij}} - \beta_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{h_{ij}}, \quad (2.11.4)$$

se transforman en

$$\dot{y}_i = \alpha_i \exp\left(\sum_{j=1}^{n+m} g'_{ij} y_j\right) - \beta_i \exp\left(\sum_{j=1}^{n+m} h'_{ij} y_j\right) \quad i=1, \dots, n \quad (2.11.5)$$

de manera que las $2(n+m)$ exponenciaciones por ecuación, se reducen a 2. Aunque el desarrollo original se hace sobre sistemas S, es inmediata su extensión a los sistemas representados según la estrategia GMA. Haciendo uso de los elementos de la matriz de incidencia se puede escribir:

$$\dot{y}_i = \sum_{j=1}^r m_{ij} \alpha_j \exp\left(\sum_{k=1}^{n+m} g'_{jk} y_k\right). \quad (2.11.6)$$

Para el caso de los sistemas PL2 es posible plantear una transformación análoga a la anterior. De la definición

$$\dot{l}_i = \frac{d \ln(x_i / x_{i0})}{dt}; \quad i=1, \dots, n \quad (2.11.7)$$

se deduce que

$$\dot{l}_i = d \ln(x_i) / dt = \dot{y}_i, \quad (2.11.8)$$

en donde sigue siendo $y_i = \ln x_i$. Multiplicando cada miembro de (2.11.1) por x_{i0} / x_i se tiene:

$$x_{i0} \dot{l}_i = \sum_{j=1}^r m_{ij} \left(v_{j0} \prod_{k=1}^{n+m} X_k^{G'_{jk}(l)} \right), \quad (2.11.9)$$

siendo

$$G'_{jk}(l) = G_{jk}(l) - \delta_{ik}, \quad (2.11.10)$$

de manera que

$$\dot{l}_i = \frac{1}{x_{i0}} \sum_{j=1}^r m_{ij} \left[v_{j0} \exp \left(\sum_{k=1}^{n+m} G'_{jk}(l) l_k \right) \right] \quad (2.11.11)$$

de donde es inmediato escribir:

$$\dot{l}_i = \frac{1}{x_{i0}} \sum_{j=1}^r m_{ij} \exp \left(w_{j0} + l' \mathbf{g}'_j + \frac{1}{2} l' \mathbf{G}_j l \right). \quad (2.11.12)$$

siendo \mathbf{g}'_j el vector columna con dimensión $(n+m)$ definido como

$$\mathbf{g}'_j = \left(g_{jk0} - \delta_{jk} \right)_{k=1}^{n+m} \quad (2.11.13)$$

(δ_{jk} es siempre la delta de Kronecker).

La recuperación de las variables de concentración $\mathbf{x}(t)$, en su escala original y respecto a un instante t , es inmediata a partir de los valores obtenidos para $l(t)$:

$$x_i(t) = x_{i0} \exp l_i(t); \quad i=1, \dots, n. \quad (2.11.14)$$

2.11.2. Resolución numérica por el método de Taylor

Un procedimiento para obtener numéricamente la solución de (2.11.1), es expandir $l(t)$ en una serie de Taylor con centro en el valor inicial $l(t_0)$ y después evaluar la serie en $t_1 = t_0 + \Delta t$ a fin de obtener $l(t_1)$. Repitiendo este proceso es posible obtener $l(t_2)$, $l(t_3)$, etc., constituyendo así el método de Taylor de orden P cuando se utilizan los P primeros términos de la serie (p.e. Burden y Faires, 1985; Allen, 1988). Sin embargo, aunque estos métodos tienen la propiedad deseable de presentar un error de truncamiento local de orden grande (es decir, la adición de un nuevo término a la serie reduce considerablemente el error), tienen el grave inconveniente de requerir el cálculo y la evaluación de las P primeras derivadas

de la función original. En general, esto puede ser complicado y muy costoso desde el punto de vista computacional, por lo que estos métodos no son muy utilizados en la práctica.

No obstante, cuando la estructura del problema permite la evaluación eficiente de las derivadas, la resolución numérica mediante series de Taylor puede resultar muy conveniente. Para Irvine y Savageau (1990), este es el caso de los sistemas basados en el formalismo de la ley potencial, ya que la regularidad estructural inducida por este formalismo permite que la obtención y evaluación de las derivadas de orden superior pueda hacerse de manera eficiente y con independencia de la naturaleza del problema.

Esta regularidad estructural de los sistemas PL1 se mantiene para los PL2, y por tanto, la filosofía anterior sigue siendo válida. Por ello, el objetivo de este apartado va a ser adaptar a la formulación PL2 las fórmulas de recurrencia desarrolladas por estos autores (op. cit.) para resolver (eficientemente) problemas de valor inicial basados en la formulación PL1 mediante series de Taylor. Igual que en ocasiones anteriores, el enfoque que se va a seguir es hacer uso de la matriz de incidencia para definir las etapas que inciden sobre y desde cada nodo (de manera mas acorde a la representación GMA).

Según lo expuesto en el apartado anterior, el método de Taylor de orden P respecto a l_q puede escribirse

$$l_q(t+h) = l_q(t) + \sum_{p=1}^P \frac{1}{p!} l_q^{(p)}(t) h^p \quad (2.11.15)$$

para $q=1, \dots, n$ y siendo t la variable tiempo, h sus incrementos y, como siempre,

$$l_q = \ln(x_q / x_{q0}), \quad (2.11.16)$$

representando mediante $l_q^{(k)}$ a su derivada k -ésima respecto a t :

$$l_q^{(k)} = \frac{d^k}{dt^k} l_q. \quad (2.11.17)$$

En lo que sigue será útil escribir

$$\alpha'_{qi} = v_{i0} / x_q \quad (2.11.18)$$

y tener presentes las definiciones:

$$g'_{ij0} = g_{ij0} - \delta_{ij} \quad (2.11.19)$$

$$G'_{ij}(\mathbf{l}) = g'_{ij0} + \frac{1}{2} \sum_{k=1}^{n+m} g_{ijk} l_k. \quad (2.11.20)$$

La derivada primera de \mathbf{l} respecto a t es

$$\mathbf{l}^{(1)} = \dot{\mathbf{l}},$$

cuyas componentes vienen dadas por

$$l_q^{(1)} = \sum_{i=1}^r m_{qi} \alpha'_{qi} \exp \left[\sum_{j=1}^{n+m} (g'_{ij0} + \frac{1}{2} \sum_{k=1}^{n+m} g_{ijk} l_k) l_j \right] \quad (2.11.21)$$

para $q=1, \dots, n$. Definiendo

$$A_{qi}^{(1)} = \alpha'_{qi} \exp \left(\sum_{j=1}^{n+m} G'_{ij}(\mathbf{l}) l_j \right) \quad (2.11.22)$$

la ecuación (5) queda

$$\dot{l}_q^{(1)} = \sum_{i=1}^r m_{qi} A_{qi}^{(1)}. \quad (2.11.23)$$

La derivada segunda de \mathbf{l} respecto a t se obtiene derivando (2.11.23):

$$l_q^{(2)} = \sum_{i=1}^r \left[m_{qi} \alpha'_{qi} \frac{d}{dt} \exp \left(\sum_{j=1}^{n+m} G'_{ij}(\mathbf{l}) l_j \right) \right] \quad (2.11.24)$$

que resulta

$$l_q^{(2)} = \sum_{i=1}^r \left\{ m_{qi} \alpha'_{qi} \sum_{j=1}^{n+m} \left[\left(\frac{1}{2} \sum_{k=1}^{n+m} g_{ijk} l_k^{(1)} \right) l_j + G'_{ij}(\mathbf{l}) l_j^{(1)} \right] \right\}. \quad (2.11.25)$$

Esta expresión se puede simplificar definiendo

$$G_{ij}^{(1)}(\mathbf{l}) = \left(\frac{1}{2} \sum_{k=1}^{n+m} g_{ijk} l_k^{(1)} \right) \quad (2.11.26)$$

y

$$Q_i^{(1)} = \sum_{j=1}^{n+m} \left[G_{ij}^{(1)}(\mathbf{I}) l_j + G'_{ij}(\mathbf{I}) l_j^{(1)} \right]. \quad (2.11.27)$$

de manera que:

$$l_q^{(2)} = \sum_{i=1}^r m_{qi} A_{qi}^{(1)} Q_i^{(1)}. \quad (2.11.28)$$

Teniendo en cuenta que

$$Q_i^{(p)}(\mathbf{I}) = \frac{d}{dt} Q_i^{(p-1)}(\mathbf{I}) \quad (2.11.29)$$

(para $p=2,3,\dots$), es inmediato comprobar que $Q_i^{(p)}(\mathbf{I})$ se obtiene de forma recurrente a partir de la expresión general:

$$Q_i^{(p)}(\mathbf{I}) = \sum_{q=0}^p \left(C_{p,q} \sum_{j=1}^{n+m} G_{ij}^{(p-q)}(\mathbf{I}) l_j^q \right) \quad (2.11.30)$$

siendo $C_{p,q}$ el número combinatorio

$$C_{p,q} = \binom{p}{q} = \frac{p!}{q!(p-q)!}. \quad (2.11.31)$$

Considerando finalmente

$$F_{pq} = \frac{(p-2)!}{(q-1)!(p-q-1)!} \quad (2.11.32)$$

que son los coeficientes del triángulo de Pascal, se obtienen las fórmulas de recurrencia que llevan a cualquier $l_q^{(p)}$:

$$A_{qi}^{(p)} = \sum_{k=1}^{p-1} F_{pk} A_{qi}^{(p-k)} Q_i^{(k)} \quad (2.11.33)$$

$$l_q^{(p)} = \sum_{i=1}^r m_{qi} A_{qi}^{(p)}$$

Estas fórmulas de recurrencia, resumidas en la tabla 2.11.1, son totalmente análogas a las desarrolladas por Irvine y Savageau (1990) y, por tanto, a aquellas utilizadas tradicionalmente para generar los coeficientes de Taylor.

Tabla 2.11.1.- Fórmulas de recurrencia para la implementación del método de Taylor sobre sistemas de ecuaciones diferenciales ordinarias con estructura PL2.

Método de Taylor de orden P :

$$l_q(t+h) = l_q(t) + \sum_{p=1}^P \frac{1}{p!} l_q^{(p)}(t) h^p; \quad q=1, \dots, n$$

Derivada de orden p para l_q :

$$l_q^{(p)} = \sum_{i=1}^r m_{qi} A_{qi}^{(p)}$$

con:

$$A_{qi}^{(p)} = \begin{cases} \alpha_{qi}' \exp\left(\sum_{j=1}^{n+m} G_{ij}'(I) l_j\right) & \text{si } p = 1 \\ \sum_{k=1}^{p-1} F_{pk} A_{qi}^{(p-k)} Q_i^{(k)} & \text{si } p > 1 \end{cases}$$

$$Q_i^{(p)}(I) = \sum_{q=0}^p \left(C_{p,q} \sum_{j=1}^{n+m} G_{ij}^{(p-q)}(I) l_j^q \right) \text{ para } p \geq 1$$

$$F_{pq} = \frac{(p-2)!}{(q-1)!(p-q-1)!}$$

$$G_{ij}^{(p)}(I) = \begin{cases} g_{ij0}' + \frac{1}{2} \sum_{k=1}^{n+m} g_{ijk} l_k & \text{si } p = 0 \\ \frac{1}{2} \sum_{k=1}^{n+m} g_{ijk} l_k^{(p)} & \text{si } p > 0 \end{cases}$$

$$g_{ij0}' = g_{ij0} - \delta_{ij}; \quad \alpha_{qi}' = v_{i0}/x_q$$



2.12. Aportaciones del formalismo de segundo grado a la caracterización del estado estacionario sobre la base de los sistemas S

En el apartado 2.9 se ha puesto de manifiesto el elevado coste que puede resultar una estrategia de reformulación encaminada a expresar modelos de segundo grado como modelos de primero. La elevada redundancia de variables y ecuaciones hace que los modelos “reformulados” resulten de poco interés desde un punto de vista práctico. En este sentido, los modelos definidos en Π_2^L cumplen mucho mejor con el principio de parsimonia y, sobre todo, pueden proporcionar valiosa información acerca de la forma en que opera el sistema bajo estudio (tal y como se ha puesto de manifiesto al tratar el análisis canónico en el apartado 2.5). Por otra parte, también se ha visto como los modelos de segundo grado pueden servir como *función soporte* a partir de la cual se pueden mejorar las formulaciones de primer grado. En este apartado se va a presentar otra aportación de la formulación de segundo grado que se ajusta a estos principios.

El objetivo es aprovechar la información contenida en los modelos PL2 para refinar la solución de estado estacionario obtenida a partir de los sistemas S de primer grado.

2.12.1. Introducción. Condición de estado estacionario en términos de las variables l_i

Supongamos, como se hace siempre, que el vector de variables l se ha definido de manera que las primeras n componentes son las variables *dependientes* y las m restantes las *independientes* del sistema, de forma que:

$$l = \left(l_{\text{dep}} \mid l_{\text{ind}} \right)' \quad (2.12.1)$$

con $l_i = x_i/x_{i0}$. La condición $\dot{x}_i = 0$ (para $i=1, \dots, n$) supone que

$$w_{\text{PL1}}^+(l) = w_{\text{PL1}}^-(l) \quad (2.12.2)$$

y por tanto

$$l_{\text{dep}} = -A_{\text{dep}}^{-1} A_{\text{ind}} l_{\text{ind}} + A_{\text{dep}}^{-1} w'_0 \quad (2.12.3)$$

siendo w'_0 el vector columna de coordenadas $w'_{0_i} = w_{0_i}^- - w_{0_i}^+$ ($i=1, \dots, n$). Es inmediato comprobar que la matriz L_x de ganancias logarítmicas —definidas en como

$$L(x_i, x_j) = \frac{\partial \ln x_i}{\partial \ln x_j} \quad (2.12.4)$$

(p.e. Savageau, 1976)— se puede expresar referida a las l_i :

$$L(x_i, x_j) = \frac{\partial l_i}{\partial l_j} \quad (2.12.5)$$

por tanto, la ganancia en términos de las variables x es la misma que si se expresa en términos de los índices X .

2.12.2. Determinación del estado estacionario sobre la base del modelo de segundo grado

Según la representación de primer grado, en el estado estacionario se verifica, para cada una de las ecuaciones del sistema, la igualdad:

$$(\mathbf{g}_i - \mathbf{h}_i)^t \mathbf{l}_s = w'_{0_i} \quad (2.12.6)$$

en donde \mathbf{l}_s indica de manera explícita que el sistema se encuentra en este estado. Sin embargo, al considerar la representación de segundo grado, la condición de estado estacionario supone, para cada ecuación:

$$w_{0_i}^+ + \mathbf{g}_i^t \mathbf{l}_s + \frac{1}{2} \mathbf{l}_s^t \mathbf{G}_i \mathbf{l}_s = w_{0_i}^- + \mathbf{h}_i^t \mathbf{l}_s + \frac{1}{2} \mathbf{l}_s^t \mathbf{H}_i \mathbf{l}_s \quad (2.12.7)$$

De aquí es inmediato considerar la agrupación de términos:

$$(\mathbf{g}_i - \mathbf{h}_i)^t \mathbf{l}_s + \frac{1}{2} \mathbf{l}_s^t (\mathbf{G}_i - \mathbf{H}_i) \mathbf{l}_s = w'_{0_i}. \quad (2.12.8)$$

Definiendo el vector columna n -dimensional $\mathbf{C}(I)$, cuyas componentes vienen dadas por las formas cuadráticas implicadas en cada ecuación,

$$\mathbf{C}_i(I) = \frac{1}{2} \mathbf{l}_s^t (\mathbf{G}_i - \mathbf{H}_i) \mathbf{l}_s \quad (2.12.9)$$

se puede escribir:

$$\mathbf{l}_{\text{dep}} = -\mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{A}_{\text{ind}} \mathbf{l}_{\text{ind}} + \mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{w}'_0 - \mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{C}(\mathbf{l}) \quad (2.12.10)$$

Obviamente, esta expresión no proporciona una solución para el vector de variables dependientes \mathbf{l}_{dep} , pues este aparece en los dos miembros de la igualdad (en el miembro de la derecha constituye las n primeras coordenadas de \mathbf{l}). Sin embargo, a partir de aquí es posible plantear un método iterativo para aproximar la solución del modelo de segundo grado.

Comencemos por estudiar la estructura de $\mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{C}(\mathbf{l})$. Si convenimos en llamar $a_{ij}^{(-1)}$ a los elementos de la matriz cuadrada $\mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1}$, el producto $\mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{C}(\mathbf{l})$ resulta ser:

$$\mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{C}(\mathbf{l}) = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} \sum_{j=1}^n a_{1j}^{(-1)} [\mathbf{l}' (\mathbf{G}_j - \mathbf{H}_j) \mathbf{l}] \\ \vdots \\ \sum_{j=1}^n a_{nj}^{(-1)} [\mathbf{l}' (\mathbf{G}_n - \mathbf{H}_n) \mathbf{l}] \end{pmatrix} \quad (2.12.11)$$

de donde se sigue que:

$$\mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{C}(\mathbf{l}) = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} \mathbf{l}' \left[\sum_{j=1}^n a_{1j}^{(-1)} (\mathbf{G}_j - \mathbf{H}_j) \right] \mathbf{l} \\ \vdots \\ \mathbf{l}' \left[\sum_{j=1}^n a_{nj}^{(-1)} (\mathbf{G}_n - \mathbf{H}_n) \right] \mathbf{l} \end{pmatrix}. \quad (2.12.12)$$

Definiendo las n matrices cuadradas ($n \times n$)

$$\mathbf{F}_i = \left[\frac{1}{2} \sum_{j=1}^n a_{ij}^{(-1)} (\mathbf{G}_i - \mathbf{H}_i) \right]; \quad i=1, \dots, n \quad (2.12.13)$$

la (2.12.12) resulta

$$\mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{C}(\mathbf{l}) = \mathbf{l}' \otimes \{\mathbf{F}\} \otimes \mathbf{l} \quad (2.12.14)$$

en donde $\{\mathbf{F}\}$ representa a un tensor con dimensiones $n \times n \times n$, y $\mathbf{l}' \otimes \{\mathbf{F}\} \otimes \mathbf{l}$ viene a ser una extensión tensorial del conjunto de formas cuadráticas $\mathbf{l}' \mathbf{F}_i \mathbf{l}$ (para $i=1, \dots, n$).

Por tanto, la expresión 2.12.10 se puede escribir

$$\mathbf{I}_{\text{dep}} = -\mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{A}_{\text{ind}} \mathbf{I}_{\text{ind}} + \mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{w}'_0 - \mathbf{I}' \otimes \{\mathbf{F}\} \otimes \mathbf{I}. \quad (2.12.15)$$

Si llamamos $\mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{L}}$ a la solución del sistema S de primer grado, en donde el superíndice “L” indica que se obtiene por resolución de un sistema de ecuaciones (algebraicas) lineales, i.e.:

$$\mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{L}} = -\mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{A}_{\text{ind}} \mathbf{I}_{\text{ind}} + \mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{w}'_0, \quad (2.12.16)$$

y $\mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{C}}$ a la solución que se obtendría en caso de poder resolver el sistema cuadrático (de ahí la “C”), entonces, según la expresión 2.12.15, se verifica:

$$\mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{C}} = \mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{L}} - (\mathbf{I}^{\text{C}})' \otimes \{\mathbf{F}\} \otimes \mathbf{I}^{\text{C}} \quad (2.12.17)$$

siendo $\mathbf{I}^{\text{C}} = (\mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{C}} \mid \mathbf{I}_{\text{ind}})^t$, o cuando sea el caso $\mathbf{I}^{\text{L}} = (\mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{L}} \mid \mathbf{I}_{\text{ind}})^t$. En términos de cada una de las variables componentes de \mathbf{I}_{dep} , la igualdad anterior resulta:

$$I_i^{\text{C}} = I_i^{\text{L}} - (\mathbf{I}^{\text{C}})' \mathbf{F}_i \mathbf{I}^{\text{C}}; \quad i=1, \dots, n \quad (2.12.18)$$

A partir de aquí, $\mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{C}}$ se puede aproximar de modo iterativo según el siguiente criterio. Una primera aproximación a $\mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{C}}$, digamos $\mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{C}_1}$, la constituye la solución lineal $\mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{L}}$. Por tanto, se puede considerar el valor resultante de utilizar $\mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{L}}$ para valorar las formas n cuadráticas $\mathbf{I}' \mathbf{F}_i \mathbf{I}$, de manera que

$$\mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{C}_1} = \mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{L}} - (\mathbf{I}^{\text{L}})' \otimes \{\mathbf{F}\} \otimes \mathbf{I}^{\text{L}}. \quad (2.12.19)$$

El vector $\mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{C}_1}$ obtenido, sirve como entrada para la siguiente iteración, que resultará

$$\mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{C}_2} = \mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{L}} - (\mathbf{I}^{\text{C}_1})' \otimes \{\mathbf{F}\} \otimes \mathbf{I}^{\text{C}_1} \quad (2.12.20)$$

repetiendo este proceso, según el esquema general

$$\mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{C}_k} = \mathbf{I}_{\text{dep}}^{\text{L}} - (\mathbf{I}^{\text{C}_{k-1}})' \otimes \{\mathbf{F}\} \otimes \mathbf{I}^{\text{C}_{k-1}} \quad (2.12.21)$$

para $k=1,2,\dots,K$, en base a haber considerado inicialmente $I_{\text{dep}}^{C_0} = I_{\text{dep}}^L$, es posible aproximar I_{dep}^C con la exactitud deseada. Un criterio posible de paro es iterar hasta que

$$\varepsilon'_k = \frac{\|I_{\text{dep}}^{C_k} - I_{\text{dep}}^{C_{k-1}}\|}{\|I_{\text{dep}}^{C_k}\|} \quad (2.12.22)$$

sea menor que alguna tolerancia prescrita $\varepsilon > 0$.

Por otra parte, la diferencia entre los valores de estado estacionario correspondientes a la representación de primer y segundo grado, se puede expresar en términos de cada una de las variables:

$$\mathbf{E}_L = I_{\text{dep}}^L - I_{\text{dep}}^C \quad (2.12.23)$$

o bien mediante la norma euclídea

$$\|\mathbf{E}_L\| = \sqrt{\sum_i (I_i^L - I_i^C)^2} \quad (2.12.24)$$

Lo que siempre puede darse en términos relativos al referirlo, por ejemplo, a $\|I_{\text{dep}}^L\|$. En la tabla 2.12.1 se resume el algoritmo presentado.

2.12.2.1.- Justificación del método. La filosofía del método no es otra que la de resolver sucesivamente sistemas de ecuaciones lineales sobre los que se va modificando el término independiente.

En cada iteración se obtiene un vector de componentes

$$C_i(I^{[k-1]}) = \frac{1}{2} (I^{[k-1]})^t (G_i - H_i) I^{[k-1]} \quad (2.12.25)$$

a partir del cual se puede obtener

$$\mathbf{w}_0^{[k]} = \mathbf{w}_0^{[0]} - \mathbf{C}(I^{[k-1]}) \quad (2.12.26)$$

siendo $\mathbf{w}_0^{[0]} = \mathbf{w}'_0$ y, tal y como ya se ha definido, $I^{[0]}$ es el vector cuyas n primeras coordenadas proceden de la resolución del sistema lineal.

En el paso siguiente se trata de resolver el sistema lineal

$$I_{\text{dep}}^{[k]} = -\mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{A}_{\text{ind}} I_{\text{ind}} + \mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{w}_0^{[k]} \quad (2.12.27)$$

de manera que en cada etapa se modifica el vector de términos independientes dado por $\mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{w}_0^{[k]}$ y se vuelve a determinar la solución del sistema de ecuaciones lineales.

En principio, la única condición para que el método sea aplicable, es que \mathbf{A}_{dep} no sea una matriz singular. Queda por caracterizar las condiciones en que se garantiza la convergencia del algoritmo así como el orden de la misma.

Tabla 2.12.1.- Algoritmo de obtención del estado estacionario en un sistema S de segundo orden.

<p><u>ENTRADA:</u></p> <p>Sistema S de segundo grado, en donde, para cada nodo x_i se considera :</p> $\begin{cases} w_{\text{PL}2_i}^+ = w_{0_i}^+ + \mathbf{g}_i' \mathbf{l} + \frac{1}{2} \mathbf{l}' \mathbf{G}_i \mathbf{l} & (\log. \text{ del influjo}) \\ w_{\text{PL}2_i}^- = w_{0_i}^- + \mathbf{h}_i' \mathbf{l} + \frac{1}{2} \mathbf{l}' \mathbf{H}_i \mathbf{l} & (\log. \text{ del eflujo}) \end{cases}$ <p>con: $\mathbf{l} = \begin{pmatrix} \mathbf{l}_{\text{dep}} \\ \mathbf{l}_{\text{ind}} \end{pmatrix} \begin{matrix} m \times 1 \\ m \times 1 \end{matrix}$; $\begin{cases} \mathbf{g}_i = (g_{ij0}); \mathbf{G}_i = (g_{ijk}) \\ \mathbf{h}_i = (h_{ij0}); \mathbf{H}_i = (h_{ijk}) \end{cases}$ para $i=1, \dots, n; j, k=1, \dots, n+m$</p> <p><u>CONDICIONES Y CÁLCULOS INICIALES:</u></p> <p><u>FIJADOS:</u> A) \mathbf{l}_{ind} (perturbación del sistema) B) el número máximo de iteraciones : $K > 1$ (entero positivo) C) la tolerancia: $\epsilon > 0$ (real)</p> <p><u>DEFINIR:</u></p> <ol style="list-style-type: none"> 1) $\mathbf{A} = \begin{bmatrix} \mathbf{A}_{\text{dep}} & \mathbf{A}_{\text{ind}} \\ n \times n & m \times n \end{bmatrix}$ con $a_{ij} = (g_{ij0} - h_{ij0})$ para $i=1, \dots, n; j=1, \dots, n+m$ 2) \mathbf{w}'_0 con $w'_{0_i} = w_{0_i}^- - w_{0_i}^+$ para $i=1, \dots, n$ 3) Supuesto^(*) $\mathbf{A}_{\text{dep}} \neq 0$, OBTENER $\mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1}$ (cuyos elementos serán $a_{ij}^{(-1)}$)
--

(Tabla 2.12.1.- Continuación)

OBTENER:

- 1) $I_{\text{dep}}^{[0]} = -A_{\text{dep}}^{-1} A_{\text{ind}} I_{\text{ind}} + A_{\text{dep}}^{-1} w'_0$
- 2) $I^{[0]} = \begin{pmatrix} I_{\text{dep}}^{[0]} \\ I_{\text{ind}} \end{pmatrix}$
- 3) $F_i = \left[\frac{1}{2} \sum_{j=1}^n a_{ij}^{(-1)} (G_i - H_i) \right]$ para $i=1, \dots, n$

ITERACIONES:

REPETIR: PARA $k=1, 2, \dots, K$ (o bien hasta que se verifique el criterio de paro)

a) PARA $i=1, \dots, n$: OBTENER $I_i^{[k]} = I_i^{[0]} - \sum_{j,k=1}^{n+m} F_{ijk} I_j^{[k-1]} I_k^{[k-1]}$ (coordenadas de $I_{\text{dep}}^{[k]}$)

b) ASIGNAR $I^{[k]} = \begin{pmatrix} I_{\text{dep}}^{[k]} \\ I_{\text{ind}} \end{pmatrix}$

c) CRITERIO DE PARO: SI $\frac{\|I_{\text{dep}}^{C_k} - I_{\text{dep}}^{C_{k-1}}\|}{\|I_{\text{dep}}^{C_k}\|} < \epsilon$ (o bien si $k > K$) ENTONCES **TERMINAR**

SALIDA:

1) Aproximación a la solución del sistema de segundo grado: $I^C \cong \begin{pmatrix} I_{\text{dep}}^{[k]} \\ I_{\text{ind}} \end{pmatrix}$

2) Error de aproximación: $\epsilon' = \frac{\|I_{\text{dep}}^{C_k} - I_{\text{dep}}^{C_{k-1}}\|}{\|I_{\text{dep}}^{C_k}\|}$

3) Error en I^L : para $E_L = I^L - I^C$ considerar la norma $\|E_L\|$ o bien $\|E_L\|/\|I^L\|$

(*) en caso contrario no hay solución al sistema lineal y el método no es aplicable.

2.12.2.2.- Acotación del error en el estado estacionario de primer grado por truncamiento de la serie PL1. Las F_i son matrices reales simétricas por tratarse de una combinación lineal de matrices reales simétricas (expresión 2.12.13). Esto garantiza que los valores propios de cada una de las F_i serán reales y que los vectores propios asociados con raíces distintas son ortogonales (Bellman, 1965).

Si el espectro de cada una de las F_i queda definido por el conjunto $\sigma(F_i) = \{\lambda_{i_1}, \dots, \lambda_{i_n}\}$, en donde la notación se establece conforme al criterio de orden $\lambda_{i_1} \geq \lambda_{i_2} \geq \dots \geq \lambda_{i_n}$, se verifica —véase Bellman (1965)— que para cualquier vector I se cumple

$$\max_I \frac{I^T F_i I}{I^T I} = \lambda_{i_1} \text{ y } \min_I \frac{I^T F_i I}{I^T I} = \lambda_{i_n} \quad (2.12.28)$$

es decir, que el conjunto de valores que toma la forma cuadrática $I^T F_i I$ sobre la superficie esférica $I^T I = 1$, esta acotado por

$$\lambda_{i_1} \geq \frac{I^T F_i I}{I^T I} \geq \lambda_{i_n} \quad (2.12.29)$$

Concretamente, la aplicación $R^{n \times 1} \setminus \{0\} \xrightarrow{\rho_{F_i}} R$ que a cada vector no nulo $I \in R^{n \times 1}$, le asocia

$$\rho_{F_i}(I) = \frac{I^T F_i I}{I^T I} \quad (2.12.30)$$

se conoce como el *cociente de Rayleigh* de la matriz simétrica F_i (Burgos, 1977). El valor de $\rho_{F_i}(I)$ coincide con el de alguno de los valores propios de F_i cuando el vector I es, precisamente, el autovector asociado a dicho autovalor (véase Bellman, 1965, o Burgos, 1977).

El interés de este resultado radica en que permite acotar la diferencia entre los estados estacionarios relativos a las formulaciones potenciales de primero y de segundo grado. A partir de (2.12.17) se puede expresar

$$l_i^L - l_i^C = (I^C)^T F_i I^C; \quad i=1, \dots, n \quad (2.12.31)$$

de modo que normalizando cada miembro con $(I^C)^T I^C$, se tiene

$$\rho_{F_i}(I^C) = \frac{l_i^L - l_i^C}{(I^C)^T I^C}. \quad (2.12.32)$$

Como $\rho_{F_i}(I^C)$ está acotado superior e inferiormente, y el factor de normalización es el mismo para todas las coordenadas, se tiene

$$\begin{pmatrix} \lambda_{1_n} \\ \vdots \\ \lambda_{n_n} \end{pmatrix} \leq \frac{1}{(I^C)^{n-1}} I^C \begin{pmatrix} l_1^L - l_1^C \\ \vdots \\ l_n^L - l_n^C \end{pmatrix} \leq \begin{pmatrix} \lambda_{1_1} \\ \vdots \\ \lambda_{n_1} \end{pmatrix}. \quad (2.12.33)$$

Por tanto, aunque I^C sea desconocido, los autovalores máximo y mínimo de cada una de las F_i proporcionan un criterio para establecer, en términos relativos, en qué coordenadas de I_{dep} se puede dar mayor discrepancia entre los estados estacionarios I^L y I^C .

Un problema que puede presentarse es que I^C puede ser arbitrariamente pequeño, basta con que los valores actuales de las x_i coincidan con su valor nominal x_{i0} . Sin embargo, aunque esta situación es la deseable desde un punto de vista teórico, en el ámbito experimental, en donde siempre va a haber (al menos) errores de medida, parece mas probable que los valores utilizados como centro de aproximación no coincidan exactamente con los correspondientes al estado estacionario.

En cualquier caso, la acotación presentada siempre va a tener interés teórico, puesto que al margen de cuál sea el estado estacionario actual, permite integrar la información que proporciona el modelo de segundo grado en términos acotar, salvo por un factor de escala —que es el mismo para todo el sistema—, las diferencias entre las coordenadas $l_i^L - l_i^C$.

2.12.2.3.- Un ejemplo de aplicación. En el apartado 2.6 se presentó un ejemplo en el que se puso de manifiesto la discrepancia que puede existir entre los estados estacionarios deducidos a partir de especificaciones alternativas de primero y de segundo grado. El estado estacionario relativo a la formulación de segundo grado, se obtuvo entonces mediante la integración numérica del modelo. A continuación se va a caracterizar esta solución mediante la aplicación del método presentado en este apartado.

Recordemos que el sistema considerado viene descrito por el modelo diferencial:

$$\begin{aligned} \dot{x}_1 &= v_{PL2_1} - v_{PL2_2} \\ \dot{x}_2 &= v_{PL2_2} - v_{PL2_3} \end{aligned} \quad (2.12.34)$$

en donde cada etapa viene especificada según

$$\begin{cases} v_{PL2_1} = 0.500 X_3^{0.500-0.120l_3} \\ v_{PL2_2} = 0.466 X_1^{0.800-0.294l_1-0.095l_2} X_2^{-0.098-0.095l_1-0.096l_2} \\ v_{PL2_3} = 0.268 X_2^{0.732-0.098l_2} \end{cases} \quad (2.12.35)$$

Los elementos necesarios para la determinación analítica del estado estacionario según el modelo de primer grado son:

$$\mathbf{A}_{\text{dep}} = \begin{pmatrix} -0.8000 & 0.0980 \\ 0.8000 & -0.8295 \end{pmatrix} \text{ y de aquí } \mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} = \begin{pmatrix} -1.4173 & -0.1671 \\ -1.3667 & -1.3667 \end{pmatrix}$$

$$\mathbf{A}_{\text{ind}} = \begin{pmatrix} 0.5 \\ 0 \end{pmatrix} \text{ y } \mathbf{w}' = \begin{pmatrix} -0.3690 \\ 0.3477 \end{pmatrix} \quad (2.12.36)$$

La valoración de x_3 en x_{30} (i.e. $l_3 = 0$) da lugar a la solución de estado estacionario:

$$l_{\text{dep}}^L = \begin{pmatrix} 0.1927 \\ 0.8508 \end{pmatrix} \quad (2.12.37)$$

Atendiendo ahora a los coeficientes de segundo grado, se tiene:

$$\frac{1}{2} \mathbf{G}_1 = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -0.1200 \end{pmatrix} \quad (2.12.38)$$

$$\frac{1}{2} \mathbf{G}_2 = \begin{pmatrix} -0.2935 & -0.0946 & 0 \\ -0.0946 & -0.0951 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}$$

$$\frac{1}{2} \mathbf{G}_3 = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 \\ 0 & -0.0982 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}$$

y considerando las identidades

$$\mathbf{H}_1 = \mathbf{G}_2 \text{ y } \mathbf{H}_2 = \mathbf{G}_3$$

la diferencia de las hessianas relativas a cada ecuación resulta:

$$\frac{1}{2}(\mathbf{G}_1 - \mathbf{H}_1) = \begin{pmatrix} 0.2935 & 0.0946 & 0 \\ 0.0946 & -0.0951 & 0 \\ 0 & 0 & -0.1200 \end{pmatrix} \quad (2.12.39)$$

y

$$\frac{1}{2}(\mathbf{G}_2 - \mathbf{H}_2) = \begin{pmatrix} -0.2935 & -0.0946 & 0 \\ -0.0946 & 0.0030 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad (2.12.40)$$

Considerando ahora la expresión (2.12.15), el tensor $\{\mathbf{F}\}$ viene dado a partir de

$$\mathbf{F}_1 = \begin{pmatrix} -0.3669 & -0.1182 & 0 \\ -0.1182 & -0.1354 & 0 \\ 0 & 0 & 0.1701 \end{pmatrix} \quad (2.12.41)$$

y

$$\mathbf{F}_2 = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 \\ 0 & -0.1341 & 0 \\ 0 & 0 & 0.1640 \end{pmatrix}, \quad (2.12.42)$$

siendo $\sigma(\mathbf{F}_1) = \{0.1701, 0.0857, -0.4166\}$ y $\sigma(\mathbf{F}_2) = \{0.1640, 0, -0.1341\}$ sus respectivos espectros (aunque el autovalor $\lambda_{2_2} = 0$ resulta trivial, se considera a efectos de mantener las dimensiones de los componentes de $\{\mathbf{F}\}$). Obsérvese que, según lo expuesto anteriormente, la discrepancia entre los vectores \mathbf{l}^L y \mathbf{l}^C puede ser mayor respecto a su primera coordenada, ya que el radio espectral de \mathbf{F}_1 es, en valor absoluto, mayor que el de \mathbf{F}_2 .

La determinación iterativa de $\mathbf{l}_{\text{dep}}^C$ supone tomar como valor inicial a $\mathbf{l}_{\text{dep}}^L$, de manera que al considerar

$$\mathbf{l}^{[0]} = \begin{pmatrix} 0.1927 \\ 0.8508 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (2.12.43)$$

se obtiene una primera aproximación a \mathbf{l}^C que viene dada por

$$I_{\text{dep}}^{[1]} = \begin{pmatrix} 0.1927 \\ 0.8508 \end{pmatrix} - \begin{pmatrix} 0.1927 \\ 0.8508 \\ 0 \end{pmatrix}' \otimes \left\{ \begin{array}{ccc} \begin{pmatrix} -0.3669 & -0.1182 & 0 \\ -0.1182 & -0.1354 & 0 \\ 0 & 0 & 0.1701 \end{pmatrix} \\ \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \\ 0 & -0.1341 & 0 \\ 0 & 0 & 0.1640 \end{pmatrix} \end{array} \right\} \otimes \begin{pmatrix} 0.1927 \\ 0.8508 \\ 0 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0.3431 \\ 0.8508 \end{pmatrix}.$$

Tomando ahora

$$I^{[1]} = \begin{pmatrix} 0.3431 \\ 0.8508 \\ 0 \end{pmatrix}$$

para evaluar el producto tensorial implicado, se obtiene una nueva aproximación $I_{\text{dep}}^{[2]}$, continuando este proceso hasta verificar alguna condición de paro preestablecida. En la tabla 2.12.2 se dan los valores correspondientes a las iteraciones iniciales y otras intermedias hasta conseguir, en la iteración $k=85$, $\varepsilon'_k = 0$ (con ε'_k definido según la 2.12.22). La aproximación a la solución cuadrática resulta entonces:

$$I_{\text{dep}}^C \cong \begin{pmatrix} 0.5811 \\ 0.9795 \end{pmatrix}$$

cuya diferencia con el estado estacionario dado por el sistema de primer grado resulta, en términos absolutos

$$I_{\text{dep}}^L - I_{\text{dep}}^C = \begin{pmatrix} -0.3884 \\ -0.1287 \end{pmatrix}$$

Obsérvese que estas diferencias están próximas al radio espectral de las matrices F_1 y F_2 respectivamente. Por otra parte, la suposición de que la variable x_1 pudiera tener mayor error en la especificación de su nivel estacionario, en base a las acotaciones dadas por 2.12.32, era correcta: la rectificación sobre x_1 representa un 47% de su valor original mientras que sobre x_2 es solamente del 14%.

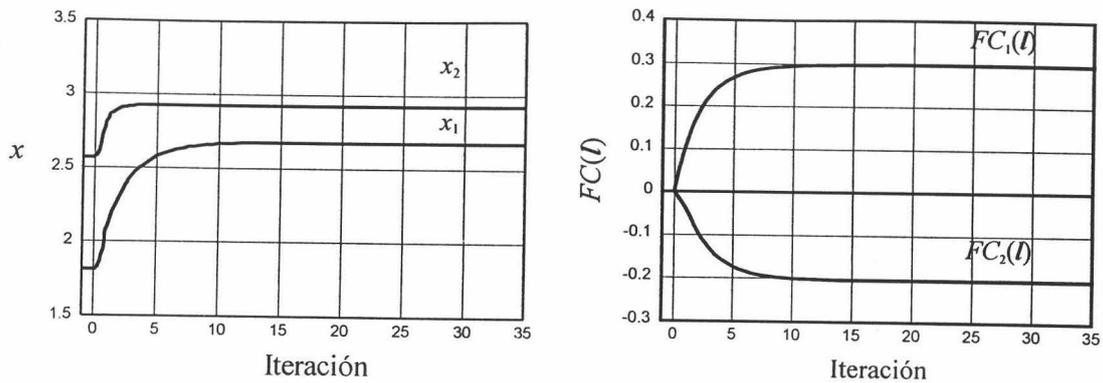


Figura 2.12.1.- Convergencia a la solución del sistema de segundo grado: (a) variables en la escala original y (b) evaluación de las formas cuadráticas $C(I)$

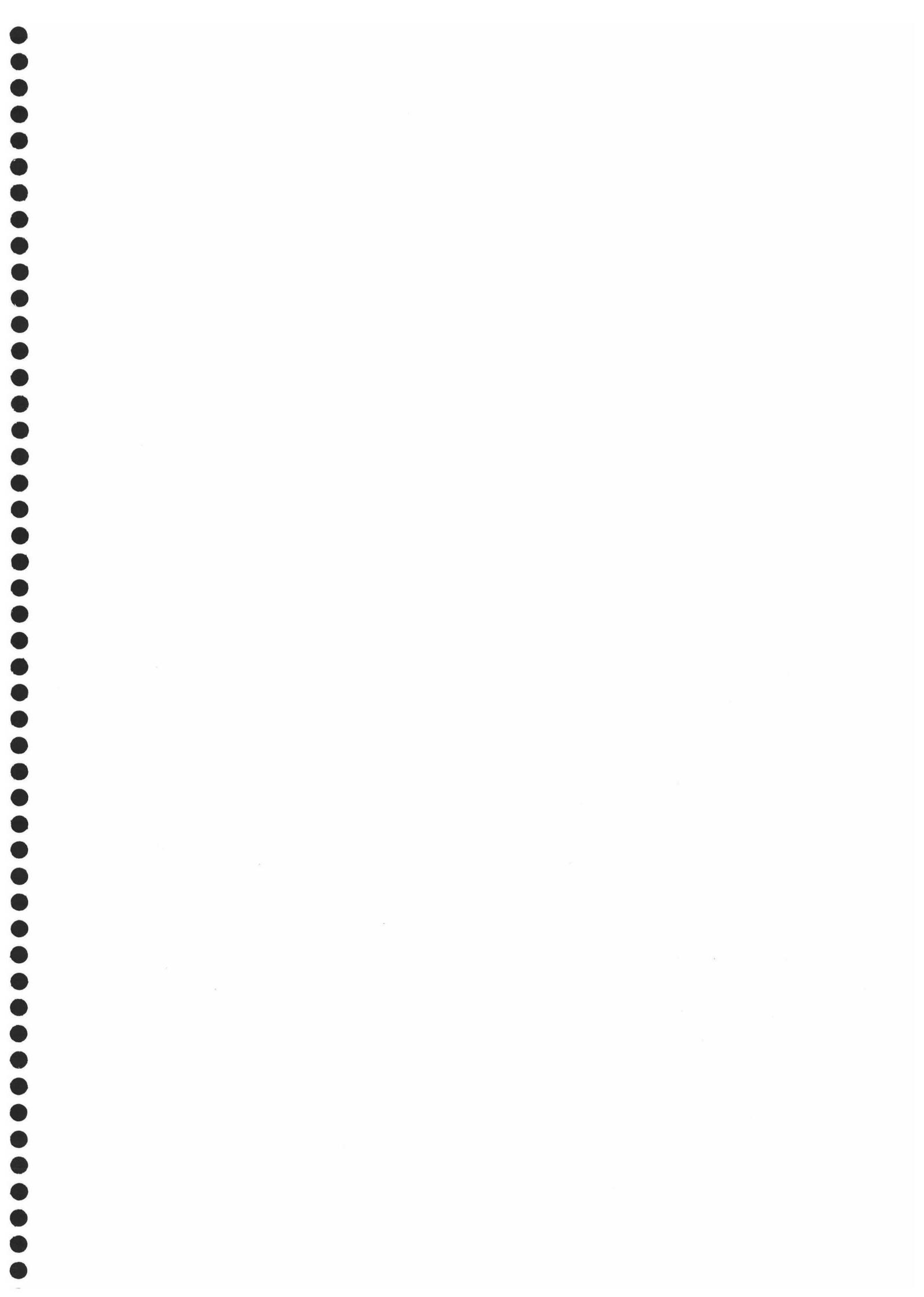
Tabla 2.12.2.- Iteraciones del algoritmo resumido en la tabla 2.12.1

k	$l_1^{[k]}$	$l_2^{[k]}$	$(l^{[k]})' F_1 l^{[k]}$	$(l^{[k]})' F_2 l^{[k]}$	ε'_k
0	0.19274746	0.85078923	-0.15038931	-0.09710088	—
1	0.34313677	0.94789010	-0.24173632	-0.12053001	3.15E-02
2	0.43448379	0.97131923	-0.29676902	-0.12656195	7.85E-03
3	0.48951648	0.97735118	-0.33035683	-0.12813875	2.57E-03
4	0.52310429	0.97892798	-0.35121176	-0.12855254	9.18E-04
5	0.54395922	0.97934177	-0.36436768	-0.12866125	3.47E-04
6	0.55711514	0.97945047	-0.37277268	-0.12868981	1.36E-04
7	0.56552014	0.97947904	-0.37819296	-0.12869732	5.52E-05
8	0.57094043	0.97948654	-0.38171163	-0.12869929	2.29E-05
9	0.57445910	0.97948851	-0.38400623	-0.12869981	9.60E-06
10	0.57675369	0.97948903	-0.38550716	-0.12869994	4.08E-06
20	0.58105701	0.97948922	-0.38833214	-0.12869999	9.12E-10
40	0.58112309	0.97948922	-0.38837563	-0.12869999	4.90E-17
60	0.58112310	0.97948922	-0.38837564	-0.12869999	2.64E-24
85	0.58112310	0.97948922	-0.38837564	-0.12869999	0.00E+00



Capítulo 3

El proyecto SPL2



3.1 Introducción

A lo largo del capítulo 2 se ha puesto de manifiesto cómo el formalismo de la ley potencial de segundo grado (PL2), puede contemplarse como una extensión natural del formalismo de primer grado. Tanto desde un punto de vista conceptual como metodológico, la filosofía de la BST se mantiene, pues el formalismo de segundo grado es tan sistemático como pueda serlo el de primero. Sin embargo, es obvio que la consideración de los coeficientes de segundo grado requieren de una adaptación del problema, sobre todo desde un punto de vista computacional.

Una parte importante de esta tesis es el diseño y desarrollo de una aplicación informática que permita la implementación de sistemas basados en la ley potencial de segundo grado. Sin embargo, considerando el acelerado avance de la informática, se cree apropiado aportar aquí *algo* más que un simple método de integración numérica adaptado, en mayor o menor medida, a la estructura formal de los sistemas de segundo grado. Esta aportación viene dada por la incorporación del *diseño orientado al objeto* (DOO). Puede contemplarse este tipo de diseño como un paso más de estructuración respecto a la programación clásica *procedural*.

Desde luego, no puede considerarse que el proyecto este *acabado*, pues hablando de *software*, ningún programa acaba por estarlo. A lo sumo, lo que se puede hacer es fijar un conjunto de objetivos en base a los cuales se declarará al programa operativo. Desde este punto de vista, el objetivo principal aquí, es establecer una estructura (a modo de soporte), que permita la incorporación eficiente de algoritmos encaminados a ampliar la funcionalidad del proyecto.

A continuación, se hace una breve introducción al diseño orientado al objeto que permita establecer la terminología.

3.1.1 El diseño orientado al objeto

Según Pressman (1988), el *diseño orientado al objeto* (DOO) supone una representación del dominio del problema en el mundo real y su transformación en un dominio de solución: *el software*. A diferencia del lenguaje procedural, el DOO da como resultado un diseño que interconexiona los elementos de datos y las operaciones de procesamiento, de manera que se modulariza tanto la información como el procesamiento, en lugar de sólo el procesamiento. De manera formal y en palabras de este autor

“Un *objeto* es una componente del mundo real que se transforma en el dominio del *software*. [...] Cuando un objeto se transforma en una realización *software*, consta de una estructura de datos privada [llamados *propiedades*] y procesos, llamados *operaciones* o *métodos*, que pueden transformar legítimamente la estructura de datos”

Un objeto realiza una operación (a través de sus métodos) sobre sus propiedades cuando recibe un *mensaje* desde otro objeto. Los objetos tienen también una parte compartida que es su interfaz. Los mensajes se mueven a través del interfaz y especifican qué operaciones del objeto se desean, pero no cómo se debe realizar esa operación. Es el objeto que recibe el mensaje el que determina como se implementa la operación solicitada (Pressman, 1988). Por otra parte, los mensajes entre objetos son la consecuencia de la generación de un *suceso* (o *evento*) que habitualmente resulta de una acción concreta del usuario.

La programación orientada a objetos gira en torno a tres conceptos fundamentales:

- la *encapsulación*
- la *herencia*
- el *polimorfismo*

Por *encapsulación* se entiende la imposibilidad de acceder directamente a las propiedades de un determinado objeto. Los datos que son declarados como *propiedades* de un objeto solo son accesibles desde el propio objeto, de manera que los *métodos* del objeto están especializados en la manipulación de los miembros de datos de ese objeto. Esta característica aísla los datos protegiéndolos frente a llamadas ilícitas. La encapsulación es la característica DOO que permite asociar código y datos formando objetos absolutamente autónomos. En su forma más estricta la encapsulación requiere que no se acceda nunca a los campos de un objeto directamente, siempre debe usarse un método.

La herencia permite declarar a un tipo de objeto como *descendiente* de otro. Cuando esto se hace, el tipo descendiente *hereda* todas las propiedades (campos de datos) y métodos de su antecesor, de manera que no han de ser programados de nuevo. Por otra parte, un objeto descendiente puede añadir sus propios campos y métodos a los que hereda de su antecesor. Incluso, un objeto descendiente puede superponer un método propio al que ha heredado. La herencia se traduce en la posibilidad de extender de forma inmediata las capacidades de un objeto mediante una sencilla definición de un descendiente y la adición de lo que se necesite. Para el programador, la herencia se traduce en la reutilización eficiente del código.

Finalmente, el *polimorfismo* supone que una llamada a un determinado objeto sea válida para cualquier descendiente del objeto. De este modo, se puede

llamar a cualquier método de un objeto ancestral y el descendiente apropiado sabrá como responder de manera específica, distinguiéndose de su ancestro. No obstante, el polimorfismo es posible solo si los objetos ancestral y descendiente tienen definidos los métodos a los que se haga alusión. Aquí es importante considerar dos formas de definir un método. Un método es *virtual* si puede ser sobrescrito por un objeto descendiente. La segunda característica es su abstracción. Un método es abstracto cuando se declara pero no se implementa. Esto permite hacer llamadas al método del objeto ancestral, en donde no está determinada la forma de implementación, y que las reciba un objeto descendiente que sí sabe como manipular el mensaje. Por otra parte, la declaración de un método como *abstracto* en un objeto ancestral obliga a que dicho método sea implementado cuando se define un objeto descendiente. Para el programador, el polimorfismo se traduce en la capacidad de manipular objetos distintos de una forma genérica, ahorrando así mucho esfuerzo

La encapsulación, la herencia y el polimorfismo son la base de otros tantos conceptos que dan idea de los beneficios del DOO: la modularidad, la fiabilidad y la reutilización. La modularidad viene dada por el hecho de que los objetos son autocontenidos en extremo. Por ello pueden reutilizarse de manera eficiente, o ser modificados sin tener que cambiar otras partes del programa. Esto se traduce en fiabilidad.

3.2 Implementación de un sistema bioquímico

3.2.1 Introducción

El primer paso en la descripción formal de un sistema bioquímico se concibe en términos de la especificación de su estructura. Los elementos de tipo estructural vienen dados por los del grafo subyacente: las aristas y los nodos.

Los nodos podrán ser representativos de las variables tanto internas como externas del sistema. Por otra parte, las aristas, como representantes formales de los mecanismos de acción enzimática, vendrán caracterizadas por un tipo de función concreta, a partir de la cual se puedan describir los flujos locales. La relación entre nodos y aristas queda definida a través de los elementos de la matriz de incidencia.

Por tanto, se concibe que un sistema estará constituido por tres tipos de elementos: los nodos, las aristas y la matriz de incidencia.

La matriz de incidencia se espera que sea de tipo disperso, es decir, con muchas de sus entradas nulas (una situación similar se espera del tensor constituido por los coeficientes de segundo grado del conjunto de las etapas de velocidad). Esto ha sugerido la implementación de un objeto orientado a la implementación de matrices dispersas.

El objeto ancestral es *Tmatriz*, y se construye sobre un nodo genérico que tiene tres propiedades (figura 3.1.1):

- Sus coordenadas como elemento de la matriz
- Puntero al nodo de la misma fila y de la siguiente columna
- Puntero al nodo de la misma columna y de la siguiente fila
- Su valor

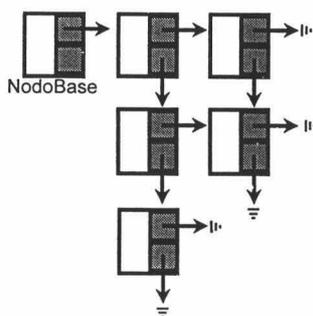


Figura 3.2.1.- Implementación de matrices esparcidas

3.2.2 Implementación de los nodos del sistema: el objeto *tNodo* y sus descendientes

Las características comunes a todos los nodos se implementan en el objeto ancestral *tNodo*, que constituye la clase genérica a partir de la cual se derivan los tipos descendientes *tNodoDep* y *tNodoInd*, representativos de las variables de concentración dependientes e independientes respectivamente. Las propiedades de *tNodo* se indican en la tabla 3.2.1. Además de dos campos identificativos, el nombre del nodo y su índice de acceso, en esta clase se declaran los valores nominal (centro de aproximación), actual (valor en tiempo real) e inicial (condición inicial para la integración numérica). Cada una de estas propiedades va a tener asociados métodos de lectura y escritura en relación con la encapsulación del objeto. En *tNodo* no se definen métodos abstractos, por tanto, sus descendientes solo deben implementar aquellas propiedades y métodos que los caracterizan de forma particular.

Tabla 3.2.1.- Objeto *tNodo*

Propósito: Servir de clase genérica para los nodos del sistema.	
Propiedades:	
<i>Nombre</i>	(Nombre: Alfanumérico). Contiene el nombre que con que se presentará el nodo en los informes
<i>Indice</i>	(indice: Entero). Identificación del nodo en relación con la matriz de incidencia.
x_0	(X_0 : real). Valor nominal del nodo.
$x(t)$	(X_t : real). Valor del nodo en el instante t .
$x(t = t_0)$	(X_{ini} : real). Valor que se utilizará como condición inicial en la integración numérica.
Métodos. Los métodos de <i>tNodo</i> se agrupan en las siguientes categorías:	
0. Métodos de creación y destrucción de la instancia (<i>constructor</i> y <i>destructor</i>)	
1. Métodos de asignación de las propiedades	
2. Métodos de exploración de las propiedades	
3. Métodos de salida por pantalla y escritura de archivos (virtuales)	

Los descendientes del tipo *tNodoDep* representan a las variables de concentración dependientes y, por tanto, tendrán índices comprendidos entre 1 y n . Mediante este tipo derivado, se añade a las de la clase ancestral tres nuevas propiedades. La primera es el *valor basal* x_b , que permite almacenar valor $x(t)$ del nodo cuando el sistema alcanza el estado estacionario. Su asignación se hace de forma interactiva. Las otras dos propiedades son el *influjo actual* F_t , y el *influjo basal* F_b . El influjo se obtiene como la suma de los valores de las aristas que inciden sobre el nodo. En la tabla 3.2.2 se presenta el pseudocódigo que

especifica su cálculo. Cuando se alcanza el estado estacionario se puede asignar el valor F_t a la propiedad F_b . En estas condiciones, F_b tiene una interpretación análoga a la diferencia de potencial en el nodo cuando el sistema es un circuito eléctrico.

Tabla 3.2.2.- Objeto *tNodoDep*

<p>Propósito: Implementación de los nodos que se corresponden con las variables dependientes del sistema.</p> <p>Propiedades:</p> <p>x_b (Xb: real). Valor basal (de estado estacionario perturbable)</p> <p>F_b (Fb: real). Influjo sobre el nodo en el estado estacionario (estado basal).</p> <p>F_t (Ft: real). Influjo sobre el nodo en el instante t.</p> <p>Métodos. Los métodos de <i>tNododep</i> se agrupan en las siguientes categorías:</p> <ol style="list-style-type: none"> 0. Métodos de creación y destrucción de la instancia (<i>constructor</i> y <i>destructor</i>) 1. Métodos de asignación de las propiedades 2. Métodos de exploración de las propiedades 3. Métodos de salida por pantalla y escritura de archivos (virtuales)
--

Tabla 3.2.3.- Asignación del influjo a las instancias del objeto *tNodoDep*

<p><u>Variables de entrada:</u></p> <p>M: es la matriz $N \times R$ de incidencia del sistema</p> <p>X: vector de instancias del tipo <i>tNodoDep</i></p> <p>V: vector de instancias del tipo <i>tArista</i></p> <p><u>Paso 1:</u></p> <p>Para $i:=1 \rightarrow N$ hacer</p> <p style="padding-left: 20px;">$X[i].Ft:=0$</p> <p style="padding-left: 20px;">Para $j:=1 \rightarrow R$ hacer</p> <p style="padding-left: 40px;">Si $M[i,j]>0$ entonces hacer $X[i].Ft:=X[i].Ft+M[i,j]*V[j].Vt$</p> <p style="padding-left: 20px;">Fin</p> <p>Fin</p> <p>Fin del paso 1</p>

Las instancias del tipo *tNodoInd* representan a las variables de concentración independientes del sistema. Esta clase de objetos se caracteriza por tener asociada una función dependiente del tiempo, mediante la cual se puede perturbar el sistema a través del nodo en cuestión. Previamente a la simulación, es posible modificar de forma interactiva la propiedad lógica *perturbable*, de manera que aquellas instancias de este tipo que sean *perturbable = verdadero*, valorarán en cada instante su función $f(t)$ asociada modificando en consecuencia

su valor $x(t)$. En cualquier caso, el sistema solo puede ser perturbado si se encuentra en estado estacionario, de modo que durante la simulación, solo se consulta la perturbabilidad de los nodos si hay definido previamente un *estado basal*, que constituye el estado (estacionario) de referencia.

Tabla 3.2.4.- Objeto *tNodoInd*

<p>Propósito: Implementación de los nodos que se corresponden con las variables independientes del sistema.</p> <p>Propiedades:</p> <p>$f(t)$ (Ft: tFPerturbacion). Tipo de función de perturbación que tiene asignado el nodo.</p> <p><i>Perturbable</i> (Perturbable: lógica). Indicador de si el nodo es susceptible de ser perturbado durante la simulación.</p> <p>Métodos. Los métodos de <i>tNodoInd</i> se agrupan en las siguientes categorías:</p> <ol style="list-style-type: none"> 0. Métodos de creación y destrucción de la instancia (<i>constructor</i> y <i>destructor</i>) 1. Métodos de asignación de las propiedades 2. Métodos de exploración de las propiedades 3. Métodos relacionados con la perturbación del nodo <ul style="list-style-type: none"> Métodos que modifican la propiedad <i>perturbable</i>. Método <i>Perturbar(t, t_{final})</i> 4. Métodos de salida por pantalla y escritura de archivos (virtuales)

Las funciones de perturbación contempladas aquí, se han tomado de las *funciones de referencia* o *de prueba* clásicas en la ingeniería de sistemas de control. En los textos de Richards (1979), Anand (1988) o Dorf (1989), se puede hacer una revisión exhaustiva sobre la definición de tales funciones y la forma en que permiten analizar el comportamiento del sistema. Desde un punto de vista funcional, se pueden agrupar estas funciones en tres clases: 1) funciones rectangulares, que representan un cambio repentino de la variable (función impulso y función escalonada); 2) funciones monótonas de cambio gradual (funciones en rampa y parabólica); y 3) funciones periódicas (ondas de tipo sinusoidal). En el ámbito de la ingeniería, estas funciones se suelen utilizar en forma normalizada. Normalmente, la normalización consiste en restringirlas a que su integral sea unitaria. Sin embargo, aquí no se impone tal restricción, y se ha optado siempre por hacer que el valor de la función sea una variación porcentual del valor inicial asignado al nodo al que está asignada. A continuación se detalla la implementación de cada una de las funciones de perturbación.

- *Función impulso*. Este tipo de función supone un cambio repentino de duración infinitesimal en el valor de la variable en cuestión. Dado que los

procedimientos de integración numérica utilizan ecuaciones en diferencias (véase Burden y Fairs, 1985), es preciso concretar qué es un instante de duración infinitesimal. Aquí se ha adoptado el criterio de asignar el impulso (el valor extremo de la función) al valor del nodo en el instante t_0^+ , esto es, al valor tomado como condición inicial en el proceso de integración numérica, volviendo a tomar la variable su valor original en la entrada de la siguiente iteración. Esta función requiere la especificación de un parámetro p , que representa la magnitud del impulso. El valor de p se interpreta como un tanto por uno que es relativo al valor inicial del nodo (por ejemplo, $p=0.1$ indica que el impulso va a suponer un aumento del 10% sobre valor inicial del nodo). La proporción p no está acotada superiormente y puede ser negativa para representar un déficit instantáneo en el flujo desde el nodo de que se trate. Como es obvio, p debe estar acotado inferiormente por -1 puesto que las concentraciones no pueden ser negativas. Una aplicación de la función impulso es explorar, como una primera aproximación, la estabilidad relativa del estado basal del sistema.

- *Función escalonada.* La función escalonada consiste en un rápido cambio del valor del nodo que se mantiene constante hasta el final de la simulación. El parámetro p requerido por esta función tiene el mismo significado que el de la función impulso; representa la proporción de cambio que sufre el valor actual del nodo respecto a su valor inicial, también puede ser negativo y está acotado inferiormente por -1. La función escalonada es útil para el cálculo de ganancias logarítmicas. Si se perturba el nodo representativo de la variable independiente j -ésima mediante una función escalonada con $p=0.01$, cuando el sistema alcance el nuevo estado estacionario, el logaritmo del cociente entre el valor actual de la variable x_i y su valor basal representa la estimación de la ganancia logarítmica L_{ij} .
- *Funciones rampa y parabólica.* Este tipo de funciones permiten estudiar la forma en que responde el sistema al ser excitado. La función rampa, es una función lineal que representa una variación continua a velocidad constante de la variable independiente. Análogamente, la función parabólica representa una variación continua de la variable independiente pero esta vez con aceleración constante. Las dos funciones requieren la especificación de una proporción p análoga a la de casos anteriores, solo que ahora, la variación porcentual indicada por este parámetro se contempla como el valor *objetivo* a alcanzar durante la simulación. De esta forma, en la iteración final, el valor del nodo al que está asociada la perturbación será $x(t_{final})= x(t_0) \times (1+p)$ (véanse los apartados C y D de la tabla 3.2.5), realizándose la transición desde un punto al otro con una trayectoria lineal o parabólica según sea el tipo de perturbación asignada.

- *Función seno*. Este tipo de función permite perturbar al sistema con cambios periódicos en torno al valor inicial de la variable independiente. Este tipo de perturbación (las funciones periódicas en general) también es válido como perturbación aleatoria del sistema. Los parámetros requeridos son dos: la amplitud de la oscilación y su frecuencia. La amplitud p se especifica en términos de una proporción del valor inicial, de forma análoga a los casos anteriores, solo que ahora p ha de estar acotado entre -1 y 1. La frecuencia f debe ser un valor positivo y es relativa al tiempo total de simulación (véase la tabla 3.2.5 en sus apartados E y F).

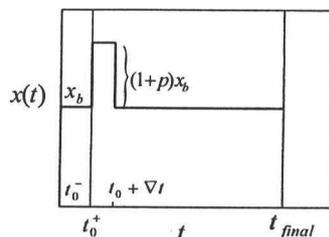
Para concluir este apartado, solo queda indicar que la propiedad $f(t)$ de la clase $tNodoInd$, es una instancia de la clase genérica $tFPerturbacion$, que es un sencillo objeto con un solo método abstracto Fpt . Este método es una función real que recibe como parámetros la amplitud de la perturbación p y, en su caso la frecuencia f , así como el valor del instante t en el que se encuentra la simulación. Del tipo base $tFPerturbacion$ se derivan seis tipos que se corresponden con las seis funciones descritas. Cada tipo descendiente únicamente tiene que preocuparse de sobrescribir el método Fpt ancestral definiendo su propia función de perturbación. De este modo, durante la simulación, aquel nodo que sea *perturbable* ya “sabe” como ha de comportarse, y bastará una llamada al método Fpt de la clase genérica para obtener el valor $x(t)$. Cuando no se asigna una función de perturbación a un nodo, la propiedad $f(t)$ apunta a Nil y $x(t)$ será siempre el valor inicial asignado al nodo.

Tabla 3.2.5 (páginas siguientes) .-

Funciones de perturbación del estado basal del sistema. Para cada función se especifica la sintaxis utilizada para su implementación y la restricción respecto al parámetro o parámetros implicados. Así mismo, se tabula el valor de $x(t)$ en cuatro instantes críticos: el previo a la simulación t_0^- , el de comienzo de simulación t_0^+ , y los correspondientes a las iteraciones primera y última. N indica el número de iteraciones, t_{final} el valor de t alcanzado y ∇t el incremento de tiempo que constituye cada iteración (valor del *paso* en la integración numérica).

(A) Función impulso

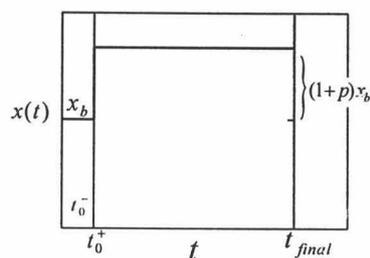
PUL(p); $p > -1$



Iteración	t	$x(t)$
Estado basal	t_0^-	x_b
Iteración 0	t_0^+	$x(t_0) = (1+p)x_b$
Iteración 1	$t = t_0 + \nabla t$	$x(t) = x_b$
Iteración final	$t_{final} = t_0 + N\nabla t$	$x(t_{final}) = x_b$

(B) Función escalonada

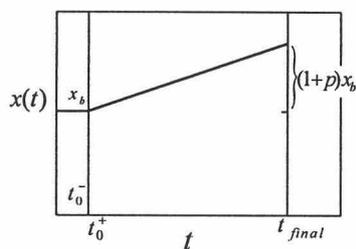
ESC(p); $p > -1$



Iteración	t	$x(t)$
Estado basal	t_0^-	x_b
Iteración 0	t_0^+	$x(t_0) = (1+p)x_b$
Iteración 1	$t = t_0 + \nabla t$	$x(t) = (1+p)x_b$
Iteración final	$t_{final} = t_0 + N\nabla t$	$x(t_{final}) = (1+p)x_b$

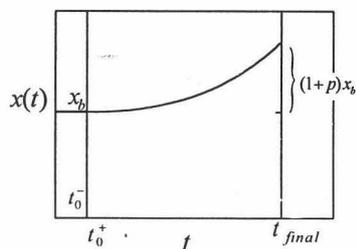
Tabla 3.2.5 (continuación)

(C) Función rampa
RAM(p); $p > -1$



Iteración	t	$x(t)$
Estado basal	t_0^-	x_b
Iteración 0	t_0^+	$x(t_0) = x_b$
Iteración 1	$t = t_0 + \nabla t$	$x(t) = x_b (1 + p t / t_{final})$
Iteración final	$t_{final} = t_0 + N\nabla t$	$x(t_{final}) = x_b (1 + p)$

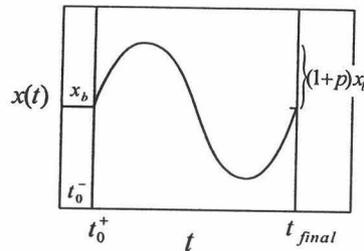
(D) Función parabólica
PAR(p); $p > -1$



Iteración	t	$x(t)$
Estado basal	t_0^-	x_b
Iteración 0	t_0^+	$x(t_0) = x_b$
Iteración 1	$t = t_0 + \nabla t$	$x(t) = x_b (1 + p t^2 / t_{final}^2)$
Iteración final	$t_{final} = t_0 + N\nabla t$	$x(t_{final}) = x_b (1 + p)$

Tabla 3.2.5. (continuación)

(E) Función seno
 $SEN(p, f); 0 < p < 1; f > 1$



Iteración	t	$x(t)$
Estado basal	t_0^-	x_b
Iteración 0	t_0^+	$x(t_0) = x_b$
Iteración 1	$t = t_0 + \nabla t$	$x(t) = x_b (1 + p \text{Sen}(f 2\pi t / t_{final}))$
Iteración final	$t_{final} = t_0 + N\nabla t$	$x(t_{final}) = x_b$

3.2.3 Implementación de las leyes de velocidad: los objetos *tArista* y *tVPL2*

La especificación de las leyes de velocidad se hace a partir de la definición del objeto ancestral *tArista*. Este tipo base permite implementar aquellos métodos que serán comunes e invariantes en todas las clases descendientes. Al mismo tiempo, *tArista* constituye un “molde” donde se definen aquellas propiedades y métodos que deberá contener como mínimo, la declaración de un nuevo tipo de arista. Estas propiedades y métodos se resumen a continuación en la tabla 3.2.6.

Los métodos correspondientes a las categorías 1 y 2 se implementan en el ancestro *tArista*. Se trata del conjunto de métodos que realizan la lectura y escritura directa de sus propiedades, confiriendo así la encapsulación del objeto.

Los métodos correspondientes a las dos últimas categorías, son métodos abstractos, y por tanto, se declaran en *tArista* pero no se implementan, de manera que serán los descendientes quienes deban hacerlo, dando así lugar al polimorfismo. De esta forma, se pueden definir diferentes tipos de leyes de

velocidad y acceder a sus propiedades principales de forma genérica, siendo siempre válido el código que alude a las aristas a través de *tArista*.

Tabla 3.2.6.- Objeto *tArista*

<p>Propósito: Servir de clase genérica para las aristas del sistema.</p> <p>Propiedades:</p> <p><i>Nombre</i>.....(etapa: efanumérico). Contiene el nombre que servirá como identificativo de la etapa en los informes.</p> <p><i>Indice</i>(indice: entero). Identificación de la etapa en relación con la matriz de incidencia.</p> <p><i>Valor basal</i>.....(Vb: real). Contiene el valor de la arista cuando el sistema se declara en estado estacionario.</p> <p><i>Valor actual</i>(Vt: real). Contiene el valor de la arista en el instante <i>t</i>.</p> <p>Métodos. Los métodos de <i>tArista</i> se agrupan en las siguientes categorías:</p> <ol style="list-style-type: none">0. Métodos de creación y destrucción de la instancia (<i>constructor</i> y <i>destructor</i>)1. Métodos de asignación de las propiedades2. Métodos de exploración de las propiedades3. Métodos implicados en el cálculo. (virtuales abstractos) Método <i>Obtener_w(l(t))</i> Método <i>Obtener_OCA(x_i(t))</i>4. Métodos de salida por pantalla y escritura de archivos (virtuales abstractos)

En consecuencia, se define el tipo descendiente *tVPL2*, que implementa las leyes de velocidad que están expresadas según la formulación PL2 que ha sido desarrollada en capítulos anteriores. A efectos de este trabajo no se han definido otros tipos descendientes, pero para dar una idea de la potencia que suministra la programación orientada a objetos y la definición de clases ancestrales mas o menos abstractas, supóngase que se quiere conseguir que el programa también contemple leyes de velocidad racionales, por ejemplo de tipo michaeliano. Bastaría entonces con definir una clase descendiente de *tArista* que podríamos llamar, por ejemplo, *tVMichaelis*. Por el hecho de ser descendientes de *tArista*, tanto *tVPL2* como *tVMichaelis* cuentan ya con las propiedades y métodos definidos allí, así que sin necesidad de escribir código adicional, van a tener un nombre, un índice, etc. Así mismo, los dos tipos se verán obligados a implementar los métodos declarados como abstractos en la clase ancestral, por ejemplo *Obtener_w(l(t))* y *Obtener_OCA(x_i(t))*. Cada uno lo hará a su manera, de acuerdo a la formulación a la que representan, pero cuando se simule el sistema, bastará una llamada genérica a *Obtener_w(l(t))* para obtener el valor de la arista en el instante *t*, sin importar el tipo concreto al que esta asignada la

variable que la define. Conseguir este resultado mediante un lenguaje procedural, no orientado a objetos, supone un esfuerzo considerable, si bien los resultados nunca van a tener la potencia (ni la elegancia) que los conseguidos mediante la programación orientada a objetos. Por otra parte, téngase en cuenta las posibilidades que tendría una librería de objetos descendientes de *tArista*.

Como se ya se ha indicado, el tipo *tVPL2* es el único descendiente implementado para *tArista*. La formulación de primer grado PL1, no requiere de una clase adicional, ya que es un caso particular de la PL2 que aparece cuando los coeficientes de segundo grado son todos nulos. A continuación se describe el objeto *tVPL2*.

Tabla 3.2.7.- Objeto *tVPL2*

Propósito: Implementar las leyes de velocidad basadas en la formulación PL2.	
Propiedades:	
w_0	(G0: real). Es el término independiente del polinomio de segundo grado que en coordenadas logarítmicas especifica el modelo PL2.
<i>Vector g</i>	(G1: <i>tVector</i>). Es el vector de órdenes cinéticos aparentes (coeficientes de los términos de primer grado; ie. Jacobiana en el modelo PL2).
<i>Matriz G</i>	(G2: <i>tSMatriz</i>). Es la matriz simétrica de coeficientes de segundo grado (Hessiana en el modelo PL2).
Métodos. Los métodos de <i>tVPL2</i> se agrupan en las siguientes categorías:	
0. Métodos de creación y destrucción de la instancia (<i>constructor</i> y <i>destructor</i>)	
1. Métodos implicados en el cálculo.	
	Método: <i>Obtener_w(l(t))</i> (sobrescribe al método ancestral)
	Método: <i>Obtener_OCA(x_i(t))</i> (sobrescribe al método ancestral)
2. Métodos de salida por pantalla y escritura de archivos (sobrescriben a los métodos ancestrales)	

La creación de una instancia al objeto *tVPL2* se hace mediante un constructor al que se asignan cinco parámetros. Los dos primeros son el nombre y el índice identificativo de la etapa y se utilizan en la llamada al constructor ancestral *tArista*. Los tres parámetros restantes son los datos que se asignan a las propiedades específicas de *tVPL2*, es decir, el valor real w_0 y las instancias a objetos de tipo *tVector* y *tSMatriz* que suponen la asignación de valores a *g* y a *G* respectivamente. De este modo, la creación de una instancia de tipo *tVPL2* se hace de acuerdo con la siguiente sintaxis:

V:=tVPL2.Crear(nombre:string; índice: integer;
w₀: real; g₁: tVector; G₂: tSMatriz);

Para definir una etapa de tipo PL1, basta con asignar a G₂ el valor “nil”¹, de manera que en la construcción de V no se creará la instancia a la matriz de coeficientes de segundo grado asumiéndose en adelante que sus valores son nulos. Lo mismo puede hacerse con el vector de coeficientes de primer grado; estableciendo g:=nil no se crea la instancia al vector y se asumirá que es idénticamente nulo.

Tabla 3.2.8.- Método *tVPL2.Obtener_w(l(t))*.

<p><u>Entrada:</u> vector L con valores $l_i = \ln(x_i(t) / x_0)$ y dimensión (N+M)</p> <p><u>Salida:</u> $w(l(t))$ valor logarítmico que toma la arista dado en función del estado actual del sistema.</p> <p><u>Variables auxiliares:</u> R, F, C, Q, X: reales i, j, k: enteros</p> <p><u>Paso 1:</u> R:= w₀</p> <p><u>Paso 2:</u> Si G₁≠Nil hacer Para j:=1 → (N+M) hacer R:=R+G₁[j]*L[j] Fin Fin del paso 2</p> <p><u>Paso 3:</u> F:=0 Si G₂≠Nil hacer Para i:=1→(N+M) hacer C:=0 Para k:=1 → (N+M) hacer Q:=G₂[i,k] X:=L[k] C:=C+Q*X Fin F:=F+C*L[i] Fin Fin del paso 3</p> <p><u>Resultado:</u> $w(l(t)) := R+F$</p>

La valoración de una arista en un instante t , a partir de los valores de los nodos del sistema, se hace a través de la llamada al método *Obtener_w(l(t))*. Se trata de una función que recibe como parámetro al vector $l(t)$, que actúa como *buffer* para los valores de los nodos durante la integración numérica. Cuando se ha completado la simulación, el valor actual de esta función queda almacenado en la

¹ Se trata de un valor predefinido por los compiladores de tipo Pascal y que se puede interpretar como “objeto nulo”.

propiedad *Valor actual* del tipo ancestral. Si además se ha alcanzado el estado estacionario, este valor también puede ser asignado a la propiedad *Valor basal* de forma interactiva. A continuación se presenta el pseudocódigo de este método.

El segundo método de interés es *Obtener_OCA(x_i(t))*. La forma de valorar el orden cinético aparente en un instante dado es la descrita, en el capítulo 2, y en pseudocódigo se presenta a continuación.

Método 3.2.9. *tVPL2.Obtener_OCA(x_i(t))*

Entrada: X: Vector de nodos (tNodo),
i: índice del nodo del que se va a obtener el OCA

Salida: Valoración del OCA de la variable X[i]

Variables auxiliares: R: real
k: entero

Paso 1:
R:=0;
Si G₁≠Nil hacer R:=G₁[i]
Fin del paso 1

Paso 2:
Si G₂ ≠ Nil hacer
Para k:=1 → (N+M) hacer
R:=R+2*G₂ [i,k]*Ln(X[k].Actual/X[k].Nominal)
Fin
Fin del paso 2

Resultado: OCA(x_i(t)):=R

3.3.4 Ensamblaje de componentes: el objeto *tSPL2*.

El objeto *tSPL2* constituye el ensamblaje de los tres componentes básicos del sistema: los nodos, las aristas y la matriz de incidencia

Las dimensiones de los tres componentes se concretan en la propiedad *dim*, que es un registro constituido por tres campos de tipo entero: *n*, *m* y *r*, que se corresponden, respectivamente, con el número de variables de concentración dependientes, el número de variables de concentración independientes y el número de etapas de velocidad.

La matriz de incidencia es una instancia del tipo *tMatriz*, que se crea en tiempo real. El conjunto de nodos y de aristas se implementa como instancias de los tipos *tVectorNodos* y *tVectorAristas*

Tabla 3.2.14.- Objeto *tSPL2*

<p>Propósito: Representar sistemas dinámicos basados en modelos <i>PL2</i></p> <p>Propiedades:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Descriptivas <ul style="list-style-type: none"> <i>Nombre</i>..... (Nombre: Alfanumérico). Contiene el nombre que con que se presentará el sistema en los informes <i>Descripción</i>..... (Descripcion: Alfanumérico). Permite asignar un comentario descriptivo al sistema. 2. Estructurales <ul style="list-style-type: none"> <i>Dim</i>..... (Dim: rDimensiones). Registro de dimensiones del sistema <i>M_{inc}</i>..... (Minc: tMatriz). Matriz de incidencia. <i>X</i>..... (X: TvectorNodos). Vector de objetos <i>tNodo</i>. <i>V</i>..... (V: tVectorAristas). Vector de objetos <i>tArista</i>. 3. Registros de configuración y de estado <ul style="list-style-type: none"> <i>Estado</i>..... (Estado: rEstado). Registro de valores de estado del sistema. <i>Integración</i>..... (Integracion: rIntegracion). Registro de parámetros que configuran la simulación. <i>Salida</i>..... (Salida: rSalida). Registro de parámetros que configuran la salida de resultados. 4. <i>Buffers</i> de cálculo <ul style="list-style-type: none"> <i>L</i>..... (Lvec: tVector). <i>Buffer</i> de variables $l_i(t) = \ln(x_i(t)/x_{i0})$. <i>W</i>..... (Wvec: tVector). <i>Buffer</i> de velocidades $w_i(l_i(t))$. <i>D</i>..... (Dvec: tVector). <i>Buffer</i> de derivadas $\dot{x}_i(t)$. <i>G</i>..... (Gmat: tMatriz). <i>Buffer</i> de órdenes cinéticos aparentes. <p>Métodos:</p> <ol style="list-style-type: none"> 0. Métodos de creación y destrucción de la instancia (<i>constructor</i> y <i>destructor</i>) 1. Métodos de lectura de parámetros (definición del sistema) 2. Métodos de gestión de las propiedades estructurales <i>X</i> y <i>V</i> 3. Métodos de cálculo 4. Métodos de gestión de los <i>buffers</i> (creación, inicialización y destrucción) 5. Métodos de comunicación con la <i>interface</i> del programa 6. Métodos de generación de resultados e informes
--

Estas clases se definen sencillamente como vectores cuyos elementos son objetos de los tipos genéricos *tNodo* y *tArista* respectivamente. Su declaración en Pascal es como sigue:

```
tVectorNodos = Array[1..LimX] of tNodo;
tVectorAristas = Array[1..LimV] of tArista;
```

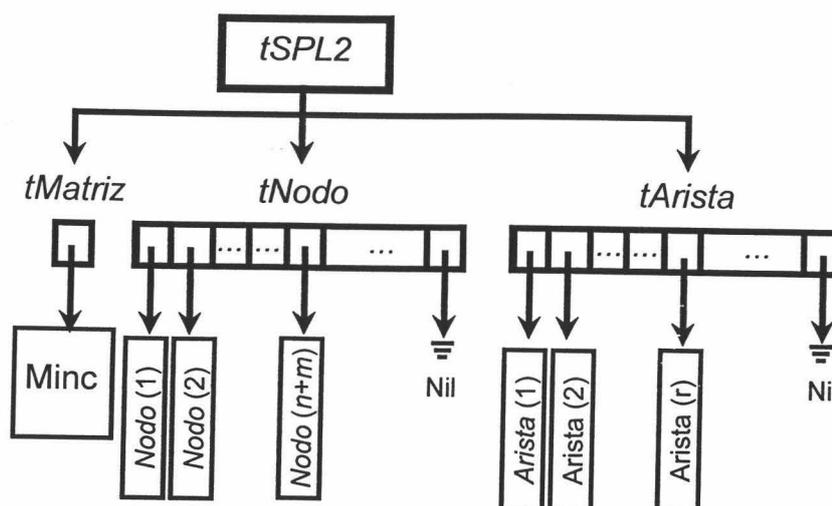


Figura 3.2.2.- Representación esquemática del objeto SPL2

en donde *LimX* y *LimV* son constantes que limitan la capacidad de cada vector. En lugar de estructuras de tipo array, se podría haber optado por utilizar listas enlazadas. Esta estructura de datos permite definir en tiempo real el número exacto de elementos que se van a insertar, sin imponer la limitación constantes predefinidas en tiempo de compilación. Sin embargo, se ha considerado mas eficiente la definición de matrices estáticas, ya que cada elemento de la matriz *tVectorNodos* realmente es un *puntero* a una dirección de memoria y no un objeto *tNodo* como tal. Solamente cuando se crea una instancia de tipo *tNodo* y se asigna a un elemento *X[i]* del vector, es cuando se hace una ocupación real de la memoria. Así pues, establecer por ejemplo *LimX=1000*, supone un consumo despreciable de memoria y en contrapartida permite un acceso a los nodos mucho mas rápido que si se hubiera utilizado una lista dinámica. Lo mismo se puede decir del caso de *tVectorAristas*. De manera que el resultado final es una integración numérica mucho mas eficiente a costa de haber derrochado tan solo unos pocos bytes de memoria (4 bytes por elemento).

La declaración de *tVectorNodos* como instancias de la clase genérica *tNodo*, permite aludir a cualquier nodo como *X[i]*, con independencia de que éste represente a una variable de tipo dependiente o independiente. Lo mismo ocurre con las aristas. Una alusión a la variable *V[i]*, permite el tratamiento de la arista con independencia de su tipo (aunque aquí solo se ha definido un tipo descendiente: *tVPL2*). De este modo, la posible definición en un futuro de nuevos tipos de nodos o de aristas, no supondrá tener que definir o modificar la forma en que se incorporan en la estructura del sistema. Bastará con hacerlos descendientes de las clases *tNodo* y *tArista* respectivamente, para que estos nuevos tipos sean manejables de manera automática, por las instancias de *tSPL2*.

SPL2
 Archivo Editor Sistema Resultados Ver ?

CS_01A.SBO
 CS_PFK - F6P conexa

[XDep]
 X(1)=F6P
 X0(1)=(1,1.35)
 X(2)=FBP
 X0(2)=(0.75)

[XInd]

Resultados

Salida DSI

- Código sistema
- C. Iniciales
- Estado
- X
- V
- OCA

Puntos de salida

- Paso: 5
- Nº de puntos

Valoración de órdenes cinéticos

- Solo actual
- En todos los puntos

Parámetros de simulación

Método: RK4

Tiempo

- Tiempo total: 100
- Nº de iteraciones: 1000
- Longitud de paso: 0.1

Criterio

Criterio de paro: Estado estacionario

Tol. estado estacionario: 0.00000001

Análisis

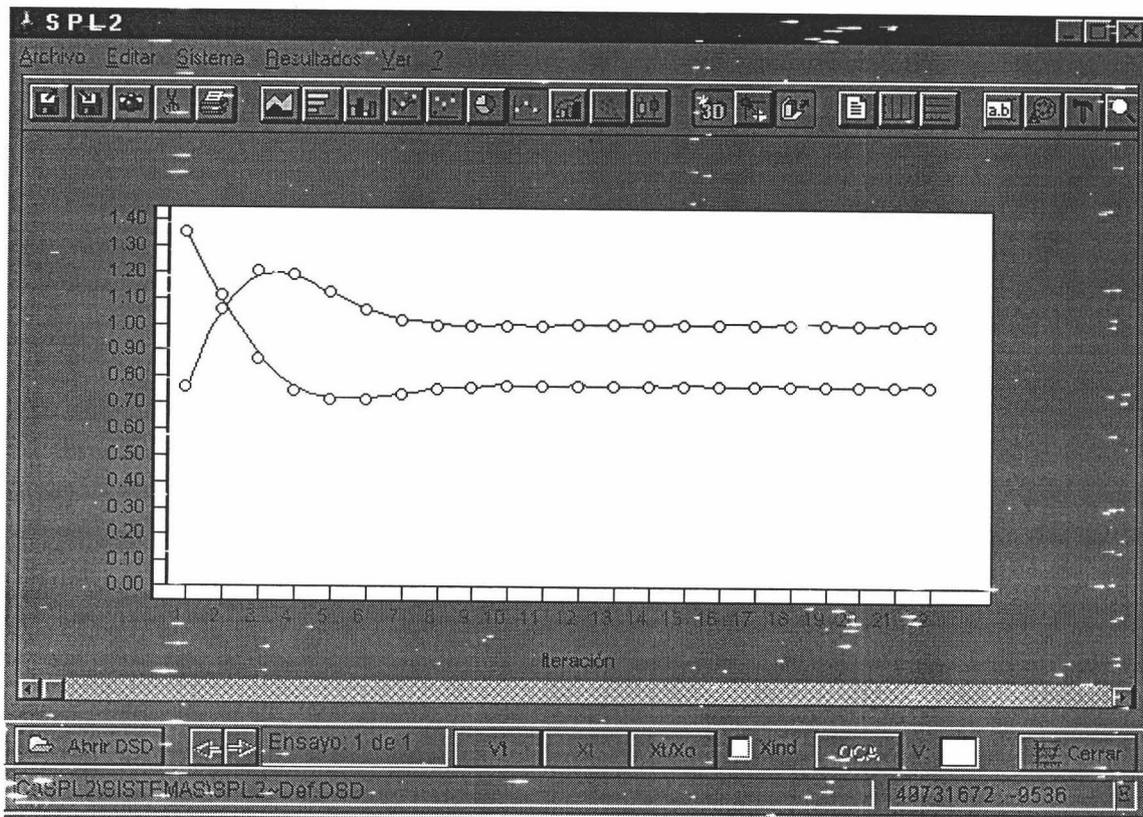
Tipo de análisis: TCI

Variables a perturbar:

Estado

	TCI base	Actual (0)
Estado estacionario	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
d X/dt	0.0000000101	0.0000000101
Puntos calculados	192	192
Tiempo alcanzado	19.20000000006	19.20000000006
Tiempo de cómputo	0:00:00:600	0:00:00:600

48724752 - 2816



3.3 El interfaz SPL2

3.3.1 Inicio del programa. Gestión de archivos.

La llamada al programa supone la lectura del archivo de iniciación (SPL2.INI), en donde se declaran valores por defecto (tabla 3.3.1). Si este archivo no se encuentra, el programa creará uno por defecto en el directorio donde se encuentre instalado. La declaración de las constantes iniciales se hace del mismo modo que la de los archivos SBQ, cada conjunto de parámetros se agrupa en un párrafo nombrado entre los caracteres “[]”.

Tabla 3.3.1.- Archivo SPL2.INI asumido por defecto.

<p>[Directorios] SPL2=c:\spl2 Sistemas=c:\spl2\sistemas Resultados=c:\spl2\sistemas Temporal= c:\spl2\tmp</p> <p>[Constantes] Cero=1E-30 Infinito=1E30</p> <p>[Extensiones] Sistema=SBQ Simulacion=DSD Temporal=TMP</p>	<p>[Integracion] Metodo=Rk4 Iteraciones = 1000 Paro=ESTADO ESTACIONARIO Paso = 0.01 Tolerancia = 1E-8</p> <p>[Resultados] Variables=xivt X = * V = * Dir = c:\spl2\tmp Paso =10 Formato =12.5 Delimitador=,</p>
--	---

Un vez abierto el programa las operaciones posibles son:

- Crear archivo mensaje: NuevoSBQ.
- Abrir archivo de código: mensaje AbrirSBQ.
- Abrir archivo de datos (permite su representación gráfica): mensaje AbrirDSD.

El mensaje NuevoDSD requiere la indicación del nombre del archivo que se va a crear y abre un editor de texto en el que aparece una plantilla (archivo SPL2_00.SBQ), que sirve de guía para la escritura del sistema. Una vez especificado, se debe generar el suceso Interpretar, que crea una instancia al objeto tSPL2 a partir del código generado. El proceso de interpretación implica un análisis de errores, de manera que sólo si el sistema es *coherente* se mantiene la instancia a tSPL2.

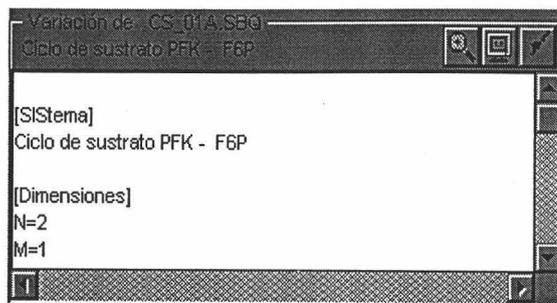


Figura 3.3.1.- El panel de edición indica el nombre del archivo, si ha sufrido modificaciones y si ha sido interpretado por el sistema. Los botones de la parte superior izquierda son, de izquierda a derecha, zoom (con tres niveles de zoom), conmutador de pantalla completa para la ventana de edición y botón interpretar, cuya pulsación genera el evento Interpretar.

3.3.2. Simulación de un sistema.

Una vez creada la instancia al objeto tSPL2 se habilitan los paneles y controles relacionados con la simulación. Hay dos de estos paneles:

- el panel de configuración de los parámetros de simulación (figura 3.3.2)
- el panel de declaración del tipo de análisis (figura 3.3.3)

Los valores que toman los campos del panel del panel de configuración de la simulación son los leídos en el archivo de configuración SPL2.INI, salvo que en el archivo SBQ interpretado se especifique el párrafo [Integracion], en cuyo caso los valores asumidos por el panel serán los allí indicados. Los campos de este panel son:

- Método numérico de integración
- Condiciones iniciales de tiempo y paso del método
- Criterio de paro.

El método numérico que implementa la versión actual es el de Runge-Kutta-Fehlberg (una de las facetas a completar es la implementación del método de Taylor en la forma descrita en el capítulo 2).

Los campos del subpanel Tiempo se han implementado de manera que se pueda seleccionar qué dos entradas se desean especificar de forma que la tercera (aquella que aparezca marcada) se calcula en función de las otras dos según la relación:

$$(\text{Tiempo total}) = (\text{n}^\circ \text{ máximo de Iteraciones}) \times (\text{longitud de paso})$$

En el subpanel Criterio se puede seleccionar dos criterios de paro posibles: 1) que el sistema alcance un estado estacionario, o 2) que se complete el número de iteraciones especificadas en el panel. La detección de que el sistema haya alcanzado un estado estacionario se hace en base a que la norma euclídea del vector de derivadas sea menor o igual a la tolerancia ε especificada en el panel: $\|\dot{\mathbf{x}}\|_2 \leq \varepsilon$. Si no se alcanza el estado estacionario cuando se complete el número de iteraciones indicado, se detiene la simulación.

Parámetros de simulación

Método: RK4

Tiempo

- Tiempo total: 50
- Nº de iteraciones: 1000
- Longitud de paso: 0.05

Criterio

Criterio de paro: Estado estacionario

Tol. estado estacionario: 0.00000001

Figura 3.3.2.- Panel de condiciones de simulación

En caso de que el sistema alcance el estado estacionario, siempre se tiene la posibilidad de declarar dicho estado como *estado estacionario basal*, que es el estado de referencia sobre el cual puede ser perturbado el sistema. En cualquier caso, una indicación de la simulación realizada aparece siempre en el panel de Estado, en donde se indica si el estado actual cumple con la condición de estado estacionario, la norma euclídea del vector de derivadas, la indicación del número de iteraciones realizadas y, finalmente, el tiempo (real) de cómputo.

Estado

	Tol basal	Actual (2)
Estado estacionario	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
$\ \dot{\mathbf{x}}\ _2$	0.0000000128	0.0000000128
Puntos calculados	402	402
Tiempo alcanzado	20.0999999997	20.0999999997
Tiempo de cómputo	0:00:00:990	0:00:00:930

Figura 3.3.3.- Panel de estado del sistema. A la izquierda se indican las condiciones en que se ha obtenido el estado asumido como basal y a la derecha el actual.

Los tipos de análisis son los siguientes:

- **TCI:** total a partir de las condiciones iniciales
- **TSS:** total a partir del estado estacionario basal
- **FCI:** forzada a partir de las condiciones iniciales
- **LCI:** libre a partir de las condiciones iniciales
- **LSS:** libre a partir del estado estacionario basal

La *respuesta forzada* es aquella en la que se perturba al sistema cuando su estado actual se encuentra en el origen. Por tanto, los valores iniciales son

$$\begin{cases} \mathbf{x}_{\text{ind}}(t_0) = \mathbf{x}_{\text{ind}}^{t_0} \\ \mathbf{x}_{\text{dep}}(t_0) = \mathbf{0} \end{cases}$$

en donde $\mathbf{x}_{\text{ind}}^{t_0}$ indica el valor inicial asignado al vector de variables independientes en el código SBQ. Por el contrario, la *respuesta libre* es aquella en la que las variables independientes se mantienen en el origen y se deja que el sistema se *relaje* a partir de su estado actual (en principio) no nulo

$$\begin{cases} \mathbf{x}_{\text{ind}}(t_0) = \mathbf{0} \\ \mathbf{x}_{\text{dep}}(t_0) = \mathbf{x}_{\text{dep}}^{t_0} \end{cases}$$

Este valor ($\mathbf{x}_{\text{dep}}^{t_0}$) puede ser el declarado como condición inicial, en cuyo caso la respuesta se indica como LCI (libre a partir de las condiciones iniciales), o bien a partir del estado estacionario basal, indicándose entonces como LSS.

Finalmente, cuando a ninguno de los dos tipos de variables se asignan valores nulos por definición, se tiene la respuesta total

$$\begin{cases} \mathbf{x}_{\text{ind}}(t_0) = \mathbf{x}_{\text{ind}}^{t_0} \\ \mathbf{x}_{\text{dep}}(t_0) = \mathbf{x}_{\text{dep}}^{t_0} \end{cases}$$

Para este tipo de respuesta, los valores iniciales de las variables dependientes podrán ser los indicados en el código SBQ, hablando entonces de respuesta total a partir de las condiciones iniciales (TCI), o bien se puede partir del estado estacionario basal, hablando en ese caso de respuesta total a partir del estado estacionario (TSS). Obviamente, los valores iniciales de las variables independientes serán siempre los declarados en la codificación del sistema.

Las simulaciones de tipo LCI, LSS y FCI, que permiten estudiar la respuesta transitoria del sistema, deben realizarse a tiempo completo, es decir, el criterio de paro no puede ser la consecución de un estado estacionario.

El análisis de estado estacionario propiamente dicho se realiza con la alternativa TSS. Sin embargo, para que sea posible su selección, el sistema debe encontrarse en un estado (estacionario) basal, o de referencia, que solo se puede alcanzar mediante una simulación inicial de tipo TCI. Asumido este estado de referencia, la simulación TSS permite la variación de las variables independientes según *funciones de perturbación* dependientes del tiempo. Estas funciones pueden ser

- *Función impulso*. Este tipo de función supone un cambio repentino de duración infinitesimal en el valor de la variable en cuestión.
- *Función escalonada*. La función escalonada consiste en un rápido cambio del valor del nodo que se mantiene constante hasta el final de la simulación.
- *Funciones rampa y parabólica*. Este tipo de funciones permiten estudiar la forma en que responde el sistema al ser excitado.
- *Funciones seno*. Este tipo de función permite perturbar al sistema con cambios periódicos en torno al valor inicial de la variable independiente. Las funciones periódicas también permiten estudiar la respuesta del sistema frente a perturbaciones aleatorias (cf. Richards, 1979).

La exposición detallada sobre el interés y la forma de implementación de estas funciones se hace en el apartado . La selección de cuales son las variables a perturbar se hace en el panel de análisis. Es suficiente con introducir los números de variable que se desean perturbar y el sistema reconoce si esas variables tienen definidas o no una función de perturbación.

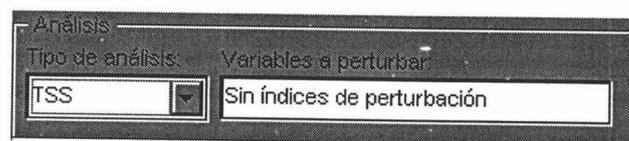


Figura 3.3.4.- Panel de selección del tipo de análisis

La simulación comienza cuando el sistema ha sido interpretado sin errores y se genera el evento Integrar (para ello basta pulsar el botón así llamado de la barra de herramientas; figura 3.3.5). Siempre que se alcance un estado estacionario, es posible establecerlo como estado estacionario basal. Si no se había declarado uno

previamente, el sistema preguntará si lo hace cuando el proceso de simulación concluya con un estado de esta naturaleza. En cualquier caso, siempre es posible declarar un estado estacionario como basal mediante el evento Establecer_EB (hay un botón a tal efecto en la barra de herramientas). La opción inversa también es posible. Se puede eliminar el estado de referencia que se tenga en un momento dado generando el evento Eliminar_EB.



Figura 3.3.5.- La barra de herramientas

3.3.3. Resultados

Los experimentos de simulación se pueden ir almacenando en un sistema de archivos de datos de simulación. Para ello, es preciso declarar el inicio de un ensayo generando el evento Crear_Ensayo, que puede hacerse mediante el correspondiente botón de la barra de herramientas. El sistema de archivos de simulación comprende a dos tipos de archivos, nombrados como DSD (datos de simulación: dinámica) y DSI (datos de simulación: informe).

Los archivos DSD constituyen una base de datos de los resultados obtenidos en las iteraciones del proceso de integración numérica. La estructura de un archivo DSD se esquematiza en la tabla 3.3.2. Por cada ensayo se tiene una cabecera que indica las particularidades del mismo. Tras a cabecera, aparecerán registros relativos a cada instante de la simulación. Cada registro es relativo a un instante t y contendrá los valores de los nodos del sistema, los flujos asociados a cada arista y , optativamente (si se indica valoración del OCA en todos los puntos en el panel de configuración), el valor de los órdenes cinéticos aparentes relativos a cada nodo respecto a cada una de las aristas para cada instante. En el archivo DSD no tiene por que almacenarse la información de todas y cada una de las iteraciones. En el panel de configuración de resultados se puede indicar el *paso de salida*, es decir, cada cuantas iteraciones se escriben los resultados en el archivo.

Los archivos de informe (DSI) contendrán la información, en formato texto, que se indique en el subpanel a tal efecto del panel de configuración de resultados (figura 3.3.6)

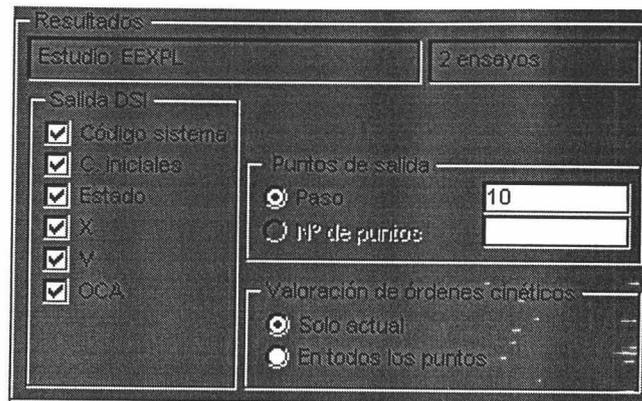


Figura 3.3.6.- Configuración para la generación de informes sobre la simulación.

Los resultados generados en la última simulación realizada, se pueden ver al activar los controles asociados a los eventos `Ver_nodos`, `Ver_aristas` y `Ver_ocas` (barra de herramientas y menú Sistema). Así mismo, es posible hacer un seguimiento del proceso de simulación activando la opción `Mostrar por pantalla` del menú Resultados (que es un conmutador). Téngase en cuenta que la activación de la salida por pantalla en tiempo real ralentiza el proceso de integración. El paso de salida por pantalla es el mismo que el paso de escritura en el DSD.

Si se no se ha declarado la creación de un archivo de ensayos, los resultados se mandan al archivo por defecto `SPL2~DEF.DSD`, cuya información se reemplaza al realizar una nueva simulación.

La opción gráfica está disponible siempre, aunque no se haya realizado simulación alguna, en cuyo caso lo que se permite es recuperar un archivo DSD generado con anterioridad. Por defecto, la generación del evento `Ver_Grafico` muestra una representación de la simulación correspondiente al DSD activo, ya sea este un archivo declarado o el asumido por defecto. Si el archivo DSD contiene mas de un ensayo, es posible paginar la salida gráfica mediante la barra de herramientas que aparecerá en la parte inferior de la pantalla (figura 3.3.8). En dicha barra aparecen también los controles que generan los eventos que controlan cual es la variable a representar: las aristas (control `Vt`), los nodos (control `Xt`) o los nodos estandarizados con su valor nominal (control `Xt/Xo`). La selección del recuadro `Xind` activa o desactiva la representación relativa a las variables independientes (la opción `OCA` no está disponible en la versión actual).

El sistema de representación está basado en las librerías VBA de Borland-Delphi. Haciendo doble click con el botón derecho del ratón dentro del área de representación gráfica, aparece (o desaparece) la barra de herramientas asociada a esta librería. Las opciones disponibles entonces son muy variadas. Se puede archivar el gráfico (archivos con extensión `CHF`), recuperar un archivo anterior,

Tabla 3.3.2.- Estructura de registros de los archivos DSD

C	Cabecera gral	C-1 Nº de estudios	C-2 Dim N	C-3 Dim M	C-4 -	C-5 Dim R
---	---------------	-----------------------	--------------	--------------	----------	--------------

ESTUDIO 01: E01		CE01-1 Codigo del análisis		CE01-2 Dirección de EOF()		CE01-3 Formato de X (tipos)		CE01-4 Nº de registros (iteraciones)						
CE01	Cabecera estudio													
XoE01	Valores Den(X) para descodificar	XoE01(1) X _{1,o}	...	XoE01(N) X _{N,o}	XoE01(N+1) X _{N+1,o}	...	XoE01(N+M) X _{N+M,o}							
DE01	Datos	DE01(1) t ₁	DE01(2) X _{1(t₁)}	...	DE01(N+1) X _{N(t₁)}	DE01(N+2) X _{N+1(t₁)}	...	DE01(N+M+1) g _{11, (t₁)}	DE01(N+M+2) g _{12, (t₁)}	...	DE01(N+M+R+1) g _{R,N+M, (t₁)}	DE01(N+M+R+2) V _{1(t₁)}	...	DE01 (N+M+2R+1) V _{R(t₁)}
		t ₂	X _{1(t₂)}	...	X _{N(t₂)}	X _{N+1(t₂)}	...	g _{11, (t₂)}	g _{12, (t₂)}	...	g _{R,N+M, (t₂)}	V _{1(t₂)}	...	V _{R(t₂)}
	
		t _r	X _{1(t_r)}	...	X _{N(t_r)}	X _{N+1(t_r)}	...	g _{11, (t_r)}	g _{12, (t_r)}	...	g _{R,N+M, (t_r)}	V _{1(t_r)}	...	V _{R(t_r)}

ESTUDIO 01: E01		CE02-1 Código del análisis		CE02-2 Dirección de EOF()		CE02-3 Formato de X (tipos)		CE02-4 Nº de registros (iteraciones)						
CE02	Cabecera estudio													
XoE02	Valores Den(X) para descodificar	XoE02(1) X _{1,o}	...	XoE02(N) X _{N,o}	XoE02(N+1) X _{N+1,o}	...	XoE02(N+M) X _{N+M,o}							
DE02	Datos	DE02(1) t ₁	DE02(2) X _{1(t₁)}	...	DE02(N+1) X _{N(t₁)}	DE02(N+2) X _{N+1(t₁)}	...	DE02(N+M+1) X _{N+M(t₁)}	DE02(N+M+2) g _{12, (t₁)}	...	DE02(N+M+R+1) g _{r,n+m, (t₁)}	DE02(N+M+R+2) V _{1(t₁)}	...	DE02 (N+M+2R+1) V _{R(t₁)}
		t ₂	X _{1(t₂)}	...	X _{N(t₂)}	X _{N+1(t₂)}	...	X _{N+M(t₂)}	g _{12, (t₂)}	...	g _{r,n+m, (t₂)}	V _{1(t₂)}	...	V _{R(t₂)}
	
		t _r	X _{1(t_r)}	...	X _{N(t_r)}	X _{N+1(t_r)}	...	X _{N+M(t_r)}	g _{12, (t_r)}	...	g _{r,n+m, (t_r)}	V _{1(t_r)}	...	V _{R(t_r)}

ESTUDIO 03: E03	
...	
FIN DE FICHERO	

EOF()

copiarlo para su posterior tratamiento como objeto OLE¹ con otros programas, etc. También se pueden modificar las características del gráfico, desde sus colores o entramado hasta la perspectiva que se desea como imagen tridimensional (figura 3.3.9).

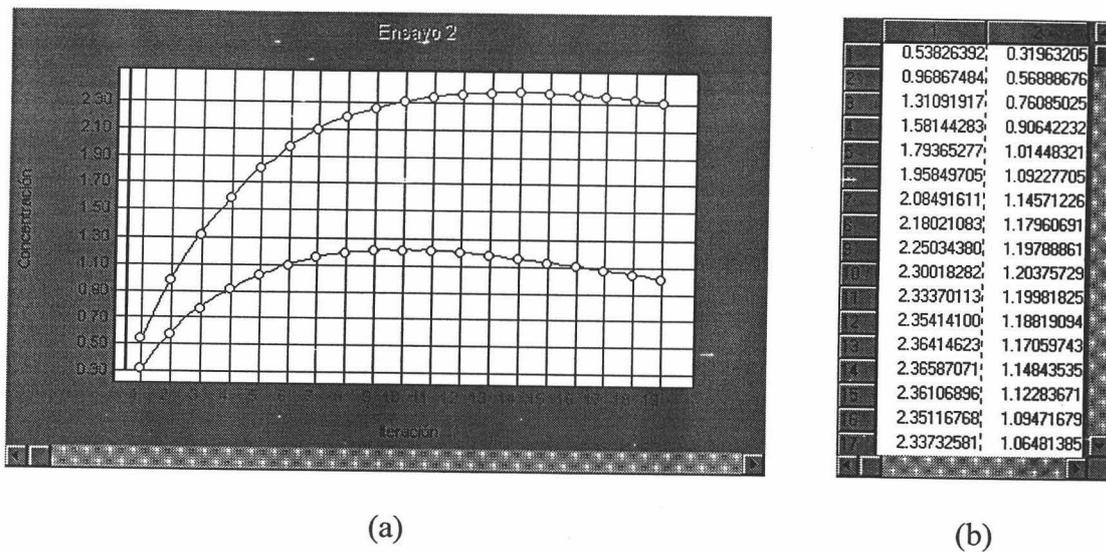


Figura 3.3.7.- Resultados de la simulación. (a) salida gráfica. (b) salida tabular



Figura 3.3.8.- Barra de controles asociada a la salida de resultados.

Los valores correspondientes al ensayo actual se pueden mostrar también en forma tabular. Seleccionando la opción Editor de datos en la barra de herramientas (se trata de un conmutador). Alternativamente, sobre la figura representada se puede conocer el valor correspondiente a un punto dado al colocar el puntero del ratón sobre el mismo y pulsar el botón derecho (figura 3.3.9a).

Los datos almacenados en un archivo DSD se pueden exportar a formato texto mediante la opción Exportar del menú Archivo. El formulario asociado a esta opción (que constituye la base para el gestor de archivos DSD) presenta en

¹ Acrónimo en inglés de *Object linking and embedding*. La automatización OLE (vinculación e incrustación de objetos) es una norma de la industria que utilizan las aplicaciones para poner los objetos OLE al alcance de las herramientas de desarrollo, los lenguajes de macros y otras aplicaciones que son compatibles con dicha automatización.

su cabecera, una lista de los ensayos contenidos en el archivo considerado, indicando el número de ensayo, las variables que contiene y el número de registros. Se puede elegir para la exportación las variables que se consideren oportunas, indicando además el formato de salida (por defecto, estos archivos tendrán extensión CSV, lo que automatiza su incorporación inmediata a aplicaciones Microsoft como una hoja de cálculo o como una tabla de base de datos).

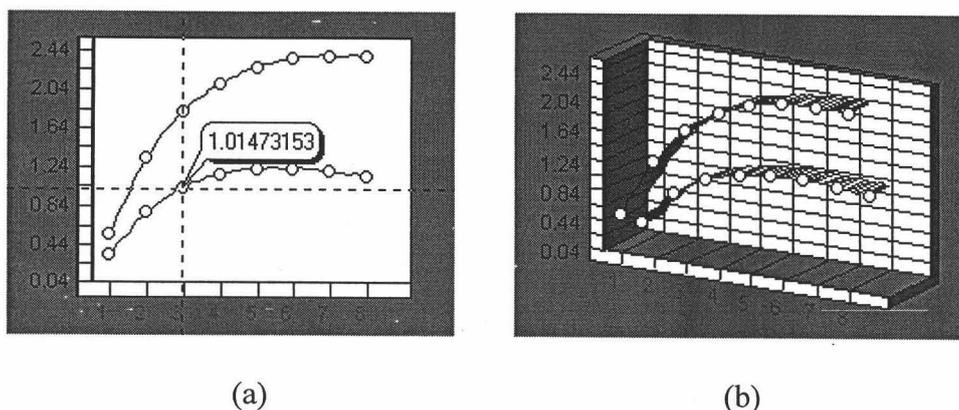


Figura 3.3.9.- Posibilidades gráficas. (a) Sobre la representación se puede consultar el valor correspondiente a un punto concreto (el número de decimales lo establece el usuario). (b) Se pueden añadir rejillas o mostrar los gráficos desde la perspectiva deseada si se considera su imagen tridimensional.

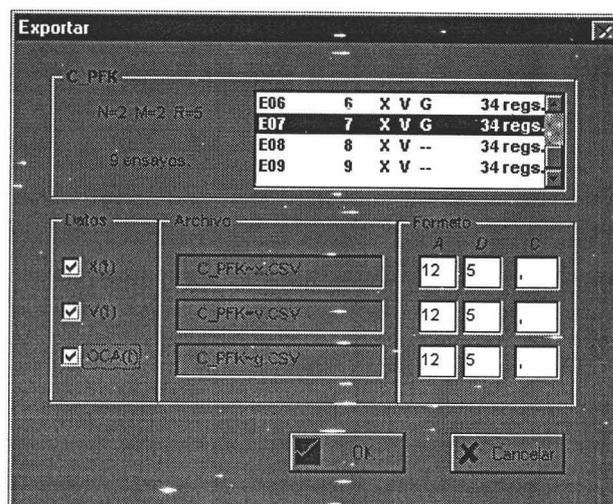


Figura 3.3.10.- Cuadro de diálogo para la exportación de resultados

3.4 Codificación de los archivos de sistema SBQ

La especificación de los parámetros que definen al sistema dinámico que actúa como entrada al programa *SPL2*, se hace a través de un archivo de texto en formato ASCII. Por defecto, estos archivos tienen extensión SBQ. Cuando el volumen del archivo no sea superior a 32Kb, será posible su manipulación desde el editor que incorpora el programa.

El propósito de este apartado es describir las normas que se han adoptado para implementar los archivos SBQ. Se seguirán las siguientes convenciones en cuanto a notación:

- En negrita se representan aquellos valores que deban figurar como literales.
- En cursiva se alude a los conceptos relevantes o bien, en el contexto de la presentación del código, a una expresión que describa el valor al que hace referencia.
- Cuando se debe asignar a una variable el valor de una constante predefinida, la lista de alternativas se presenta separadas por el signo '|', subrayando la opción por defecto cuando la hay.

La descripción de los componentes del sistema se realiza bajo la agrupación de *sentencias* en *párrafos*. Cada párrafo se identifica mediante un *nombre de párrafo* que debe estar incluido entre los signos '[' y ']'. El orden secuencial de los párrafos no es relevante. Los *nombres de párrafo* definidos son los siguientes:

[Sistema]
 [Dimensiones]
 [Mincidencia]
 [Xdep]
 [Xind]
 [V(i)]
 [Integración]
 [Resultados]

Salvo en el caso de los *V(i)*, para identificar cada párrafo basta con sus tres primeras letras y es indiferente si su escritura se hace en mayúsculas o en minúsculas. La interpretación de las *sentencias* se hace por líneas de texto. Las líneas en blanco son ignoradas, y también el texto que aparezca a la derecha del símbolo '<', permitiendo así la introducción de comentarios.

Hay dos tipos de sentencias, las de declaración y las de asignación. Las sentencias de declaración consisten en la presencia de una palabra reservada o de una determinada línea de texto tras la declaración del párrafo. Las sentencias de

asignación implican a un identificador de variable, al operador de asignación '=', y al valor asignado, que puede ser una constante predefinida, un valor escalar, un vector, una matriz o una función predefinida. Todas las asignaciones deben realizarse en una misma línea salvo en el caso de las matrices, cuyos datos se escriben a partir de la línea siguiente a la asignación.

Tanto los párrafos como las sentencias pueden clasificarse en dos categorías: *requerido* y *opcional*. En el primer caso, su ausencia provoca un error de lectura y se libera el objeto SPL2 que se estaba generando. En el segundo caso, la ausencia de la asignación induce que el sistema tome los valores asignados por defecto. No obstante, un error en una sentencia opcional también provoca que se detenga la carga del sistema. A continuación se describen las características y sentencias propias de cada párrafo.

- Párrafo [**SISTEMA**]

Es opcional y puede contener dos sentencias de declaración de contenido libre. La primera declaración se tomará como nombre del sistema y la segunda como comentario.

- Párrafo [**DIMENSIONES**]

De declaración obligatoria. Establece las dimensiones del sistema en función de 3 sentencias de asignación:

N = *número de variables dependientes*

M = *número de variables independientes*

R = *número de ecuaciones de velocidad*

Las asignaciones a las sentencias **N** y **R** son obligatorias, mientras **M** se puede omitir cuando no hay variables independientes, asumiéndose así **M=0**.

- Párrafo [**MINCIDENCIA**]

De declaración obligatoria, su contenido es la matriz de incidencia del sistema con dimensiones **N**×**R**. Cada fila de la matriz debe aparecer en una sola línea de texto. Los valores de una fila correspondientes a diferentes columnas se pueden separar por espacios o por comas. Puesto que el contenido del párrafo es una única matriz, no hay ninguna palabra reservada a la que asignarle el valor.

- Párrafo [**XDep**]

De declaración obligatoria. Debe contener la asignación de los valores de las variables dependientes x_1, \dots, x_n . Para cada nodo hay dos tipos de sentencias de asignación:

X(*i*) = *nombre*

X0(*i*) = (*x_{nominal}* *x_{inicial}*)

La primera es opcional y permite asociar un nombre a la variable en cuestión, que por defecto será $X(i)$. La segunda es requerida e implica a una pareja de datos: el valor *nominal*, que representa al centro de la aproximación PL, x_{i0} , y el *inicial*, que es el valor que asumirá x_i en el instante $t=t_0$ en la simulación (condición inicial en la integración numérica). Es posible asignar un solo valor a $X0(i)$ indicando así que los valores nominal e inicial son los mismos. En los dos tipos de asignaciones i es el índice correspondiente al nodo. El valor de este índice debe de ser coherente con las dimensiones declaradas, de forma que el párrafo **Xdep** debe contener necesariamente $i=1, \dots, N$ declaraciones del tipo **X0**.

- Párrafo [**XInd**]

Su requerimiento depende del valor asignado a la variable **M** en el párrafo **dimensiones**, de forma que debe escribirse siempre que dicho valor no sea cero. En este caso, los índices para referirse a cada variable deben ser $i=N+1, \dots, N+M$. Las sentencias posibles son tres:

$$\begin{aligned} X(i) &= \textit{nombre} \\ X0(i) &= (x_{\textit{nominal}}, x_{\textit{inicial}}) \\ Ft(i) &= \textit{función} \end{aligned}$$

Las dos primeras tienen el mismo significado que las del párrafo **Xdep**, bastando con asignar un solo valor a la variable $X0(i)$ para que se asuman iguales los valores nominal e inicial.

La variable $Ft(i)$ es opcional y representa a la función de perturbación asignada a x_i . Por defecto, esta función toma el valor predefinido **CTE** que define a la variable como “no perturbable”. Las funciones de perturbación predefinidas y los parámetros requeridos son los siguientes:

ESC (p)	<i>escalonada</i> (STP)
PUL (p)	<i>pulso</i>
RAM (p)	<i>rampa</i>
PAR (p)	<i>parabólica</i>
SEN (A, s)	<i>seno</i> (SIN)
COS (A, s)	<i>coseno</i>

Mediante la sentencia

$$Ft(*) = \textit{función}$$

se asigna a todas las variables la función de perturbación declarada, salvo para aquellas que tengan su propia sentencia $Ft(i)$.

• Párrafos [V(i)]

Para caracterizar cada una de las leyes de velocidad v_i se debe definir un párrafo V(i) con $i=1, \dots, R$. Las sentencias propias de cada párrafo son las siguientes:

Etapa = nombre de la etapa

es opcional y permite asignar un nombre a la etapa. Por defecto se asigna 'V(i)'. La sentencia

Tipo = PL1 | PL2

es requerida y declara el grado de la aproximación PL. Los parámetros de la ley de velocidad se declaran mediante la sentencia requerida **Parametros**, cuya asignación se hace a partir de la línea siguiente con el siguiente formato

$$\begin{array}{c} w_{i0} \\ - \quad - \quad - \\ \mathbf{g}_{i1} \quad | \quad \mathbf{G}_{i2}^* \end{array}$$

en donde, de acuerdo con la notación seguida, w_{i0} es el logaritmo de la velocidad inicial, \mathbf{g}_{i1} es el vector de dimensiones $(n+m) \times 1$ de los órdenes cinéticos aparentes correspondientes a la aproximación de primer grado, y $\mathbf{G}_{i2}^* = \frac{1}{2} \mathbf{G}_{i2}$, siendo \mathbf{G}_{i2} la matriz simétrica de coeficientes de segundo grado. Para introducir los datos de \mathbf{G}_{i2} basta con introducir los elementos correspondientes a la parte triangular inferior. La separación entre elementos de diferentes columnas puede hacerse mediante espacios o mediante comas. La estructura desarrollada de la sentencia parámetros es:

Parametros =

$$\begin{array}{cccc} w_{i0} & & & \\ \mathbf{g}_{i,1,0} & \frac{1}{2} \mathbf{g}_{i,1,1} & & \\ \mathbf{g}_{i,2,0} & \frac{1}{2} \mathbf{g}_{i,1,2} & \frac{1}{2} \mathbf{g}_{i,2,2} & \\ \dots & \dots & \dots & \ddots \\ \mathbf{g}_{i,n+m,0} & \frac{1}{2} \mathbf{g}_{i,1,n+m} & \frac{1}{2} \mathbf{g}_{i,2,n+m} & \dots \frac{1}{2} \mathbf{g}_{i,n+m,n+m} \end{array}$$

Cuando se dispone del valor v_{i0} en lugar de su logaritmo w_{i0} se puede suministrar este último valor escribiendo:

Parametros =

$$\begin{array}{c} \ln(v_{i0}) \\ \dots \end{array}$$

- Párrafo [**Integracion**]

La presencia de este párrafo es opcional. Los valores por defecto se establecen en el archivo de inicialización SPL2.INI, donde sí es requerido, y sus valores se pueden modificar de forma interactiva en el formulario de parámetros de la aplicación. Las sentencias propias de este párrafo son:

Metodo = Rk4 | Taylor(*n*)

Establece el método utilizado en la integración numérica. Las opciones son **RK4**, que establece la utilización del método de Runge-Kutta-Feldberg de cuarto orden, y **Taylor(*n*)** que establece el cálculo según el método de Taylor de orden *n*. El número máximo de puntos a calcular y el paso de integración se establecen mediante las sentencias requeridas:

Iteraciones = *número de iteraciones*

Paso = *valor del paso*

Debiendo ser el número de iteraciones un número natural superior a 1 y el paso un valor real del intervalo abierto (0,1).

Como criterio de paro adicional al de completar el número de iteraciones, se puede detener el cálculo cuando los valores de concentración alcancen el estado estacionario. Para ello se debe asignar a la variable **Paro** el valor de la constante predefinida **SS**. Por defecto, esta variable tiene el valor **Its** indicando que se completará el ciclo de iteraciones definido en la sentencia anterior. La sintaxis es:

Paro = **SS** | Its.

En teoría, el estado estacionario se alcanza cuando se anulan todas las derivadas \dot{x}_i ($i=1,\dots,n$). En la práctica, este valor es asintótico y debe establecerse una tolerancia mediante la sentencia

Tolerancia = *valor*.

El valor asignado debe de ser un número perteneciente al intervalo abierto (0,1). Se considerará que el sistema ha alcanzado el estado estacionario cuando la norma euclídea del vector de derivadas sea menor o igual a la tolerancia establecida:

$$\|\dot{x}\|_2 \leq \textit{tolerancia}$$

- Párrafo [**Resultados**]

Al igual que el párrafo anterior, el párrafo de resultados está incluido en el archivo de inicialización SPL2.INI, donde se establecen los valores por defecto. Las sentencias de este párrafo son las siguientes:

Variables = *xt | vt | xt vt*

La sentencia **Paso** permite establecer el paso de salida

Paso = *paso de salida*

El formato de la salida se establece con las sentencias

Formato = *dígitos : decimales*

Delimitador = *carácter*

La primera permite especificar el número de dígitos totales y la precisión decimal. La segunda permite especificar un carácter que se utilizará como separador de cada campo de datos.

En la tabla 3.4.1 se presenta un ejemplo de aplicación. Se trata del sistema donde de orden 2 y tamaño 3 descrito en la sección 6 del capítulo 2 (figura 2.6.2).

Tabla 3.4.1.- Ejemplo de implementación

[Sistema]	[V(1)]
capitulo 2, seccion 6	Etapa = V31
	Tipo = PL2
[Dimensiones]	Parametros =
N=2	Ln(0.5)
M=1	0 0
R= 3	0 0 0
	0.5 0 0 -0.12
[MINcidencia]	[V(2)]
1 -1 0	Etapa = V12
0 1 -1	Tipo = PL2
	Parametros =
[XDep]	Ln(0.465757)
X(1)=S1	0.79989 -0.293501
X0(1)=1.5	-0.0978305 -0.094574 -0.095151
X(2)=S2	0 0 0 0
X0(2)=1.1	
[Xind]	[V(3)]
X(3)=Fuente	Etapa = V-2
X0(3)=3	Tipo = PL2
Ft(3)=pu! (19)	Parametros =
	Ln(0.268293)
	0 0
	0.731707 0 -0.0981559
	0 0 0 0



Capítulo 4

Consideraciones desde una perspectiva estadística

4.1 Introducción

Según T. Elbert (1984), todos los sistemas son estocásticos por naturaleza. Las perturbaciones aplicadas al sistema nunca están libres de ruido y, en el mundo real, no son posibles las medidas “perfectas” de la magnitud de la respuesta frente a dichas perturbaciones.

En estas condiciones, en que el componente aleatorio es ineludible, las relaciones que de otra manera serían *determinísticas* se convierten en relaciones *estadísticas* o *estocásticas*. Consecuentemente, un modelo

$$f = f(\mathbf{x}; \theta)$$

propuesto por la teoría sobre el proceso, al tener en cuenta el componente aleatorio, deberá ser contemplado como

$$f = f(\mathbf{x}; \theta; \varepsilon)$$

siendo ε la variable aleatoria que recoge los tipos de variación que escapa al control del investigador. La presencia del término de error hace que no sea posible determinar el valor exacto de los parámetros θ a partir de un conjunto de valores resultantes de la observación experimental. Por tanto, la solución ha de ser, necesariamente, de tipo estadístico: la información empírica debe ser explotada de manera eficiente de forma que permita *inferir* el valor de estos parámetros a partir de la información contenida en los datos observados.

Por *Inferencia Estadística* se entiende a la teoría, métodos y práctica de formar juicios acerca de ciertas características de una población (léase aquí *sistema real*) en base a la información dada por una parte de esa población, esto es, una *muestra* (Borowski y Borwein, 1989).

La *Teoría de la Estimación* constituye una parte fundamental de la Inferencia Estadística que aborda la determinación del valor de los parámetros desconocidos a partir de la información que proporcionan las muestras (Martín y Luna, 1989).

En la BST, hasta el momento no se han tenido en cuenta este tipo de consideraciones, y en ocasiones se utiliza de manera poco adecuada el concepto de *estimación*. En este capítulo, se inicia lo que debería constituir un aspecto básico en el subsiguiente desarrollo de la teoría, al menos, cuando se trate con la representación de sistemas reales.

4.2 Estructura aleatoria de la ley de velocidad

Tanto su concepción como el subsiguiente desarrollo y aplicación del formalismo de la ley potencial, se hacen desde una perspectiva puramente analítica. No obstante, desde un punto de vista empírico, el formalismo también resulta atractivo por dar lugar a modelos que son lineales en los parámetros, y por tanto, susceptibles de ser estimados bajo los criterios bien establecidos para los modelos lineales.

La idea de que el ajuste del modelo a que da lugar el formalismo de la ley potencial, pueda ser considerado como un problema de regresión lineal, se asume tácitamente en la BST desde su origen. Mención explícita de ella, se hace en un buen número de ocasiones (Savageau, 1969a, 1971b, 1972, 1976, 1988, 1991a, 1992b, 1995b; Voit y Savageau, 1982a,b; Voit *et al.* 1991), asumiéndose que las técnicas de regresión lineal son las apropiadas para determinar los parámetros de una etapa aislada mediante análisis cinético *in vitro*, al estilo *clásico* de los modelos mecanicistas.

Sin embargo, la formulación del modelo fundamental de la BST desde un punto de vista estadístico, es una cuestión que no ha sido considerada mas allá de lo que se ha indicado anteriormente. Por tanto, dado que el formalismo de la ley potencial constituye la base formal de la BST, parece una cuestión obligada tratar con mas detalle este aspecto.

En este sentido, hay dos aspectos que deben de tenerse en cuenta. El primero es que, aunque (en este trabajo) se viene asociando al formalismo de la ley potencial con la ley de velocidad de un proceso catalizado enzimáticamente, el modelo es aplicable sobre un contexto mucho mas general (véase por ejemplo Savageau, 1985a,b y lo expuesto en el capítulo 1 de este trabajo). Por tanto, es conveniente considerar el ajuste del modelo desde un punto de vista mas amplio que la mera equivalencia con la metodología clásica de experimentación *in vitro*. El modelo potencial considerado puede ser el resultado de un proceso de agregación —considérese su *propiedad telescópica* (Savageau, 1979a,b; Voit y Savageau, 1987; 1996c)—, una ley de crecimiento (Savageau, 1979a,b; 1980; Voit y Savageau, 1984; 1986; 1996c), etc., pudiendo resultar, en muchas ocasiones, apropiada su consideración de forma individual.

La segunda cuestión, es que debe tenerse presente que el objeto de estudio (la ley potencial como modelo de regresión lineal), es el propio de una extensa área de conocimiento. La *teoría de los modelos lineales*, como disciplina propia de la Estadística, abarca aspectos que van desde la estructura probabilística del problema hasta todo lo referente al diseño experimental. Por tanto, no puede plantearse aquí un tratamiento exhaustivo que, en muchos casos, no sea mas que un eco de cuestiones fundamentales bien conocidas. En consecuencia, se ha optado por establecer las bases que permitan caracterizar al formalismo de la ley potencial desde un punto de vista estadístico, de manera que se disponga de un

punto de referencia que justifique formalmente posibles formas de proceder, o bien, a partir del cual se puedan desarrollar aspectos más concretos que sean de interés.

En este apartado se van a considerar algunas cuestiones referentes al modelo potencial y a las hipótesis básicas sobre su estructura aleatoria. En el apartado siguiente se tratará el problema de la estimación de sus parámetros.

4.2.1 Hipótesis básicas sobre el componente aleatorio

La aplicación de los métodos de regresión lineal para estimar los parámetros implicados en el modelo —no lineal— obtenido a partir del formalismo de la ley potencial, supone tácitamente que dicho modelo constituye una *especificación lineal*, o lo que Draper y Smith (1981) denominan un *modelo intrínsecamente lineal*. Como tal se entiende al modelo que, siendo originalmente no lineal respecto a los parámetros, se puede expresar como lineal mediante la transformación apropiada de las variables. Por tanto, y a diferencia de los *modelos intrínsecamente no lineales*, los parámetros de las especificaciones lineales se pueden estimar mediante técnicas de regresión lineal.

Por tanto, la filosofía de la BST es considerar al formalismo de la ley potencial como una especificación lineal; mediante la transformación logarítmica tanto de la variable respuesta v , como de las explicativas (x_1, \dots, x_k) , se consigue un modelo que es lineal en los parámetros. Sin embargo, para que esta suposición sea correcta, es preciso tener en cuenta la forma en que afecta el error inherente a toda observación experimental.

4.2.1.1.- Las hipótesis del modelo. Consideremos como punto de partida la hipótesis estructural

$$v_{(t)} = v(\mathbf{x}_{(t)}) + \varepsilon_{(t)} \quad (4.2.1)$$

según la cual, la observación en el instante t de la velocidad de reacción originada por el mecanismo $v(\mathbf{x}_{(t)})$, está afectada por un componente aleatorio $\varepsilon_{(t)}$ que representa la influencia del error experimental. En consecuencia, v deja de ser una variable matemática para pasar a ser una variable aleatoria cuya estructura distribucional vendrá determinada por la de ε .

Dado que ε nunca puede ser conocido, lo habitual es formular un conjunto de hipótesis sobre su distribución y contrastarlas después, a la vista de las observaciones experimentales, para validar cada uno de los resultados que se sustenten sobre ellas. Las hipótesis básicas sobre el error, que permiten caracterizar la forma en que se distribuye $v_{(t)}$, se comentan a continuación.

- **Hipótesis 1.** El error tiene esperanza matemática nula:

$$E(\varepsilon_{(t)}) = 0$$

Según esta hipótesis, el valor esperado de una observación $v_{(t)}$ será

$$E(v_{(t)} | \mathbf{x} = \mathbf{x}_{(t)}) = v(\mathbf{x}_{(t)}) \quad (4.2.2)$$

- **Hipótesis 2.** La varianza del error es constante:

$$\text{Var}(\varepsilon_{(t)}) = \sigma_{\varepsilon}^2$$

Según la forma en que se da la interacción entre el término de error y la variable respuesta, la varianza de $v_{(t)}$ viene dada por la relación

$$\sigma_{v_{(t)}}^2 = \sigma_{\varepsilon}^2 [v(\mathbf{x}_{(t)})]^{2\lambda}, \quad (4.2.3)$$

que supone que la variabilidad observada en la respuesta es proporcional a su valor (real) elevado a alguna potencia, siendo la constante de proporcionalidad la varianza del error establecida en la segunda hipótesis. De esta estructura se derivan dos situaciones extremas:

- $\lambda=0$: efecto aditivo del error (*homocedasticidad*).
- $\lambda=1$: efecto multiplicativo del error (*heterocedasticidad*).

El segundo caso induce la constancia de la variabilidad de la respuesta en términos relativos y entonces el modelo se suele escribir

$$v_{(t)} = v(\mathbf{x}_{(t)}) \varepsilon'_{(t)}, \quad (4.2.4)$$

entendiéndose que $\varepsilon'_{(t)} = (1 + \varepsilon_{(t)})$. Entre estas dos condiciones se pueden dar situaciones intermedias caracterizadas por el valor de λ .

Expresando $v(\mathbf{x})$ según el formalismo de la ley potencial, las situaciones consideradas suponen las especificaciones

$$i) \quad \text{para } \lambda \neq 1: v_{\text{PL}1(t)} = \left(\alpha \prod_{j=1}^k x_{j(t)}^{g_j} \right) + \varepsilon_{(t)} \quad (4.2.5)$$

$$ii) \quad \text{para } \lambda = 1: v_{\text{PL}1(t)} = \left(\alpha \prod_{j=1}^k x_{j(t)}^{g_j} \right) \varepsilon'_{(t)} \quad (4.2.6)$$

Solo en el supuesto (4.2.6) se tiene una especificación lineal. En el (4.2.5) el modelo es intrínsecamente no lineal y la estimación de los parámetros no debe abordarse mediante las técnicas de regresión lineal, pudiendo recurrir por ejemplo, a métodos iterativos de estimación no lineal (véase Draper y Smith, 1981).

- **Hipótesis 3.** las perturbaciones están incorreladas:

$$\text{Cov}(\varepsilon_{(s)}, \varepsilon_{(t)}) = 0 \text{ para } s \neq t.$$

La incorrelación del error es esperable en situaciones estáticas (supuesta una buena práctica experimental) pero no así en situaciones dinámicas. En caso de normalidad, la incorrelación garantiza la independencia entre las observaciones de $v_{(t)}$.

- **Hipótesis 4.** La distribución de probabilidad del error es normal

$$\varepsilon_{(t)} \rightarrow N(0, \sigma_\varepsilon)$$

Si se admite que el modelo es intrínsecamente lineal (expresión 4.2.6), entonces se puede escribir

$$w_{\text{PL1}(t)} = \ln \alpha + \sum_{j=1}^k g_j \ln x_{j(t)} + \ln \varepsilon'_{(t)}. \quad (4.2.7)$$

Ahora, la especificación de la distribución de probabilidad del término de error define de manera inmediata cual es la distribución que sigue la variable $w_{\text{PL1}(t)}$ para valores fijos de las variables explicativas, siendo de especial interés el caso en que la distribución es normal. Para que la variable $\ln \varepsilon'_{(t)}$ tenga distribución normal, $\varepsilon'_{(t)}$ debe tener distribución lognormal.

Tal tipo de distribución para el error, se justifica de forma similar a como se hace con la distribución normal cuando la perturbación global resulta del efecto aditivo de pequeñas variaciones aleatorias independientes. En los dos casos, el principio subyacente es el teorema central del límite, solo que ahora, el error global se interpreta como el *producto* de esas pequeñas variaciones aleatorias independientes (se podría hablar aquí de sinergismo entre esas variaciones). De este modo, se puede escribir

$$\varepsilon'_{(t)} = \prod_i \varepsilon'_{i(t)} \quad (4.2.8)$$

de manera que el logaritmo de $\varepsilon'_{(t)}$ seguirá, en base al teorema central del límite, una distribución normal por ser la suma de variables aleatorias normales independientes.

4.2.1.2.- Revisión de la estructura del error en los ensayos enzimáticos. La caracterización del error asociado a los ensayos enzimáticos, no es una cuestión del todo resuelta, aunque sí se ha considerado en la literatura. Principalmente, las cuestiones tratadas son dos: la homocedasticidad y la normalidad, que serán revisadas de manera sucinta en este apartado, pero no sin antes llamar la atención sobre el hecho de que la violación de una de las hipótesis suele ir unida a la violación de otra. Por ejemplo, es habitual que la falta de normalidad vaya unida a la falta de homocedasticidad (Martín y Luna, 1989). Además, su efecto sobre las propiedades de los estimadores puede verse agravado por la presencia de datos anómalos (Peña, 1989).

a) Homocedasticidad. No hay un criterio unificado sobre el modo en que afecta el error experimental a la determinación de la velocidad de reacción en ensayos de cinética enzimática.

Wilkinson (1961), en la que constituye una referencia clásica sobre la estimación de parámetros cinéticos, considera que las medidas de velocidad son razonablemente homogéneas en varianza. Sin embargo, esta suposición ha sido debatida frecuentemente por numerosos autores.

Storer et al. (1975), en un estudio orientado a caracterizar la naturaleza del error en las medidas de cinética enzimática, han encontrado infundada la generalización de que la varianza de las medidas de velocidad sea homogénea. En ensayos donde se tomaron numerosas medidas repetidas relativas a la cinética de la hexokinasa, y que fueron confirmados mediante estudios con α -quimotripsina, estos autores detectaron un patrón claramente heterocedástico en las observaciones.

Este mismo resultado es el propuesto por Henderson (1993) y Cornish-Bowden (1995), quienes han analizado la estructura distribucional del error a partir de una extensa bibliografía sobre ensayos de cinética enzimática (véanse las referencias citadas por estos autores).

Más evidencias de este tipo pueden encontrarse en Merino (1974), Zivin y Waud (1982), Raaijmakers (1987) o Bates et al., 1987. También, la revisión de datos históricos de nuestro laboratorio lleva a la misma conclusión, compartiendo la sugerencia de Ottaway (1973) de que la constancia de la variabilidad del error es improbable en los experimentos de cinética enzimática.

Por otra parte, la estructura heterocedástica del error ha sido asumida por Savageau (1969a) a partir de las consideraciones de Cleland (1967b).

b) Normalidad. Henderson (1993), ha indicado la falta de normalidad de datos procedentes de análisis cinético. Este autor ha detectado la relación entre cierto

sesgo en la distribución del error y determinadas características del espectrofotómetro utilizado. También ha destacado las discrepancias entre las estimaciones del error realizadas por diferentes investigadores al realizar el mismo tipo de análisis

Del mismo modo, Storer et al. (1975) señalan que la suposición de normalidad es, en general, incorrecta. En un ensayo donde se tomaron 100 medidas en condiciones homogéneas de la velocidad de reacción de la glucokinasa, se observó cierta falta de normalidad en la distribución de las medidas de velocidad cuando estas correspondían a valores bajos. Sin embargo, la normalidad era aceptable en los valores altos de la velocidad. En un análisis similar con quimotripsina, los resultados fueron análogos, detectando un problema de curtosis (colas excesivamente pesadas en la distribución experimental de las observaciones).

4.2.2 Efecto de la transformación logarítmica implícita en el formalismo de la ley potencial

La transformación logarítmica de una escala de valores, es una transformación de tipo contractivo, por tanto su efecto es comprimir los valores altos de la escala al tiempo que expande los valores bajos. En una situación empírica, en la que se pretende formular un modelo que explique la forma en que se da la relación entre un conjunto de variables, la transformación contractiva de alguna de las variables es útil al permitir simplificar la relación mantenida mediante su linealización. En general, cuando se trata de relaciones de tipo convexo, la linealización se consigue al transformar la variable respuesta. Si por el contrario, la relación es de tipo cóncavo, la linealización se consigue al transformar una o varias de las variables explicativas.

El formalismo de la ley potencial implica, de forma inherente, la transformación logarítmica de los dos tipos de variables que intervienen en el modelo: la ley de velocidad, como variable respuesta, y las concentraciones de efectores, como variables explicativas. No se trata de determinar cuál es la transformación óptima de las variables implicadas a partir de las evidencias experimentales, sino que la doble transformación logarítmica se aplica de manera sistemática. Por una parte, el efecto contractivo de la transformación, induce una alteración de la forma en que se da la relación entre las variables. Sin embargo, hay un efecto adicional, que es la deformación que sufre la distribución del error experimental. A continuación se consideran estos dos efectos.

4.2.2.1.- Deformación de la relación entre las variables. La forma en que afecta la transformación logarítmica a la relación entre concentraciones y velocidad de reacción, debe analizarse en base a las propiedades fundamentales

de las leyes de velocidad (desde un punto de vista puramente mecanicista; véase para un planteamiento de estas propiedades Savageau, 1969a; 1976).

En el que fue el trabajo precursor de la BST, Savageau (1969a) considera que la transformación logarítmica de la ley racional de velocidad tiene un efecto “desacoplante” de los factores que determinan dicha ley. Este efecto, viene dado por la transformación de los productos en sumas de (logaritmos de) términos esencialmente lineales. La consideración de un tipo de diagramas propio de la ingeniería de sistemas de control, los diagramas de Bode, permite caracterizar de manera asintótica el proceso considerado. Sin embargo, no se ha explotado mucho más este tipo de representación, que en el contexto de este apartado resulta muy apropiada. Por tanto, el objetivo aquí será destacar la utilidad y validez de los diagramas de Bode, para caracterizar, de forma precisa y sobre su base mecanicista, la forma que adopta la relación entre las variables explicada y explicativas al ser transformadas. Para ello, se considera de manera sucinta la propuesta básica de Savageau, ilustrándola con algunos ejemplos.

Se parte de la idea de que las leyes de velocidad son funciones racionales, en las que tanto el numerador como el denominador son polinomios respecto a las variables de concentración. La factorización del numerador y del denominador permite expresar la función en términos de tres tipos de factores simples: (1) una constante, (2) un polo o un cero en el origen y, (3) un factor cuadrático. Si la función se puede expresar en términos de los productos de estos factores, entonces, al representarlos en escala logarítmica, la reconstrucción de la función se consigue mediante un proceso de adición, de manera que la función exacta puede ser aproximada mediante asíntotas lineales (para revisiones actualizadas de este tipo de representación véase Richards, 1979; Anand, 1983, o Dorf, 1989; la aplicación al análisis de los sistemas bioquímicos se describe en detalle en el Apéndice A de Savageau, 1976).

En la figura (4.2.1) se presentan algunos ejemplos de esta representación. Centrando la atención en procesos unidireccionales¹, si el grado del polinomio del numerador es menor o igual que el del denominador, el número de factores que componen el numerador será siempre menor o igual que el número de factores que componen el denominador. En consecuencia, el número de asíntotas con pendiente positiva en el diagrama de Bode será menor o igual al número de asíntotas con pendiente negativa. De este modo es posible caracterizar los generales de perfiles que ofrecerá la transformación log-log de la función original. (1) Una primera situación se corresponde al caso en que el número de factores del numerador y del denominador coincidan. En este caso, la localización del punto de corte de las asíntotas con el eje de abcisas es decisiva para caracterizar si bien la función será monótona creciente, o bien presentará algún punto extremo en el que se invierta el signo de su derivada. De cualquier manera deberá existir una asíntota horizontal en los valores correspondientes al

¹ Esta suposición es la misma hecha por Savageau (1969a, 1976) y no supone una pérdida de la generalidad. Además, la formulación bajo el formalismo de la ley potencial se aplica siguiendo este criterio (véase por ejemplo Ni y Savageau, 1996a)

extremo superior de la escala de la, o las variables explicativas. Dicha asíntota aparece por compensación de aquellas que tienen pendiente positiva (originadas por el numerador) con las que tienen pendiente negativa (originadas por el denominador) y refleja la saturación del proceso. (2) Una segunda situación se da cuando el número de factores del denominador es superior al número de factores del numerador. Ahora cabe esperar que la función no sea monótona y presente, al menos, un cambio en el signo de la derivada.

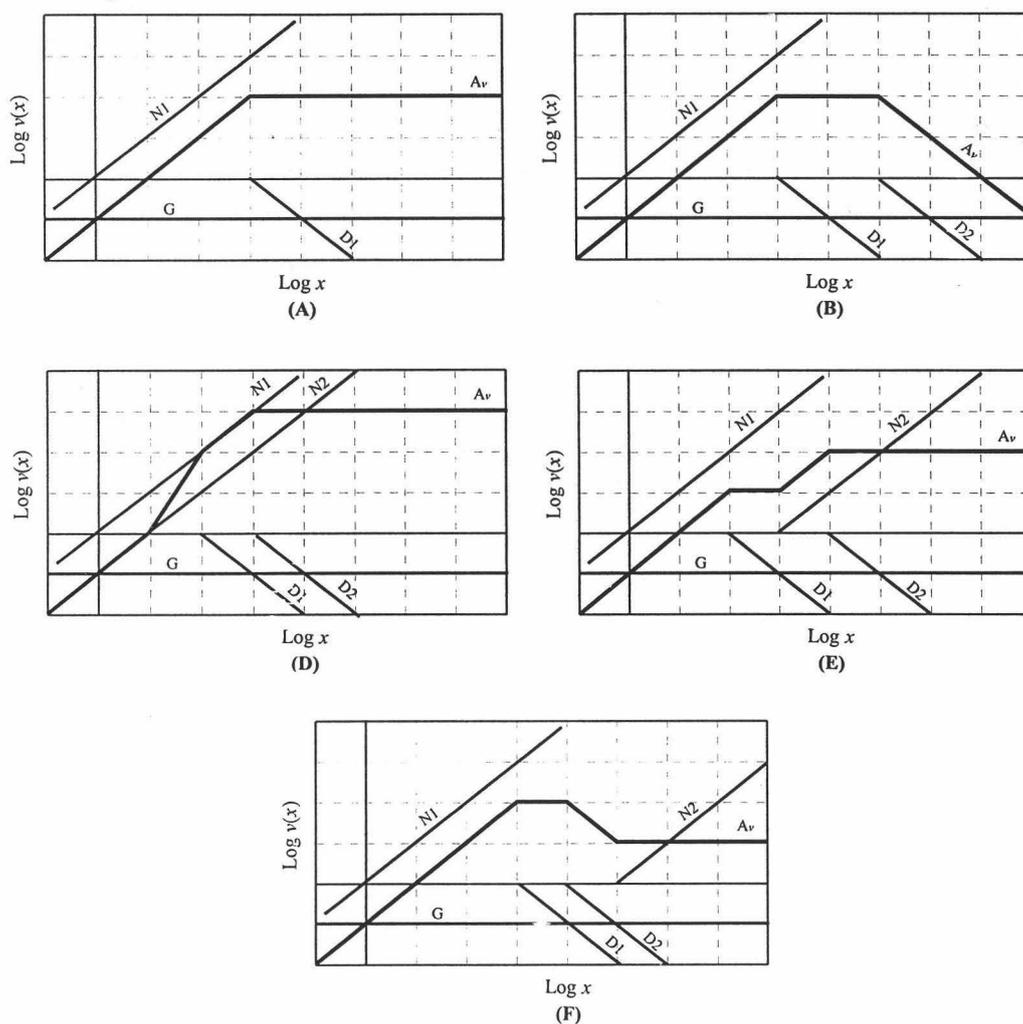


Figura 4.2.1.- Asíntotas de los diagramas de Bode para tres situaciones tipo según los grados de los polinomios que constituyen el numerador (gr_n) y el denominador (gr_d) de la ley de velocidad. (A) $gr_n = gr_d = 1$; (B) $gr_n = 1, gr_d = 2$; (D-F) $gr_n = gr_d = 2$. En todos los casos: G representa la asíntota horizontal (relacionada con el factor de ganancia). N1 y N2 son las asíntotas obtenidas a partir de la factorización del numerador. D1 y D2 son las asíntotas obtenidas a partir de la factorización del denominador. A_v es la asíntota resultante para la ley de velocidad obtenida por adición de los segmentos lineales anteriores. No se contempla la existencia de pares conjugados complejos.

La representación 4.2.1(A) corresponde al caso en que el grado del polinomio del numerador coincide con el del denominador y cada uno de ellos genera un único factor. Esta es la situación de la ecuación de Hill, en donde el factor de ganancia es $\log G = \log(V_{max} / k_m^n)$. La asíntota N1 corta al eje de abscisas en el origen y tiene por pendiente al valor del coeficiente de Hill (factor degenerado con multiplicidad n dado por $\log x^n$). La asíntota D1 está generada por el factor $\log(1 + x^n / k_m^n)$ con pendiente de magnitud igual al coeficiente de Hill y signo negativo. El perfil hiperbólico (ecuación de Michaelis-Menten) se obtiene como caso particular en que las dos asíntotas N1 y D1 tienen pendiente unitaria. En consecuencia, la diferencia entre el diagrama correspondiente a la representación de Michaelis-Menten y el correspondiente a la de Hill es la magnitud de la pendiente en el segmento inicial (valores de la abscisa $\log x < n \log k_m$, que es *punto de ruptura* tras el cual se estabiliza el proceso). Obsérvese que el valor máximo del orden cinético aparente para este tipo de cinéticas es precisamente el valor de la pendiente de la asíntota N1 (n para la ecuación de Hill y 1 para el caso particular de Michaelis-Menten).

El diagrama 4.2.1(B) corresponde a una situación en la que el grado del numerador ($gr_n=1$) es inferior al del denominador ($gr_d=2$). Esta es la situación típica de una cinética de inhibición por sustrato. Solo hay una asíntota con pendiente positiva que viene dada por el factor degenerado $\log x$ del numerador. Las dos asíntotas originadas por el denominador, D1 y D2, inducen la presencia de un máximo en la función de velocidad².

Los diagramas 4.2.1(C, D y F) corresponden a formulaciones en las que tanto el numerador como el denominador se descomponen en dos factores. Las situaciones (D) y (E) pueden imaginarse fácilmente si se piensa en procesos dados por la agregación de otros más simples, por ejemplo de tipo michaeliano; la relación entre la magnitud de las constantes de velocidad máxima y de Michaelis pueden condicionar que se de la situación (D) o bien la (E). Un ejemplo de la situación representada en (F) puede encontrarse en Savageau (1976; Apéndice A).

4.2.2.2.- Efecto sobre la distribución del error. Cualquier transformación no lineal puede considerarse lineal si el recorrido de la variable transformada es suficientemente pequeño (cf. Box y Draper, 1986; Peña, 1989). Sin embargo, en la medida en que el rango de la variable aumente, la transformación no lineal

² Confróntese con lo expuesto en el apartado §II, para el modelo de inhibición por sustrato allí expuesto, la localización de los *puntos de ruptura* (*breakpoints*) para los factores del denominador viene dada por

$$\log x = \log \left(\frac{1 \pm \sqrt{1 - 4k_m k_i}}{2k_i} \right)$$

puede modificar apreciablemente su estructura distribucional. Esta alteración se da a dos niveles:

- 1) a nivel de la *amplitud* de la distribución
- 2) a nivel de la *forma* de la distribución.

Si bien la alteración de la amplitud está determinada por el gradiente de la transformación, la deformación (o cambio en la simetría) es debida a su curvatura (figura 4.2.2). Consecuentemente, el efecto de la transformación puede analizarse a partir de las derivadas primera (gradiente) y segunda (curvatura) de la función de transformación considerada (Box y Draper, 1986).

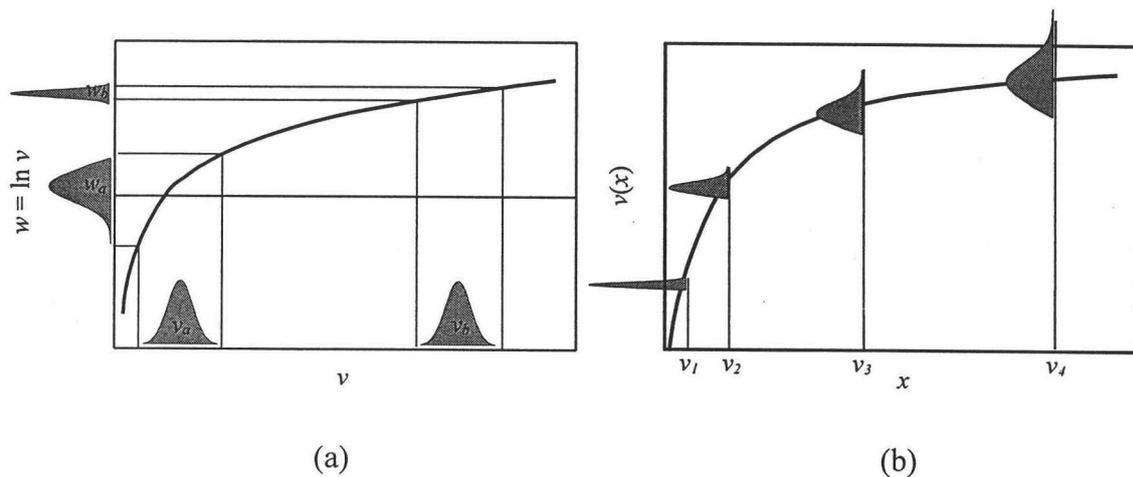


Figura 4.2.2.- (a) efecto de la transformación logarítmica. (b) Posible distribución de las observaciones respecto a una curva de saturación michaeliana. Si la situación empírica es la de (b), la transformación logarítmica puede inducir una mayor homocedasticidad y simetría, de manera que sea asumible la normalidad.

Considerando la transformación logarítmica $w = \ln v$, sus derivadas primera y segunda son, respectivamente:

$$w' = 1/v \quad (4.2.9)$$

$$w'' = -1/v^2 \quad (4.2.10)$$

a) Modificación de la amplitud. Según (4.2.9), el valor aproximado de la desviación típica correspondiente a la distribución de la variable transformada w_i se puede expresar como

$$\sigma_{w(i)} \approx \sigma_{v(i)} / v(i) \quad (4.2.11)$$

en donde $v_{(t)} = v(\mathbf{x}_{(t)})$. De este modo, es posible aproximar la relación entre las desviaciones relativas a las distribuciones correspondientes a los extremos del recorrido de la variable. Llamando v_{\min} y v_{\max} a los valores extremos de v , la relación entre las desviaciones típicas de la variable transformada w , relativas a las distribuciones correspondientes a estos extremos, se puede aproximar mediante:

$$\frac{\sigma_{w_{\max}}}{\sigma_{w_{\min}}} \cong \frac{v_{\min}}{v_{\max}} \frac{\sigma_{v_{\max}}}{\sigma_{v_{\min}}}. \quad (4.2.12)$$

Considerando que la estructura del error viene dada según

$$\sigma_{v_{(t)}}^2 = \sigma_{\varepsilon}^2 [v(\mathbf{x}_{(t)})]^{2\lambda}, \text{ restringiendo } 0 \leq \lambda \leq 1, \quad (4.2.13)$$

la expresión anterior se puede escribir como

$$\frac{\sigma_{w_{\max}}}{\sigma_{w_{\min}}} \cong \left(\frac{v_{\min}}{v_{\max}} \right)^{1-\lambda} = r_v^{1-\lambda}, \quad (4.2.14)$$

en donde se ha definido r_v como el cociente v_{\min}/v_{\max} .

En una situación empírica, el problema habitual es estudiar si en la métrica original de las variables, la magnitud del error (expresada en términos de σ_v) permanece constante al tomar medidas repetidas de v (para valores fijos de \mathbf{x}), o si por el contrario, se da una amplificación del error caracterizada por la relación (4.2.3) al considerar $\lambda > 0$. En este último caso, una alternativa es transformar la variable. Sin embargo, aquí el problema es el inverso. Una vez aplicada la transformación, se trata de analizar si su efecto sobre la distribución del error es apropiado por que la regulariza, o bien si resulta inconveniente por introducir una mayor distorsión en su distribución.

Admitiendo la relación (4.2.3), un valor $\lambda=1$ supone una estructura multiplicativa para la cual la transformación logarítmica es la óptima según el criterio de Box-Cox (véase por ejemplo Draper y Smith, 1981). En la medida en que λ se aproxime a cero, la estructura se va haciendo aditiva y la transformación logarítmica deja de ser adecuada. En el caso extremo ($\lambda=0$), la transformación logarítmica puede inducir una pauta heterocedástica cuya gravedad vendrá dada por la magnitud del índice r_v descrito anteriormente (como ya se ha dicho, en este caso el formalismo de la ley potencial es intrínsecamente no lineal). En la tabla 4.2.1 se presentan los valores mínimos admisibles de λ para admitir la homocedasticidad de la variable transformada. Estos valores se relacionan con diferentes niveles de r_v obtenidos a partir de una cinética hiperbólica clásica sobre la que se consideran intervalos de sustrato centrados en la k_m . La relación entre la

magnitud del índice r_v y la aproximación a la razón entre las desviaciones típicas, $r_v^{1-\lambda}$, dada por (7) se representa en la figura 4.2.3.

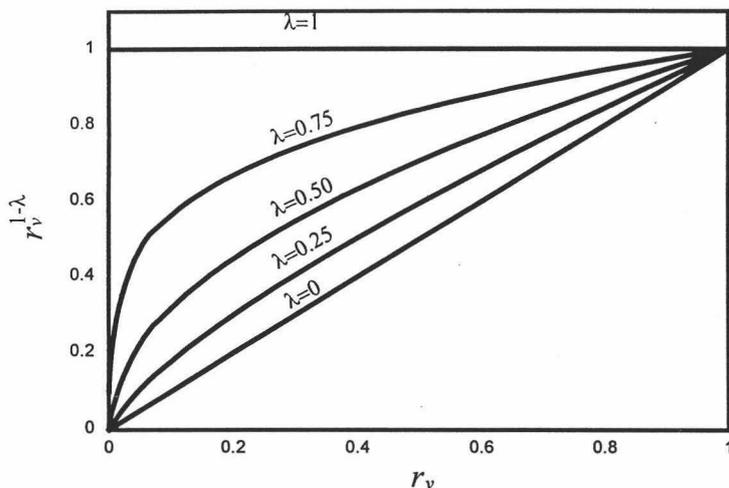


Figura 4.2.2.- Efecto de la transformación logarítmica al considerar la relación entre las varianzas relativas a los valores extremos del recorrido de la variable respuesta en función de su magnitud en dichos extremos.

Tabla 4.2.1.- Valores admisibles de λ en una cinética de Michaelis-Menten para diferentes valores de r_v obtenidos a partir de intervalos de sustrato centrados en la k_m . En (1) se indica el valor de r_v correspondiente a los niveles de la velocidad dados en (3) y (4) y que resultan de la valoración con $v(x)=v[k_m(1\pm k)]$, con k dado en (2). La columna (5) indica el valor mínimo de λ que es admisible para que el contraste de homogeneidad

$$\sigma_{w_{\min}} / \sigma_{w_{\max}} = 1,$$

basado en la distribución F de Fisher, resulte no significativo (el test supone normalidad e independencia entre los valores de cada muestra; se asume como referencia el valor crítico $F_c=3$ que es, aproximadamente, el percentil 97.5 de la distribución $F_{10;10}$).

Rv (1)	k (2)	v_{\min} (3)	v_{\max} (4)	λ ($F_c=3$) (5)
0.01	0.993	0.007	0.666	0.881
0.1	0.929	0.066	0.659	0.761
0.2	0.851	0.130	0.649	0.659
0.3	0.763	0.191	0.638	0.544
0.4	0.667	0.250	0.625	0.401
0.5	0.562	0.305	0.610	0.208
0.6	0.449	0.355	0.592	0.000
0.7	0.333	0.400	0.571	0.000
0.8	0.217	0.439	0.549	0.000
0.9	0.105	0.472	0.525	0.000

b) Alteración de la forma. De forma análoga a como se caracteriza el efecto de la transformación logarítmica sobre la amplitud de la distribución del error, se puede aproximar su efecto sobre la simetría de la distribución (figura 4.2.3).

Considerando la distribución relativa a un valor arbitrario $v_i = E(v(\mathbf{x})|\mathbf{x} = \mathbf{x}_i)$, un intervalo simétrico respecto a ese valor viene dado por $v_i(1 \pm \delta)$. La aproximación mediante los tres primeros términos de la serie de Taylor a los extremos del intervalo transformado viene dada por $\ln(v_i) \pm \delta(1 \mp \delta/2)$, de manera que, ahora, el extremo inferior del intervalo transformado está más alejado del valor central que el extremo superior. Este desplazamiento relativo inducido por la transformación, se puede expresar en forma de índice como

$$\Delta_\delta \cong \left| \frac{1 + \delta/2}{1 - \delta/2} \right| \quad (4.2.15)$$

Por ejemplo, si la distribución original es normal de parámetros v_i y σ_{v_i} , el intervalo simétrico $v_i(1 \pm k CV_i)$ —en donde CV_i es el coeficiente de variación de la distribución y k es una constante positiva—, se transforma, al tomar logaritmos, en un intervalo asimétrico caracterizado por un índice de desplazamiento

$$\Delta_\delta \cong \left| \frac{2v_i - k\sigma_{v_i}}{2v_i + k\sigma_{v_i}} \right| \quad (4.2.16)$$

4.3 El formalismo de la ley potencial de primer grado como modelo de regresión lineal

En este apartado se van a tratar las implicaciones del modelo de regresión lineal sobre el formalismo de la ley potencial. Se expondrá en principio los aspectos de mayor interés sobre la teoría de los modelos lineales orientada a dicho formalismo y seguidamente se analizarán las desviaciones que pueden surgir respecto al modelo lineal.

Se centrará la atención en una sola ley de velocidad $v=v(\mathbf{x})$ (no es necesario por tanto el subíndice que la especifica), que queda definida como una función del vector k -dimensional de variables $\mathbf{x}=(x_1, \dots, x_k)^t$. Aquí, la distinción entre variables *dependientes* e *independientes* del sistema, pierde su sentido y lo procedente será aludir a las coordenadas del vector \mathbf{x} como variables *explicativas* o *regresoras*. En general, se puede asumir que $k=n+m$.

4.3.1. Observaciones experimentales. Especificación del modelo

El formalismo de la ley potencial supone que para un entorno suficientemente restringido del punto \mathbf{x}_0 , cada observación de la velocidad puede expresarse según

$$\ln v_{\text{PL}l(t)} = \ln \alpha + g_1 y_{1(t)} + \dots + g_k y_{k(t)} + v_{(t)} \quad (4.3.1)$$

para $t=1, \dots, N$, y con $v_{(t)} = \ln(1 + \varepsilon_{(t)})$, siendo $\varepsilon_{(t)}$ la realización de una variable aleatoria con esperanza nula y varianza σ_ε^2 . Los parámetros α y g_i son los clásicos de la BST y también las variables $y_{i(t)} = \ln x_{i(t)}$.

El modelo (4.3.1) se puede expresar en desviaciones respecto a un valor *nominal*, según

$$\tilde{w}_{\text{PL}l(t)} = g_1 l_{1(t)} + \dots + g_k l_{k(t)} + v_{(t)} \quad (4.3.2)$$

al considerar $\tilde{w}_{\text{PL}l(t)} = w_{\text{PL}l(t)} - w_0$ y $l_{i(t)} = y_{i(t)} - y_{i0}$ ($= \tilde{y}_{i(t)}$). En principio, lo más natural parece identificar a este valor nominal con el centro de gravedad de la nube de puntos $\{w_{(t)}, y_{1(t)}, \dots, y_{k(t)}\}$ para $t=1, \dots, N$, de manera que

$$w_0 = \frac{1}{N} \sum_{t=1}^N w_{(t)} \quad \text{y} \quad y_{i0} = \frac{1}{N} \sum_{t=1}^N y_{i(t)} \quad \text{para} \quad i=1, \dots, k. \quad (4.3.3)$$

De este modo, el modelo se puede expresar según

$$\tilde{\mathbf{w}}^{\circ} = \mathbf{L}\mathbf{g} + \mathbf{v} \quad (4.3.4)$$

en donde el superíndice “ \circ ” indica que se trata de un vector (o una matriz) de valores observados, de modo que

$$\tilde{\mathbf{w}}^{\circ} = \begin{pmatrix} w_{(1)} - w_0 \\ \vdots \\ w_{(N)} - w_0 \end{pmatrix}. \quad (4.3.5)$$

\mathbf{L} es la matriz $N \times k$ de variables explicativas

$$\mathbf{L} = \begin{pmatrix} l_{1(1)} & \cdots & l_{k(1)} \\ \vdots & & \vdots \\ l_{1(N)} & \cdots & l_{k(N)} \end{pmatrix} \quad (4.3.6)$$

\mathbf{g} es el vector de parámetros $\mathbf{g} = (g_1, \dots, g_k)^t$ y \mathbf{v} el de perturbaciones aleatorias $\mathbf{v} = (v_{(1)}, \dots, v_{(N)})$.

De forma general, si \mathbf{Y} es

$$\mathbf{Y} = \begin{pmatrix} y_{1(1)} & \cdots & y_{k(1)} \\ \vdots & & \vdots \\ y_{1(N)} & \cdots & y_{k(N)} \end{pmatrix},$$

el modelo (4.3.4) se obtiene al considerar la matriz idempotente y simétrica $\mathbf{Q} = \mathbf{I}_N - \frac{1}{N} \mathbf{1}_N \mathbf{1}_N^t$, según la cual

$$\mathbf{L} = \mathbf{Q}\mathbf{Y} \text{ y } \tilde{\mathbf{w}}^{\circ} = \mathbf{Q}\mathbf{w}^{\circ}$$

verificándose $\mathbf{Q}\mathbf{L} = \mathbf{L}$ y $\mathbf{Q}\mathbf{v} = \mathbf{v}$. Como las l_i son centradas, el término independiente del modelo se recupera según $\hat{w}_0 = \bar{w}$. Por tanto, la (4.3.4) es equivalente a

$$\mathbf{w}^{\circ} = \mathbf{Y}^* \mathbf{g}^* + \mathbf{v}, \quad (4.3.7)$$

viniendo \mathbf{Y}^* y \mathbf{g}^* dados por

$$\mathbf{Y}^* = \begin{pmatrix} 1 & y_{1(1)} & \cdots & y_{k(1)} \\ \vdots & \vdots & \cdots & \vdots \\ 1 & y_{1(N)} & \cdots & y_{k(N)} \end{pmatrix}; \quad \mathbf{g}^* = \begin{pmatrix} \ln \alpha \\ g_1 \\ \vdots \\ g_k \end{pmatrix}.$$

4.3.2. Estimación de parámetros

Siempre que \mathbf{L} (o \mathbf{Y}^*) sea una matriz de rango pleno, es decir $\text{rg}(\mathbf{L})=k$ (o $\text{rg}(\mathbf{Y}^*)=k+1$), y el tamaño de la perturbación aleatoria σ_v^2 sea constante, el problema de la estimación es abordable por el criterio de mínimos cuadrados ordinarios (MCO). Llamando $\hat{\mathbf{w}}$ al vector de pronósticos para w según la especificación

$$\hat{w}_{(t)} = \hat{w}_0 + \sum_{i=1}^k \hat{g}_i l_{i(t)}$$

la minimización del módulo del vector $(\mathbf{w}^0 - \hat{\mathbf{w}})$ conduce al sistema de ecuaciones normales $(\mathbf{L}'\mathbf{L})\hat{\mathbf{g}} = \mathbf{L}'\tilde{\mathbf{w}}^0$, de donde se obtiene el estimador de mínimos cuadrados ordinarios para \mathbf{g} :

$$\hat{\mathbf{g}} = (\mathbf{L}'\mathbf{L})^{-1} \mathbf{L}'\tilde{\mathbf{w}}^0 \quad (4.3.8)$$

Este estimador es el mismo que si se especifica el modelo según (4.3.6), puesto que se da la identidad entre el sistema de ecuaciones normales $(\mathbf{Y}^{*'} \mathbf{Y}^*)\hat{\mathbf{g}} = \mathbf{L}^{*'} \mathbf{w}^0$ y el citado anteriormente. Por tanto, los valores residuales, definidos por

$$\hat{\mathbf{v}} = \mathbf{w}^0 - \hat{\mathbf{w}} \quad (4.3.9)$$

también son los mismos independientemente de que se utilice la relación (4.3.4) o la (4.3.6).

4.3.2.1.- Caracterización de las propiedades de los estimadores: el teorema de Gauss-Markov. Las propiedades del estimador de mínimos cuadrados ordinarios (MCO) vienen establecidas por el teorema de Gauss-Markov, según el cual, bajo el cumplimiento de las hipótesis

1. linealidad de la relación funcional entre las variables explicativas y la respuesta.
2. matriz de varianzas para el error escalar, i.e.: $\text{Var}(\mathbf{v}) = \sigma_v^2 \mathbf{I}_N$

3. independencia entre las perturbaciones y las variables explicativas
4. las variables explicativas son variables matemáticas (no aleatorias).

los estimadores MCO son los estimadores lineales *óptimos*, en el sentido de que son *centrados* (exactos) y de *mínima varianza* (precisos) (cf. Kotz y Johnson, 1983; Graybill, 1961).

Este resultado es independiente de la distribución de probabilidad que tenga la perturbación aleatoria. No obstante, si v tiene distribución normal, entonces como es sabido, el estimador MCO coincide con el de máxima verosimilitud (véase Kotz y Johnson, 1983; también Draper y Smith, 1981; Box y Draper, 1987).

El problema es que, en la práctica, las hipótesis sobre las que se establece el teorema de Gauss-Markov son difícilmente contrastables. No obstante, el teorema es fundamental en el establecimiento del modelo lineal, pues resume el concepto básico de *estimador lineal insesgado de mínima varianza* cuando la forma de la distribución de probabilidad del error es desconocida (véase Kotz y Johnson, 1983). En consecuencia, se considera aquí que lo más correcto es utilizar este resultado (básico) como punto de partida para la caracterización del formalismo de la ley potencial, desde el punto de vista de la inferencia estadística. De este modo, quedarán establecidas las propiedades que tendrán los estimadores cuando sean admisibles las hipótesis que establece el teorema, o bien, se dispondrá de un punto de referencia para considerar las situaciones en que puedan no verificarse dichas hipótesis.

En el apartado siguiente se tratará el desarrollo del formalismo de la ley potencial (de primer grado) bajo las condiciones del teorema de Gauss-Markov. Mas adelante se tratarán algunas de las situaciones en que se violan estos supuestos.

4.3.2.2. Estimación del modelo PL1 bajo los supuestos del teorema de Gauss-Markov. Según establece el teorema de Gauss-Markov, siempre que $E(v)=0$, los estimadores de mínimos cuadrados ordinarios \hat{g} , son estimadores insesgados para g :

$$E(\hat{g})=g \quad (4.3.10)$$

Por otra parte, si la matriz de varianzas del error es escalar, la matriz de varianzas y covarianzas de \hat{g} es

$$\text{Var}(\hat{g}) = \sigma_v^2 (\mathbf{L}'\mathbf{L})^{-1}. \quad (4.3.11)$$

en donde falta por conocer la varianza de la perturbación. Una vez determinado \hat{g} , el tamaño del error se estima a partir de la varianza de los valores residuales,

4.3. El formalismo PL1 como modelo de regresión lineal

que ya han sido definidos en (4.3.9) y no son sino una transformación lineal del término de error. Dividiendo el módulo del vector \hat{u} por sus grados de libertad (el número de observaciones experimentales, menos el número de parámetros a estimar, menos 1, por la ligadura que establece el criterio de mínimos cuadrados) se obtiene un estimador para σ_v^2 según

$$\hat{\sigma}_v^2 = \frac{\hat{u}'\hat{u}}{N - k - 1}. \quad (4.3.12)$$

El módulo de \hat{u} se puede expresar, en términos de los elementos que intervienen en (4.3.8) como

$$\hat{u}'\hat{u} = \tilde{w}^{o'}\tilde{w}^o - \hat{g}'L'\tilde{w}^o \quad (4.3.13)$$

de manera que

$$\hat{\sigma}_v^2 = \frac{\tilde{w}^{o'}\tilde{w}^o - \hat{g}'L'\tilde{w}^o}{N - k - 1}. \quad (4.3.14)$$

Este estimador es centrado e independiente de \hat{g} y su distribución de probabilidad se obtiene de (Draper y Smith, 1981; Box y Draper, 1987)

$$(N - k - 1)\hat{\sigma}_v^2 / \sigma_v^2 \rightarrow \chi_{N-k-1}^2 \quad (4.3.15)$$

Volviendo ahora a la expresión (4.3.12), se tiene que

$$\text{Var}(\hat{g}) = \hat{\sigma}_v^2 (L'L)^{-1}. \quad (4.3.16)$$

Llamando q_{ij} a los términos de la matriz simétrica $(L'L)^{-1}$, la expresión (4.3.16) indica que el error de estimación para cada coeficiente g_i viene dado por

$$S_{\hat{g}_i} = \hat{\sigma}_v \sqrt{q_{ii}}. \quad (4.3.17)$$

Únicamente si la matriz $(L'L)^{-1}$ es diagonal, las estimaciones de las coordenadas de g serán independientes entre sí. En general

$$S_{\hat{g}_i, \hat{g}_j} = \hat{\sigma}_v^2 q_{ij} \quad (4.3.18)$$

y para que los q_{ij} (con $i \neq j$) se anulen, debe verificarse la ortogonalidad entre las variables explicativas ($l_i l_j = 0$). Solo en tal situación, el efecto individual de cada

variable sobre la respuesta coincide con su efecto marginal (al estudiarla en el conjunto de todas las variables), y cada g_i puede ser estimado según

$$\hat{g}_i = \frac{l_i' \tilde{w}^o}{l_i' l_i}. \quad (4.3.19)$$

Conviene destacar aquí que es el diseño experimental el que determina la estructura de la matriz L .

Si se verifica la hipótesis de normalidad para la perturbación, i.e.: $v \rightarrow N(0_N, \sigma_v^2 I_N)$, entonces el vector \hat{g} tiene una distribución normal k -dimensional que queda especificada por

$$\hat{g} \rightarrow N(g, \sigma_v^2 (L'L)^{-1}). \quad (4.3.20)$$

De aquí, se puede establecer la distribución de cada uno de los \hat{g}_i , que será

$$\hat{g}_i \rightarrow N(g_i, \sigma_v^2 q_{ii}). \quad (4.3.21)$$

En estas condiciones la distribución de confianza para g_i será una distribución t de Student centrada en \hat{g}_i y con factor de escala $\hat{\sigma}_v \sqrt{q_{ii}}$, de manera que

$$\hat{g}_i \pm t_{1-\alpha/2; N-k-1} \hat{\sigma}_v \sqrt{q_{ii}} \quad (4.3.22)$$

constituye un intervalo con un $(1-\alpha)\%$ de confianza para g_i (en donde $t_{1-\alpha/2; N-k-1}$ representa al percentil $(1-\alpha/2)$ de la distribución t de Student con $N-k-1$ grados de libertad). Así mismo, el contraste de la hipótesis $g_i = g_{i0}$, es inmediato a partir del estadístico pivote

$$t = \frac{\hat{g}_i - g_{i0}}{\hat{\sigma}_v \sqrt{q_{ii}}} \quad (4.3.23)$$

cuya distribución es la t de Student ya mencionada. Sin embargo, las expresiones (4.3.22) y (4.3.23) son adecuadas en la medida en que los coeficientes de \hat{g} sean independientes entre sí. Cuando $(L'L)^{-1}$ no es diagonal, es más procedente construir *regiones de confianza* para el conjunto de coordenadas de \hat{g} en lugar de *intervalos de confianza* para cada uno de sus componentes. Del mismo modo, se pueden realizar contrastes para el conjunto de los k parámetros, en lugar de hacerlo de forma individualizada para cada uno de ellos. En ambos casos, el principio teórico es el mismo y viene dado por la distribución del estadístico

$$F = \frac{(\hat{\mathbf{g}} - \mathbf{g})' (\mathbf{L}'\mathbf{L})^{-1} (\hat{\mathbf{g}} - \mathbf{g})}{k\hat{\sigma}_v^2} \quad (4.3.24)$$

como una F de Fisher con k y $N-k-1$ grados de libertad (aquí es importante destacar la independencia entre $\hat{\mathbf{g}}$ y $\hat{\sigma}_v^2$). Sin embargo, la región de confianza para \mathbf{g} es de poca utilidad práctica. Ésta se deduce al considerar los valores

$$F \leq F_{1-\alpha; (k+1; N-k-1)}$$

(para un $(1-\alpha)\%$ de confianza), lo que da lugar a una expresión del tipo $P(\mathbf{g}) \leq F_{1-\alpha; (k+1; N-k-1)}$, en donde $P(\mathbf{g})$ es un polinomio de grado k respecto a las componentes de \mathbf{g} .

De mayor interés es la posibilidad de realizar contrastes conjuntos sobre los órdenes cinéticos. De forma general, se puede contrastar la hipótesis nula $\mathbf{R}\mathbf{g}=\mathbf{r}$, en donde \mathbf{R} es una matriz con dimensiones $r \times k$ y \mathbf{r} un vector columna r -dimensional, a partir del estadístico

$$F = \frac{(\mathbf{R}\hat{\mathbf{g}} - \mathbf{r})' [\mathbf{R}(\mathbf{L}'\mathbf{L})^{-1}\mathbf{R}']^{-1} (\mathbf{R}\hat{\mathbf{g}} - \mathbf{r})}{r\hat{\sigma}_v^2} \quad (4.3.25)$$

que se distribuye, en caso de ser cierta la hipótesis nula $\mathbf{R}\mathbf{g}=\mathbf{r}$, como una $F_{r; N-k-1}$. La validez del método descansa en la independencia entre $\hat{\sigma}_v^2$ y $\hat{\mathbf{g}}$, las estimaciones especificadas para cada uno de ellos (4.3.15 y 4.3.20 respectivamente) y también, de que \mathbf{R} sea de rango r (considerando $r \leq k$). Esto último supone que el conjunto de restricciones a contrastar sea linealmente independiente. En particular, para contrastar $\mathbf{g}=\mathbf{g}_0$ deberán ser $\mathbf{R}=\mathbf{I}_k$ y $\mathbf{r}=\mathbf{g}_0$.

4.3.3. Inferencia sobre el valor de la velocidad de reacción

4.3.3.1.- Propiedades del estimador.- Para un valor concreto de las variables explicativas $l=l_t$, el valor de la velocidad pronosticado a partir del modelo (4.3.1) vendrá dado por

$$\hat{w}_t = \hat{w}_0 + l_t' \hat{\mathbf{g}} \quad (4.3.26)$$

en donde, como ya se ha indicado, se asume $\hat{w}_0 = \bar{w}$. Si se cumplen las hipótesis del teorema de Gauss-Markov, el estimador \hat{w}_t será insesgado con varianza

$$\text{Var}(\hat{w}_t) = \hat{\sigma}_v^2 \left(\frac{1}{N} + \mathbf{l}'_t (\mathbf{L}'\mathbf{L})^{-1} \mathbf{l}_t \right). \quad (4.3.27)$$

Es inmediato deducir de esta expresión un resultado por otra parte bien conocido (cf. Draper y Smith, 1981): que la mayor precisión al estimar w_t se obtiene en el punto $\mathbf{l}_t = \mathbf{0}$ (i.e. $\mathbf{y} = \mathbf{y}_0$). El error de estimación aumenta al considerar valores $\mathbf{l}_t \neq \mathbf{0}$, estando acotado, para las filas de \mathbf{L} por $\hat{\sigma}_v^2 / N \leq \text{Var}(\hat{w}_t) \leq \hat{\sigma}_v^2$ (cf. Draper y Smith, 1981).

Llamando $p_t = \mathbf{l}'_t (\mathbf{L}'\mathbf{L})^{-1} \mathbf{l}_t$, se puede escribir $\text{Var}(\hat{w}_t) = \hat{\sigma}_v^2 (1/N + p_t)$. Por otra parte, siempre que la distribución de $\hat{\mathbf{g}}$ sea normal, resultara que \hat{w}_t viene dado por una combinación lineal de variables normales y, por tanto, un intervalo de confianza para el valor medio de w cuando $\mathbf{l} = \mathbf{l}_t$, viene dado por

$$\text{IC}_\alpha(w_{(t)}) = \hat{w}_0 + \mathbf{l}'_t \hat{\mathbf{g}} \pm t_{1-\alpha/2; N-k-1} \hat{\sigma}_v \sqrt{(1/N) + p_t} \quad (4.3.28)$$

en donde $(1-\alpha)$ indica la confianza del intervalo y $t_{1-\alpha/2; N-k-1}$ es el percentil de la distribución t de Student ya introducido para la (4.3.22).

4.3.3.2.- Inferencia de la velocidad en términos de su escala original. Sobre la base de los resultados anteriores, la inferencia sobre los valores de la velocidad de reacción en su métrica original, es inmediata al considerar

$$\hat{v}_{(t)} = \exp(\hat{w}_0 + \mathbf{l}'_t \hat{\mathbf{g}}) \quad (4.3.29)$$

como estimación puntual del valor medio de v esperado para la velocidad, en función de un valor concreto $\mathbf{x}_{(t)}$ de las variables explicativas. De la (4.3.28) se deduce que el intervalo de confianza para $\hat{v}_{(t)}$ vendrá dado por

$$\text{IC}_\alpha(v_{(t)}) = \hat{v}_{(t)} e^{\left(t_{1-\alpha/2; N-k-1} \hat{\sigma}_v \sqrt{(1/N) + p_t} \right)}. \quad (4.3.30)$$

Debe notarse que la estructura heterocedástica del modelo, que quedaba (asumámoslo así) corregida por la transformación logarítmica, se reproduce al volver a considerar la escala original de las variables. Además, mientras que el intervalo (4.3.28) para w es simétrico, el (4.3.30) relativo a v no lo es.

Estas dos ideas quedan ilustradas en la figura (4.3.1), en donde se representan las *bandas de confianza* para el valor esperado de la velocidad —en coordenadas logarítmicas (a) y en coordenadas cartesianas (b)—, para el caso particular en que hay implicada una sola variable explicativa. La expresión que determina las bandas de confianza en el espacio donde se lleva a cabo el ajuste, es

$$IC[w] = \hat{w}_0 + \hat{g}l \pm \delta_\alpha(l) \tag{4.3.31}$$

en donde $\delta_\alpha(l)$ indica la precisión del pronóstico, para una confianza del $(1-\alpha)\%$, como función de la variable regresora l . Para un valor concreto $l = l_{(k)}$ dicha precisión viene dada por

$$\delta_\alpha(l_{(k)}) = t_{1-\alpha/2; N-2} \hat{\sigma}_v \sqrt{1 + \frac{1}{N} + \frac{l_{(k)}^2}{\sum_l l_{(l)}^2}} \tag{4.3.32}$$

El intervalo definido por $\hat{w} \pm \delta_\alpha(l)$ es simétrico respecto al valor esperado \hat{w} . Sin embargo, no ocurre así al considerar las bandas de confianza para el valor esperado de v , puesto que la expresión (4.3.31) se transforma en

$$IC[v] = \exp(\hat{w}_0) X^{\hat{g}} \exp[\pm \delta_\alpha(l)] \tag{4.3.33}$$

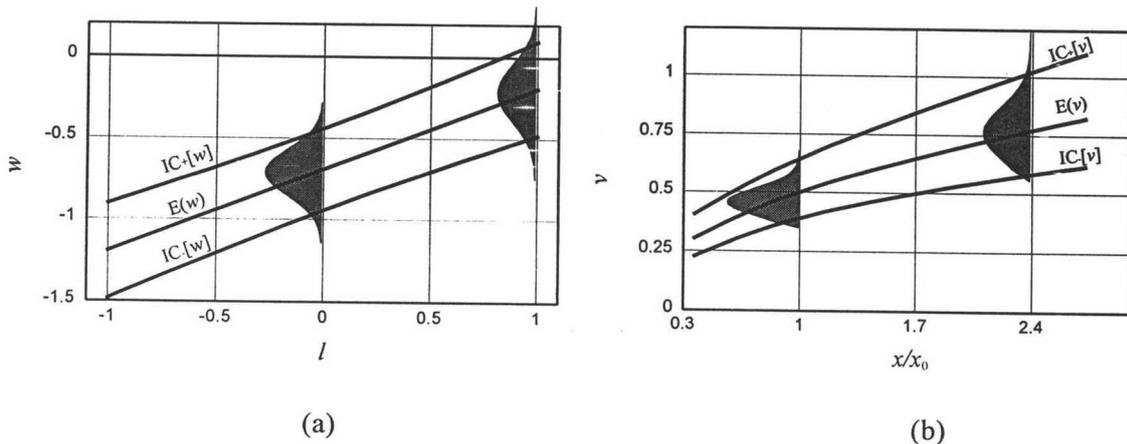


Figura 4.3.1.- Bandas de confianza para la estimación del valor esperado de v . (a) en coordenadas logarítmicas suponiendo la distribución del error v normal. (b) en coordenadas cartesianas, suponiendo una distribución lognormal para el error ε . (IC_- e IC_+ indican, respectivamente, los límites inferior y superior de las expresiones (4.3.31) para (a) y (4.3.33) en (b).

Una puntualización oportuna es la siguiente. Suponiendo que el error tiene distribución normal al considerar la escala logarítmica, entonces, en la escala cartesiana deja de ser esa la distribución de la perturbación aleatoria. Consecuentemente, la falta de normalidad indicada por Storer *et al.* (1975) o por

Henderson (1993) (cf. con el apartado 4.2.1.2), respecto a los datos procedentes del análisis cinético, podría ser coherente con la hipótesis de lognormalidad. Debe tenerse en cuenta, que la distribución lognormal no es simétrica, dependiendo su sesgo de los parámetros que caractericen la distribución (véase Johnson *et al.*, 1995).

Por otra parte, en caso de lognormalidad de ε , la estimación del modelo debe hacerse por la vía de su transformación logarítmica, ya que el ajuste directo dará lugar, en general, a estimadores sesgados. Para concretar esta idea, considérese que el error υ , asociado al modelo en el espacio doble logarítmico, tiene por distribución una $N(\mathbf{0}_N, \sigma_\upsilon \mathbf{I}_N)$. Entonces, el error ε asociado a la representación cartesiana, tendrá una distribución de probabilidad lognormal con características (Johnson *et al.*, 1995):

$$E(\varepsilon_{(t)}) = \exp(\sigma_\upsilon^2/2) \text{ y } \text{Var}(\varepsilon_{(t)}) = \exp(\sigma_\upsilon^2) [\exp(\sigma_\upsilon^2) - 1]. \quad (4.3.34)$$

Si el modelo es el asumido en el apartado 4.2.1.1., i.e.

$$v_{\text{PLI}(t)} = \left[v_0 \prod_{j=1}^k X_{j(t)}^{g_j} \right] \cdot \varepsilon_{(t)} \quad (4.3.35)$$

entonces, la esperanza de v_{PLI} vendrá dada por

$$E(v_{\text{PLI}}) = \left[v_0 \prod_{j=1}^k X_j^{g_j} \right] \cdot \exp(\sigma_\upsilon^2/2). \quad (4.3.36)$$

Según este razonamiento, la predicción

$$\hat{v}_{\text{PLI}} = \left[\exp(\hat{w}_0) \prod_{j=1}^k X_j^{\hat{g}_j} \right] \quad (4.3.37)$$

será sesgada con sesgo proporcional a la varianza de υ (este sesgo es al margen del intrínseco a la aproximación).

4.3.3.3.- Una consecuencia del indeterminismo del flujo. Supóngase ahora un sistema de tamaño r , en el que los parámetros se han estimado —en el sentido inferencial del término— a partir de observaciones muestrales, de manera que para cada estimador se dispone de una medida de su dispersión. Entonces, el flujo asociado a cada etapa de velocidad resulta ser una variable aleatoria, puesto que los parámetros que lo determinan son esencialmente desconocidos y, en su lugar,

se utilizan ciertas funciones de la información disponible, que son los estimadores.

Además, que esto sea así no depende ni del método de estimación ni de las hipótesis sobre las que se construya el modelo. La aleatoriedad del flujo se debe, únicamente, al hecho de considerar que los parámetros implicados en el modelo nunca podrán ser conocidos sino, a lo sumo, inferidos.

En términos del análisis dinámico, este indeterminismo implica que, en lugar de tratar con soluciones individuales, lo que debería considerarse es un conjunto de ellas, ya que lo más que se puede decir es que el valor de cada flujo (o mejor, de su logaritmo) está recogido, en el mejor de los casos, por un intervalo $\hat{w} \pm \delta_\alpha(l)$ al que se otorga cierta confianza. Por tanto, lo lógico sería considerar no una, sino *todas* las soluciones correspondientes a dicho intervalo. Intuitivamente, esto se traduce en que la variación de la velocidad en función de las variables que intervienen, debería tratarse, no como una curva, sino más bien como una banda (cf. con la figura 4.3.1).

Esto tiene una consecuencia inmediata si reparamos en la forma en que se determina el estado estacionario. Los valores de estado estacionario se obtienen como los puntos fijos del sistema de ecuaciones diferenciales que constituye el modelo dinámico. Como ya se sabe, la obtención analítica de los puntos fijos supone resolver el sistema de ecuaciones (algebraicas) dado por la condición $\dot{x} = 0$. Para fijar ideas, centremos la atención en la caracterización del estado estacionario de una sola variable x , cuya dinámica viene descrita por

$$\dot{x} = v^+(x) - v^-(x).$$

Suponemos, claro está, que las funciones están bien definidas y que el punto invariante de flujo existe, y por simplificar, que es único. En coordenadas logarítmicas, la condición de estado estacionario supone $w^+(x) = w^-(x)$, de manera que la intersección de las funciones w^+ y w^- permite determinar cuál es el valor de x que verifica $\dot{x} = 0$ (por estar en el espacio logarítmico designemos por l_0 a dicho punto). Sin embargo, tanto los valores asumidos para w^+ como los asumidos para w^- no son sino representantes del conjunto de valores que supuestamente se pueden tomar. Dicho de otra manera, si hay implicado un proceso de inferencia a partir del cual se estiman los parámetros que determinan a cada etapa de velocidad, una posibilidad será asumir como valor de w^+ y de w^- , al valor esperado de sus correspondientes estimadores, esto es: $E(\hat{w}^+)$ y $E(\hat{w}^-)$. Sin embargo, si lo que se consideran son los límites de confianza de cada estimador, dados por $IC_\alpha(\hat{w}^+)$ e $IC_\alpha(\hat{w}^-)$, la intersección de las dos bandas genera ahora un recinto, digamos R_l , en donde quedará definida una distribución de probabilidad para la localización del punto l_0 en el que se verifica $dl/dt=0$ (figura 4.3.2).

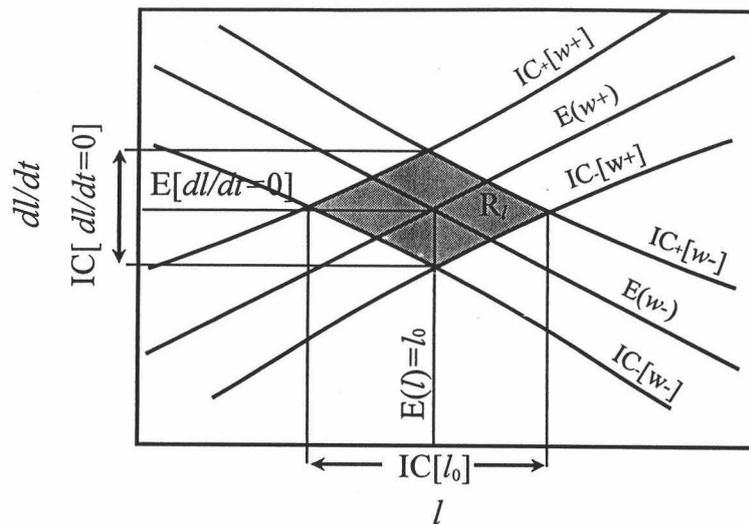


Figura 4.3.2.- Indeterminación del estado estacionario. Se ha esquematizado una situación en donde la variación de una variable l viene dada por dos funciones w^+ y w^- en coordenadas logarítmicas. La condición de estado estacionario se verifica cuando $w^+=w^-$. Si los valores de velocidad están sujetos a error, el punto en donde se cortan w^+ y w^- será también una variable aleatoria.

Intuitivamente, es fácil extender lo expuesto para una sola variable al conjunto de todo el sistema. Ahora, en el espacio de fases, ya no se tendrá un punto representativo del estado estacionario, lo más que se puede conocer es una región de confianza para la localización de dicho punto. Del mismo modo, una trayectoria en el espacio de fases deberá entenderse como un *tubo*, en lugar de una curva. Parece razonable que este punto de vista tenga sus consecuencias en lo referente a la estabilidad del sistema.

Por una parte, la estabilidad del modelo estimado estará condicionada en cierta medida por las condiciones de su estimación. En líneas generales, el modelo estimado será localmente estable siempre que la región de confianza, para la trayectoria degenerada que constituye el estado estacionario, no admita la posibilidad de un cambio cualitativo en la dinámica del sistema, es decir, de una bifurcación. Se trata pues, de que en toda la región de confianza constituya una cuenca de atracción relativa al punto fijo, que actúa como atractor. En este sentido, la posible inestabilidad del modelo formal viene dada por su indeterminación.

Por otra parte, la propia naturaleza del modelo dinámico, condiciona la forma en que va influir el error. Para apreciarlo, supongamos un modelo dinámico M de referencia, que representa de forma ideal a un sistema real, y un modelo M' que es una aproximación a M en la que están implicados errores de

naturaleza aleatoria ε que son debidos a las imprecisiones experimentales, de cálculo, etc.

Si M es estable (en el sentido de Poincaré; cf. Hirsch y Smale, 1974, o Nicolis y Prigogine, 1997), las trayectorias definidas por M y M' a partir de una condición inicial dada, se mantendrán próximas siempre que ε sea suficientemente pequeño. Por tanto, asumir M' , en lugar de M , es una aproximación aceptable.

Si M es asintóticamente estable, la separación entre las trayectorias descritas por M y M' disminuye y tiende a cero. El comportamiento de M' será, de manera asintótica, el mismo que el de M .

Sin embargo, si M es inestable, asumir M' en su lugar no será, en general, aceptable por pequeño que sea el error. Para toda trayectoria dada de M , hay trayectorias arbitrariamente próximas que se separan de ella.

Precisamente, en la BST se utiliza la estabilidad del modelo como un criterio para su evaluación (cf. Shiraishi y Savageau, 1992a,b,c,d; Ni y Savageau, 1996a; Torres *et al.*, 1993). Por otra parte, en los mismos términos que viene dada la falta de estabilidad, puede venir dada la sensibilidad fuerte a las condiciones iniciales o a los parámetros. En los dos casos, el origen puede estar en una amplificación de los errores.

Una observación final, es hacer notar que el error experimental constituye una fuente de variación en los valores asumidos para los parámetros, que se debe sumar a las que se consideran, de manera clásica y desde un punto de vista puramente teórico, en la BST (estas son, por ejemplo, las causas de tipo genético o de tipo ambiental; cf. Savageau, 1976).

4.3.4. Errores en el modelo

Puesto que el modelo lineal se establece en base a unos principios, lógicamente, su validez descansa en el cumplimiento de esas hipótesis.

El cumplimiento de los supuestos básicos se puede contrastar mediante una gama muy variada de pruebas estadísticas, cada una con sus peculiaridades que las hacen atractivas desde algún punto de vista en particular. Los métodos gráficos suelen resultar muy eficaces y de gran valor intuitivo, viniendo implementados de manera variada en todos los paquetes (*software*) estadísticos. De manera concisa, el análisis gráfico supone la detección y justificación, en base a las hipótesis subyacentes, de patrones de distribución o de tendencias, en diferentes tipos de diagramas, especialmente aquellos donde se representan los valores residuales frente a los valores estimados, a las variables independientes, a la secuencia temporal de experimentación, etc. (véase Cook y Weisberg, 1982, o Atkinson, 1985, para una revisión exhaustiva). A continuación se hacen algunas

consideraciones sobre las consecuencias del incumplimiento de alguna de las hipótesis.

Ya se ha visto que la transformación logarítmica puede resultar apropiada para regularizar la variabilidad de las distribuciones condicionadas de la velocidad de reacción frente a valores fijos de las variables explicativas. De acuerdo con la revisión del apartado 4.2.1.2, parece razonable otorgar a la respuesta considerada, una estructura heterocedástica, en sentido genérico, en su escala original. Por otra parte, si este supuesto no es adecuado, el tratamiento del formalismo de la ley potencial como un modelo intrínsecamente lineal, puede ser incorrecto (cf. Draper y Smith, 1981, cap. 10 y lo expuesto en el apartado 4.2).

Esto nos lleva a concluir, que la falta de homocedasticidad en el espacio doble logarítmico, puede ser mas una indicación de lo inadecuado de considerar el formalismo de la ley potencial como un modelo intrínsecamente lineal, que el hecho de que la matriz de varianzas sea no escalar, y abordar el problema mediante mínimos cuadrados generalizados.

Por otra parte, que la esperanza matemática del error sea nula, es algo que suele no cumplirse cuando existen observaciones tomadas en condiciones heterogéneas con el resto (Peña, 1989). Por ejemplo, si el valor esperado del error no es cero, la estimación de la ordenada en el origen de un modelo lineal suele ser sesgada (Gujarati, 1990). La situación se agrava cuando el valor esperado de la perturbación varía con las posibles submuestras correspondientes a la replicación del experimento. En este caso, la estimación de los coeficientes de regresión es sesgada e *inconsistente* (Schmidt, 1976).

En cuanto a la normalidad, el teorema de Gauss-Markov establece que los estimadores mínimo cuadráticos son los mejores estimadores lineales insesgados, en el sentido de que tienen varianza mínima, independientemente que la distribución de la perturbación aleatoria sea normal o no. Por otra parte, siempre que las perturbaciones estén distribuidas de forma independiente e idéntica, con esperanza nula y varianza constante, y contando con que las variables explicativas sean variables *matemáticas* (no aleatorias), los estimadores de los coeficientes de mínimos cuadrados van a tener una distribución de probabilidad asintóticamente normal¹ (Theil, 1978). Sin embargo, el carácter asintótico es relativo a muestras de tamaño grande, lo que supone que la normalidad de las perturbaciones va a ser fundamental de cara a la elaboración de estimaciones basadas en muestras de pequeño tamaño.

Queda por considerar un supuesto fundamental para garantizar la validez del modelo, que es la verificación de la hipótesis estructural. En general, cuando se utiliza un modelo lineal para representar una relación intrínsecamente no

¹ Nótese que los supuestos de que el regresor sea fijo y de que la varianza sea constante son cruciales para este resultado, que es una extensión del teorema central del límite (Gujarati, 1990).

lineal, no se puede garantizar que los estimadores obtenidos sean centrados. Además, la falta de linealidad también repercute en la eficiencia, ya que las características y la distribución del estimador de la varianza del error se establecen basándose en esta hipótesis. A continuación se trata con más detalle este aspecto.

4.3.4.1.- Errores de especificación. Planteamiento general del problema. El incumplimiento de la hipótesis estructural es un caso particular de un tipo más general de error que se conoce como *error de especificación* (Peña, 1989). Un error de especificación consiste en establecer una dependencia errónea de la respuesta en función de las variables explicativas. Básicamente hay tres tipos de errores de especificación: la omisión de variables relevantes, la inclusión de variables innecesarias y suponer una relación lineal cuando la dependencia es de tipo no lineal.

Un error de especificación aparece cuando se considera el modelo

$$\tilde{w}^{\circ} = \mathbf{L}_1 \mathbf{g}_1 + v \quad (4.3.38)$$

y, sin embargo, el modelo que debería haberse planteado es

$$\tilde{w}^{\circ} = \mathbf{L}_1 \mathbf{g}_1 + \mathbf{L}_2 \mathbf{g}_2 + v. \quad (4.3.39)$$

Al realizar el ajuste de los parámetros, el modelo (4.3.38) supone que

$$\hat{\mathbf{g}}_1 = (\mathbf{L}'_1 \mathbf{L}_1)^{-1} \mathbf{L}'_1 \tilde{w}^{\circ} \quad (4.3.40)$$

sin embargo, según el modelo (4.3.39)

$$E(\hat{\mathbf{g}}_1) = (\mathbf{L}'_1 \mathbf{L}_1)^{-1} \mathbf{L}'_1 E(\tilde{w}^{\circ}) \quad (4.3.41)$$

por tanto, definiendo la matriz

$$\mathbf{A} = (\mathbf{L}'_1 \mathbf{L}_1)^{-1} \mathbf{L}'_1 \mathbf{L}_2, \quad (4.3.42)$$

se tiene

$$E(\hat{\mathbf{g}}_1) = \mathbf{g}_1 + \mathbf{A} \mathbf{g}_2 \quad (4.3.43)$$

La matriz \mathbf{A} es denominada matriz de *alias* o de *sesgo*, y si $\mathbf{L}_2 \neq \mathbf{0}$, \mathbf{A} solo puede anularse cuando cada una de las columnas de \mathbf{L}_1 sea ortogonal a cada una de las columnas de \mathbf{L}_2 .

Este planteamiento general permite caracterizar, de forma inmediata, el efecto que tiene la omisión de variables influyentes ($=L_2$). De no ser L_1 y L_2 ortogonales, la (4.3.43) implica que los estimadores \hat{g}_1 serán sesgados. Sin embargo, aún en el caso de que se de esta relación de ortogonalidad, las estimaciones de las varianzas serán siempre sesgadas, tanto en lo referente a las varianzas de \hat{g}_1 como a la varianza del error $\hat{\sigma}_v^2$ (cf. Peña, 1989).

Del mismo modo, este planteamiento permite caracterizar lo que ocurre cuando se da una falta de ajuste en el modelo, esto es, se especifica un modelo lineal cuando la relación observada entre las variables explicativas y la respuesta no lo es. Si el ajuste se aborda mediante diseño experimental (que es siempre lo recomendable), la especificación del modelo lineal supone que en las columnas de L_1 en la (4.3.38), son los valores de las variables explicativas y se están ignorando las columnas correspondientes a los términos cuadráticos y de interacción, que constituirán L_2 . Al final de este capítulo, en el apartado 5.6, se abordará con mas detalle este aspecto. Baste por lo pronto, con indicar que la falta de ajuste se traduce en que los estimadores \hat{g}_1 son sesgados y que las varianzas estimadas no son correctas (Peña, 1989).

4.3.4.2.- Indeterminismo de las variables regresoras. Una hipótesis básica de los modelos de regresión es que las variables explicativas son *variables matemáticas* (no aleatorias), y que solo las medidas de velocidad de reacción están sujetas a error experimental.

Sin embargo, en el ámbito experimental en que nos situamos, un supuesto mas realista debe ser aquél que contemple la posibilidad de que las variables explicativas tengan cierta carga aleatoria. El hecho de fijar la concentración de un determinado intermediario en un nivel concreto, pasa —inevitablemente—, por un proceso de medida. Por tanto, también aquí está presente el error experimental.

En tal tipo de situación, la variable observable no es la variable matemática x_i , sino la variable aleatoria $x'_i = x_i + \varepsilon_{x_i}$, cuya indeterminación se debe a la presencia del término ε_{x_i} que representa el error experimental.

Si además, la estimación de los parámetros se hace utilizando como variables regresoras a las $l_i = \ln(x_i/x_{i0})$, entonces las fuentes de error pueden ser dos: las medidas de x_i y las medidas de x_{i0} . Es necesario entonces, comenzar por caracterizar la forma en que se transmite el error de las variables primarias x_i y x_{i0} al regresor l_i .

Ya ha sido introducida la variable aleatoria ε_{x_i} , que representa el error asociado a x_i . Procediendo de forma análoga respecto a x_{i0} , se puede definir su

carga aleatoria en términos de la variable $\varepsilon_{x_{i0}}$. En tal caso, x_{i0} deja de ser una variable observable y en su lugar se tienen observaciones de la variable aleatoria $x'_{i0} = x_{i0} + \varepsilon_{x_{i0}}$. Consecuentemente, los valores asumidos para l_i vendrán afectados por los dos tipos de error, de forma que en lugar de observar l_i se observa

$$l'_i = \ln\left(\frac{x_i + \varepsilon_{x_i}}{x_{i0} + \varepsilon_{x_{i0}}}\right). \quad (4.3.44)$$

Supondremos que $E(\varepsilon_{x_i}) = E(\varepsilon_{x_{i0}}) = 0$ y, sin que suponga una pérdida de la generalidad, que $E(\varepsilon_{x_i} \varepsilon_{x_{i0}}) = 0$, de manera que los errores entre la variable original y su valor nominal se consideran incorrelados. Para caracterizar la variación que representa l'_i respecto a l_i , se puede aproximar (4.3.44) mediante los dos primeros términos del desarrollo en serie de Taylor¹, lo que da lugar a

$$l'_i \cong l_i + \left(\frac{\varepsilon_{x_i}}{x_i} - \frac{\varepsilon_{x_{i0}}}{x_{i0}}\right). \quad (4.3.45)$$

Llamando

$$\delta_{l_i} = \frac{\varepsilon_{x_i}}{x_i} - \frac{\varepsilon_{x_{i0}}}{x_{i0}} \quad (4.3.46)$$

se puede expresar finalmente:

$$l'_i \cong l_i + \delta_{l_i} \quad (4.3.47)$$

La calidad de esta aproximación es notable, dado que, por un lado, cabe esperar que los ε , al tratarse de errores de medida, tengan una magnitud baja en relación con las x . Por otro lado, es inmediato comprobar la irrelevancia del término de segundo grado de la serie.

Según las expresiones (4.3.46) y (4.3.47), si los errores para x_i y x_{i0} tienen esperanza nula, entonces también se verifica $E(\delta_{l_i}) = 0$ y, por tanto, $E(l'_i) = l_i$. Por otra parte, la varianza de l'_i resulta ser la suma de los cuadrados de los coeficientes de variación de las variables aleatorias x'_i y x'_{i0} , ya que se tiene:

$$\text{Var}(l'_i) = E(\delta_{l_i}^2) = \left(\frac{\sigma_{x_i}}{x_i}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_{x_{i0}}}{x_{i0}}\right)^2 \quad (4.3.48)$$

¹ Los detalles de este método serán presentados con detalle en el apartado 3.5

Una vez caracterizada la aleatoriedad de l'_i en términos de sus componentes, volvamos a considerar el problema del error en el regresor al estimar los componentes de \mathbf{g} según el modelo genérico

$$w_{\text{PLI}} = w_0 + g_1 l_1 + \dots + g_k l_k + v. \quad (4.3.49)$$

De la relación $l_i = l'_i - \delta_i$, se deduce

$$w_{\text{PLI}} = w_0 + g_1 (l'_1 - \delta_{l_1}) + \dots + g_k (l'_k - \delta_{l_k}) + v \quad (4.3.50)$$

de forma que definiendo $v' = v - (g_1 \delta_{l_1} + \dots + g_k \delta_{l_k})$, el modelo resulta ser

$$w_{\text{PLI}} = w_0 + g_1 l'_1 + \dots + g_k l'_k + v' \quad (4.3.51)$$

El problema que surge aquí es que los regresores l'_i no son independientes del término de error v' , resultando que bajo las hipótesis $E(\delta_i v) = 0$ para cualquier $i=1, \dots, k$ y $E(\delta_{l_i} \delta_{l_j}) = 0$ para cualesquiera $i \neq j$, se tiene

$$\text{Cov}(l'_i, v') = E \left[(l_i + \delta_{l_i}) \left(v - \sum_i g_i \delta_{l_i} \right) \right] = -g_i \sigma_{l_i}^2 \quad (4.3.52)$$

en estas condiciones, la estimación de \mathbf{g} mediante mínimos cuadrados puede presentar sesgo asintótico, de manera que por mucho que se aumente el tamaño muestral, no esta asegurada la convergencia de $\hat{\mathbf{g}}$ al verdadero vector \mathbf{g} . Consecuentemente, el hecho de que los regresores presenten error de medida, resulta ser un problema grave de cara a la estimación de parámetros, ya que la base teórica que permite caracterizar las propiedades de los estimadores mínimo cuadráticos se pierde.

El problema no resulta trivial, y es necesario establecer supuestos que permitan hacerlo abordable en términos de situaciones concretas. Un tipo de aproximación viene dada al suponer alguna relación entre la magnitud relativa de la varianza de los regresores respecto a la varianza de la respuesta (Kendall y Stuart, 1979). Otro tipo de aproximación es el *método de la variable independiente controlada*, propuesto por Berkson y considerado en detalle por Graybill (1961) y por Kendall y Stuart (1979).

La aproximación de la variable independiente controlada es de especial utilidad al caso de los ensayos de cinética enzimática. La idea es la siguiente: asumiendo la relación

$$w_{\text{PLI}} = w_0 + l' \mathbf{g} + v \quad (4.3.53)$$

4.3. El formalismo PL1 como modelo de regresión lineal

y suponiendo que el error en w_{PL1} solo se debe al error experimental (no se considera aquí el posible sesgo), entonces la aleatoriedad de la respuesta viene dada por $w_{PL1} = w + v$.

Fijando los valores de los regresores, digamos a l_{i0} (para $i=1, \dots, k$), a los que se va a medir la respuesta w , se induce que las l'_i tengan carácter de variable matemática (por ser cada $l'_i = l_{i0}$) de forma que la relación (4.3.47) obliga a l_i a asumir el papel de variable aleatoria. Si ahora se expresa la (4.3.53) en términos de la (4.3.47), se tiene

$$w_{PL1} - v = w_0 + g_1(l_{10} - \delta_{l_1}) + \dots + g_k(l_{k0} - \delta_{l_k}) \quad (4.3.48)$$

resultando entonces la relación

$$w_{PL1} = w_0 + g_1 l_{10} + \dots + g_k l_{k0} + v - g_1 \delta_{l_1} - \dots - g_k \delta_{l_k} \quad (4.3.49)$$

que constituye un modelo de regresión en donde se ha eliminado la dependencia entre los regresores y el término de error, pues los l_{i0} son valores prefijados. Expresando el error de este modelo como

$$v^* = v - g_1 \delta_{l_1} - \dots - g_k \delta_{l_k} \quad (4.3.50)$$

se obtiene

$$w_{PL1} = w_0 + l'_0 g + v^* \quad (4.3.51)$$

Aquí, la estimación de los parámetros se puede hacer según el criterio de mínimos cuadrados ordinarios, siendo válidas las expresiones que permiten elaborar inferencias. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la varianza de la respuesta será

$$\text{Var}(w) = \sigma_v^2 + \sum_i g_i^2 \sigma_{l_i}^2.$$

4.4 Una aproximación a la propagación del error en las estimaciones analíticas

A la vista de sus casi 30 años de desarrollo, no es aventurado afirmar que el método en la BST es completamente analítico. A partir de un elemento de la teoría se deducen otros mediante la consideración de relaciones formales o a través de procedimientos de cálculo. Sin embargo, desde un punto de vista empírico, ha de tenerse en cuenta la (incuestionable) incertidumbre que afecta a aquellos valores que sean producto de la observación, así como el hecho de que las operaciones matemáticas en general, con números inciertos, dan lugar a resultados también inciertos.

Por tanto, hay un principio que debería estar siempre presente en la mente del investigador: en la medida que un estudio se aleja de la exactitud formal, propia de la abstracción teórica, para pasar a un ámbito empírico (impreciso por definición), habrá que sustituir el concepto de *verdadero valor* —que el teórico asume tácitamente en su método analítico—, por el de *mejor valor* que se puede deducir a partir de una situación experimental concreta. Este apartado se dedica al estudio de la propagación de errores.

4.4.1. Aproximación al valor medio y a la varianza de una función de k variables.

Un resultado básico para el estadístico, es que cuando la incertidumbre de una medida viene expresada en términos de su desviación típica, una función lineal de esa medida tiene por error al cuadrado del factor de escala. También es elemental que, dadas dos variables aleatorias, digamos x e y , la desviación típica que resulta de su combinación lineal $z=ax+by$ (con a y b constantes) viene dada por

$$S_z = \sqrt{a^2 S_x^2 + b^2 S_y^2 + ab S_{xy}}$$

(véase cualquier tratado general de Estadística, por ejemplo, Martín y Luna, 1989 o Peña, 1992). Sin embargo, cuando la función de las variables aleatorias es no lineal, la caracterización de su error no es inmediata. Formalmente, lo adecuado es estudiar la distribución de probabilidad que caracteriza a la función considerada. En principio, esto requiere del conocimiento preciso de la distribución de probabilidad de cada uno de los argumentos de la función considerada. Sin embargo, cuando la función es no lineal, con frecuencia ocurre que el problema siga siendo excesivamente complejo, de manera que es preferible recurrir a algún tipo de aproximación.

Un método de aproximación descansa, como no podía ser menos, en el teorema de Taylor. En general, este tipo de aproximaciones dan buenos

resultados, aunque el problema es que no siempre son factibles, tal y como se verá mas adelante. En este apartado se hará un estudio del método y de sus posibilidades, ampliando las consideraciones hechas por Sánchez del Río (1989) y Peña (1992) que son las referencias utilizadas.

4.4.1.1.- Método de Taylor para caracterizar los momentos de una función de variables aleatorias. Sea $f = f(\mathbf{x})$ una función cualquiera en donde \mathbf{x} es el vector de variables $(x_1, \dots, x_k)^t$. Si se asume que las desviaciones respecto a la media por parte de cada variable son suficientemente pequeñas, el valor de f en el punto $\mathbf{x}=\mathbf{x}_j$ puede ser aproximado por un desarrollo en serie de Taylor hasta el primer término; i.e.:

$$f(\mathbf{x}_j) \cong f_j = f(\bar{\mathbf{x}}) + \sum_{i=1}^k \left[\frac{\partial f(\mathbf{x})}{\partial x_i} \Big|_{\mathbf{x}=\bar{\mathbf{x}}} (x_{ij} - \bar{x}_i) \right] \quad (4.4.1)$$

De aquí, es inmediato obtener la aproximación al promedio de f , que vendrá dada por

$$\bar{f} \cong \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N f_j = f(\bar{\mathbf{x}}). \quad (4.4.2)$$

De manera análoga, se puede aproximar la varianza muestral de f al considerar

$$S_f^2 \cong \frac{1}{N} \left[\sum_{j=1}^N f_j^2 - N \bar{f}^2 \right]. \quad (4.4.3)$$

Llamando a la derivada parcial de f respecto a cada una de las variables como

$$f'_i = \frac{\partial f(\mathbf{x})}{\partial x_i} \Big|_{\mathbf{x}=\bar{\mathbf{x}}}, \quad (4.4.4)$$

y definiendo el vector de desviaciones respecto a la media

$$\tilde{\mathbf{X}}_j = \begin{pmatrix} x_{1j} - \bar{x}_1 \\ \vdots \\ x_{kj} - \bar{x}_k \end{pmatrix}$$

4.4. Una aproximación a la propagación del error en las estimaciones analíticas

que permite definir la matriz $\Xi_j = \tilde{\mathbf{X}}_j \tilde{\mathbf{X}}_j'$ (de dimensión $k \times k$), la suma de cuadrados de (4.4.3) se puede expresar matricialmente como

$$\sum_{j=1}^N f_j^2 = N \bar{f}^2 + \mathbf{D}'(f) \Xi_j \mathbf{D}(f), \quad (4.4.5)$$

en donde $\mathbf{D}(f)$ es la jacobiana de la función f . A partir de esta expresión es inmediato escribir

$$S_f^2 \cong \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \mathbf{D}'(f) \Xi_j \mathbf{D}(f), \quad (4.4.6)$$

cuyo desarrollo da lugar a

$$S_f^2 \cong \sum_{i=1}^k (f'_i)^2 S_{x_i}^2 + 2 \sum_{i < j} f'_i f'_j S_{x_i x_j} \quad (4.4.7)$$

siendo $S_{x_i x_j}$ la covarianza entre las variables x_i y x_j . Esta expresión es válida siempre que f sea monótona respecto a todos sus argumentos, ya que en caso contrario, la presencia de un extremo condicionado en la función supone la anulación de alguna de las derivadas f'_i . En el apartado siguiente (4.4.2.1) se verá un caso particular donde esto ocurre. Por el momento, suponiendo que ninguna f'_i se anula en la región de interés, la expresión (4.4.7) se puede escribir, de forma matricial, como

$$S_f^2 \cong \mathbf{D}(f) \mathbf{S} \mathbf{D}'(f) \quad (4.4.8)$$

siendo \mathbf{S} la matriz simétrica de varianzas y covarianzas relativas al conjunto de variables:

$$\mathbf{S} = \begin{pmatrix} S_{x_1}^2 & \cdots & S_{x_1, x_k} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ S_{x_1, x_k} & \cdots & S_{x_k}^2 \end{pmatrix}.$$

A menudo, el manejo de las covarianzas genera expresiones poco útiles por su excesiva complejidad. En tales situaciones se puede considerar una aproximación conservadora a (4.4.7), que es la dada por la relación

$$S_f \leq \sum_{i=1}^k |f'_i| S_{x_i}, \quad (4.4.9)$$

cuya demostración es la siguiente. Dado que

$$|S_{x_i, x_j}| \leq S_{x_i} S_{x_j}, \quad (1) \quad (4.4.10)$$

entonces se verifica

$$\sum_{i < j} f_i' f_j' S_{x_i x_j} \leq \sum_{i < j} |f_i'| |f_j'| S_{x_i} S_{x_j} \quad (4.4.11)$$

y, por tanto,

$$S_f^2 \leq \sum_{i=1}^k (f_i')^2 S_{x_i}^2 + 2 \sum_{i < j} |f_i'| |f_j'| S_{x_i} S_{x_j} = \left[\sum_{i=1}^k |f_i'| S_{x_i} \right]^2 \quad (4.4.12)$$

pudiendo deducir así la (4.4.8).

Como se ha indicado, la aproximación es conservadora y sobrestima a S_f , pero en contrapartida es siempre válida, sin importar la distribución de las variables y aunque estas no sean independientes.

4.4.1.2.- Un ejemplo: propagación del error de \hat{k}_m y \hat{x}_0 a \hat{g}_1 y \hat{g}_2 respecto a una cinética michaeliana. Una práctica que resulta habitual en la BST, es utilizar datos tomados de las fuentes bibliográficas para *calcular* (y no *estimar*) los parámetros implicados en el formalismo de la ley potencial. En este trabajo ya se ha hecho alusión a lo poco adecuado que puede resultar el método. Sobre todo, habida cuenta de que en muchas de las fuentes bibliográficas de donde proceden los datos considerados, no se da más que un valor puntual del valor del parámetro cinético considerado. Por tanto, un primer problema es que no se conoce la precisión con que el parámetro, que podríamos llamar *primario*, ha sido obtenido.

Esto ya representa una primera fuente de error. Otra, viene dada por lo adecuado que pueda ser el modelo considerado y las variables que en el se

¹ Esta desigualdad no es otra que la de Cauchy-Schwarz. Para comprobarlo basta con considerar para cada variable el vector \tilde{X}_i de desviaciones a la media y observar que

$$NS_{x_i}^2 = \langle \tilde{X}_i, \tilde{X}_i \rangle \quad \text{y} \quad NS_{x_i, x_j} = \langle \tilde{X}_i, \tilde{X}_j \rangle,$$

de manera que la desigualdad

$$|\langle \tilde{X}_i, \tilde{X}_j \rangle| \leq \langle \tilde{X}_i, \tilde{X}_i \rangle^{1/2} \langle \tilde{X}_j, \tilde{X}_j \rangle^{1/2}$$

equivale a la indicada.

4.4. Una aproximación a la propagación del error en las estimaciones analíticas

contemplan. Asumamos que esto último no ocurre y que el modelo mecanicista que se esté considerando resulta adecuado. Si el error de estimación de los parámetros primarios es conocido, la aproximación de Taylor presentada anteriormente permite obtener una estimación del error con que se calculan los parámetros implicados en el formalismo de la ley potencial.

Para ilustrar esta idea, considérese una cinética de tipo hiperbólico en donde se implica a una sola variable de concentración (la extensión a otros casos resulta inmediata).

La expresión analítica a partir de la cual se obtiene el orden cinético aparente es

$$\hat{g}_1 = \hat{k}_m / (\hat{k}_m + \hat{x}_0) \quad (4.4.13)$$

en donde se considera, como caso mas general, que el valor asumido para x_0 es también una estimación. Si se representa mediante $\varepsilon_{\hat{k}_m}$ y $\varepsilon_{\hat{x}_0}$ el error relativo de estos estimadores, su varianza se puede expresar, respectivamente, como

$$S_{\hat{k}_m}^2 = (\varepsilon_{\hat{k}_m} \hat{k}_m)^2 \quad (4.4.14)$$

$$S_{\hat{x}_0}^2 = (\varepsilon_{\hat{x}_0} \hat{x}_0)^2$$

Las derivadas parciales de la función que define a g_1 son

$$\frac{\partial g_1}{\partial k_m} = \frac{x_0}{(k_m + x_0)^2} \quad (4.4.15)$$

$$\frac{\partial g_1}{\partial x_0} = -\frac{k_m}{(k_m + x_0)^2}$$

de manera que aplicando la (4.4.7) bajo la suposición de independencia entre los estimadores de k_m y de x_0 , se tiene

$$S_{\hat{g}_1}^2 \cong \frac{(\varepsilon_{\hat{k}_m}^2 + \varepsilon_{\hat{x}_0}^2) \hat{k}_m^2 \hat{x}_0^2}{(\hat{k}_m + \hat{x}_0)^4} \quad (4.4.16)$$

que indica la forma en que puede aproximarse la varianza del orden cinético aparente a partir de los errores relativos de los argumentos de la función que lo define. Esta expresión se puede hacer mas intuitiva si se expresa el valor nominal en términos de la k_m . Sustituyendo en la (4.4.16) la razón

$$\delta = \hat{x}_0 / \hat{k}_m, \quad (4.4.17)$$

se obtiene

$$S_{\hat{g}_1}^2 \cong \left(\varepsilon_{\hat{k}_m}^2 + \varepsilon_{\hat{x}_0}^2 \right) \frac{\delta^2}{(1 + \delta)^4} \quad (4.4.18)$$

de manera que la función

$$\phi_{g_1}(\delta) = \delta^2 / (1 + \delta)^4 \quad (4.4.19)$$

constituye un coeficiente de proporcionalidad en función del cual se puede expresar la varianza del orden cinético aparente a partir de los errores relativos de los estimadores de la k_m y del valor nominal x_0 . Entendiendo al coeficiente δ definido en la (4.4.17), como un indicador del desplazamiento relativo entre estos dos valores, $\phi_{g_1}(\delta)$ indica la dependencia que se da entre dicho desplazamiento y la magnitud de la propagación del error de los estimadores originales a la determinación del orden cinético aparente.

Es inmediato comprobar, que el valor máximo de $\phi_{g_1}(\delta)$ se da para $\delta=1$, esto es, en el punto de mayor curvatura de la cinética michaeliana (cf. con el capítulo 2). En la figura 4.4.1 se representan los valores de $\phi_{g_1}(\delta)$ como función del desplazamiento.

Un planteamiento análogo se puede considerar para el coeficiente de segundo grado

$$\hat{g}_2 = -\hat{k}_m \hat{x}_0 / (\hat{k}_m + \hat{x}_0)^2. \quad (4.4.20)$$

Sin embargo, se va a poner de manifiesto cómo, en este caso, no es posible aproximar adecuadamente la varianza de \hat{g}_2 por el método que estamos considerando. g_2 , como función del desplazamiento δ , no es monótona. Sus derivadas parciales respecto a k_m y x_0 , que vienen dadas por

$$\frac{\partial g_2}{\partial k_m} = - \frac{(x_0 - k_m)}{(k_m + x_0)^3} x_0 \quad (4.4.21)$$

y

$$\frac{\partial g_2}{\partial x_0} = \frac{(x_0 - k_m)}{(k_m + x_0)^3} k_m$$

se anulan cuando $\delta=1$ debido a la presencia del factor $(x_0 - k_m)$. Por tanto, una aproximación a $S_{\hat{g}_2}^2$, en la línea de la (4.4.16), sería

4.4. Una aproximación a la propagación del error en las estimaciones analíticas

$$S_{\hat{g}_2}^2 \cong \frac{(\varepsilon_{\hat{k}_m}^2 + \varepsilon_{\hat{x}_0}^2) \hat{k}_m^2 \hat{x}_0^2 (\hat{x}_0 - \hat{k}_m)^2}{(\hat{x}_0 + \hat{k}_m)^6}, \quad (4.4.22)$$

siendo inmediato comprobar que se puede hacer $S_{\hat{g}_2}^2$ tan pequeña como se quiera al considerar valores de x_0 suficientemente próximos a la k_m . Expresado en términos del desplazamiento relativo entre estos dos valores,

$$S_{\hat{g}_2}^2 \cong (\varepsilon_{\hat{k}_m}^2 + \varepsilon_{\hat{x}_0}^2) \frac{\delta^2 (\delta - 1)^2}{(\delta + 1)^6}$$

de manera que $\phi_{g_2}(\delta)$ vendría dada por $\phi_{g_2}(\delta) = \delta^2 (\delta - 1)^2 / (\delta + 1)^6$. En la figura (4.4.1) se representa esta función junto a la correspondiente a g_1 .

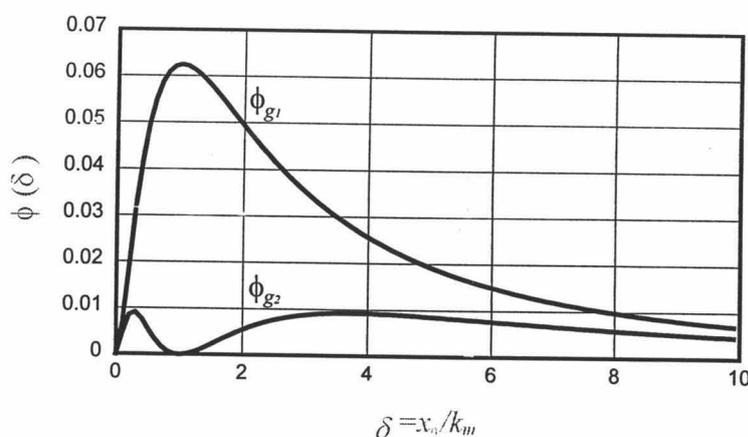


Figura 4.4.1.- Factor de escala para la propagación del error al determinar los órdenes cinéticos aparentes de una cinética michaeliana como función del valor nominal y de la k_m . La representación para g_2 no es adecuada por no tratarse de una función monótona, y su perfil debería ser mas parecido al correspondiente a g_1 .

4.4.1.3.- Intervalos de confianza. El método de aproximación descrito tiene la ventaja de que, siempre que se pueda aplicar, permite tener una medida del error implicado en la estimación del parámetro que se considere. Además, esta información se puede poner en forma de intervalo de confianza, para posibilitar inferencias, sin necesidad de hacer supuestos adicionales. Una forma de hacerlo es considerar la acotación de Tchebychev, según la cual, dado un parámetro genérico θ que es estimado puntualmente a través de $\hat{\theta}$, se verifica que:

$$P(|\theta| \in E(\hat{\theta}) \pm kS_{\hat{\theta}}) \geq 1 - \frac{1}{k^2} \quad (4.4.23)$$

para cualquier valor k positivo (véase Kotz y Johnson, 1983, o Peña, 1992). Esta desigualdad se cumple para cualquier variable aleatoria con independencia de su distribución de probabilidad. En la práctica, la desigualdad de Tchebychev se traduce por ejemplo, en que el intervalo $E(\hat{\theta}) \pm 4S_{\hat{\theta}}$ ($k=4$) contiene, al menos, al 94% de la distribución de probabilidad de $\hat{\theta}$.

La ventaja de la acotación de Tchebychev, es que es válida siempre. Sin embargo, su mayor generalidad viene acompañada de una mayor imprecisión, especialmente si la esperanza y la varianza del estimador son ya valores aproximados.

Con lo expuesto hasta ahora, la aproximación al error de estimación de muchos de los parámetros contemplados por la BST, resulta inmediata. Algunos ejemplos son:

- la caracterización del error de los órdenes cinéticos resultantes de un proceso de agregación (cf. Voit y Savageau, 1987 y el apartado 8 del capítulo 2).
- estimación del orden cinético aparente de un modelo de primer grado sobre la base de un modelo de segundo grado (apartado 6 del capítulo 2).
- propiedades sistémicas como ganancias logarítmicas y sensibilidades paramétricas deducidas por vía analítica. La forma general de estos parámetros es un cociente en donde el numerador y el denominador suelen ser combinaciones lineales de órdenes cinéticos aparentes (cf. por ejemplo Savageau, 1976). Aquí la aproximación de Taylor suele dar buenos resultados. De forma mas precisa, cuando la distribución del numerador y del denominador es normal, el teorema de Fieller () establece las bases para la elaboración de intervalos de confianza basados en esta información.

4.4.2. Aproximación al error de los valores de estado estacionario de un sistema S sobre la base del error de estimación de los parámetros locales

4.4.2.1.- Especificación del problema. En este apartado es irrelevante si se asume la formulación clásica en la BST para describir un sistema S

$$\dot{x}_i = \alpha_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{g_{ij}} - \beta_i \prod_{j=1}^{n+m} x_j^{h_{ij}}$$

o bien se utiliza

$$\dot{x}_i = v_i^+ \prod_{j=1}^{n+m} X_j^{g_{ij}} - v_i^- \prod_{j=1}^{n+m} X_j^{h_{ij}}$$

siempre para $i = 1, \dots, n$. Se mantendrá la primera por ser la estándar.

La condición de estado estacionario ($\dot{\mathbf{X}} = \mathbf{0}_{n \times 1}$) para un sistema S genérico da lugar a la expresión

$$\mathbf{A}_{\text{dep}} \mathbf{y}_{\text{dep}} = -\mathbf{A}_{\text{ind}} \mathbf{y}_{\text{ind}} + \mathbf{b}. \quad (4.4.24)$$

de la que es inmediato asumir

$$\mathbf{A}_{\text{dep}} \mathbf{y}_{\text{dep}} = \mathbf{B} \quad (4.4.25)$$

considerando que \mathbf{B} es el vector resultante al operar en el miembro derecho de (4.4.24):

$$\mathbf{B} = \begin{pmatrix} \sum_{j=n+1}^{n+m} (h_{1j} - g_{1j}) y_j + \ln \beta_1 - \ln \alpha_1 \\ \vdots \\ \sum_{j=n+1}^{n+m} (h_{nj} - g_{nj}) y_j + \ln \beta_n - \ln \alpha_n \end{pmatrix}, \quad (4.4.26)$$

Las componentes del vector \mathbf{y}_{ind} serán consideradas variables matemáticas (sin error), de manera que cada fila de \mathbf{B} será contemplada como una combinación lineal de los órdenes cinéticos relativos a las variables independientes y de los logaritmos de las constantes de velocidad.

La existencia de la solución en estado estacionario está garantizada por la

regularidad de la matriz de coeficientes \mathbf{A}_{dep} —propiedad que daremos por supuesta en lo que sigue—, de manera que

$$\mathbf{y}_{\text{dep}} = \mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{B}. \quad (4.4.27)$$

Es obvio que las propiedades del estimador $\hat{\mathbf{y}}_{\text{dep}}$ dependerán de las que tengan los elementos \hat{a}_{ij} y \hat{B}_i que conforman las estimaciones de \mathbf{A}_{dep} y de \mathbf{B} . A su vez, los dos tipos de estimadores se obtienen, en principio, por agregación de otros estimadores mas elementales que son los parámetros locales del sistema (órdenes cinéticos y constantes de velocidad aparentes). En consecuencia, la caracterización de las propiedades de $\hat{\mathbf{y}}_{\text{dep}}$, como campo vectorial, debe comenzar por el análisis de sus argumentos.

4.4.2.2.- Análisis de los elementos. Los elementos que intervienen en las matrices que permiten la caracterización del estado estacionario, son básicamente combinaciones lineales de los parámetros locales del sistema (órdenes cinéticos y constantes de velocidad). Veamos cómo se caracteriza la variabilidad de estos elementos a partir de los coeficientes cinéticos originales.

a) Análisis de los elementos \hat{a}_{ij} de la matriz \mathbf{A}_{dep} . Genéricamente cada elemento de \mathbf{A}_{dep} se define como $a_{ij}=g_{ij}-h_{ij}$ ($i,j=1,\dots,n$). En el caso mas simple donde el nodo x_i constituye el vértice de una etapa de influjo y otra de eflujo —i.e. el grado del nodo es $\text{gr}(x_i)=(1,1)$ —, tanto g_{ij} como h_{ij} son parámetros *elementales*, ya que no se obtienen por la agregación de otros órdenes cinéticos. En este caso, la varianza del estimador \hat{a}_{ij} viene dada por

$$S_{\hat{a}_{ij}}^2 = S_{\hat{g}_{ij}}^2 + S_{\hat{h}_{ij}}^2 - 2S_{\hat{g}_{ij},\hat{h}_{ij}}. \quad (4.4.28)$$

Si además, las etapas de influjo y eflujo se han estimado de manera separada, la covarianza entre los dos órdenes cinéticos considerados es nula y, por tanto, la varianza de \hat{a}_{ij} se obtiene como la suma de las varianzas de \hat{g}_{ij} y \hat{h}_{ij} .

Este resultado se puede generalizar a la situación mas compleja en que los órdenes cinéticos aparentes se obtengan mediante un proceso de agregación. En este caso, el orden cinético relativo a la etapa que describe el flujo agregado, se obtiene como la media ponderada de los órdenes cinéticos de cada una de las etapas individuales, actuando como factor de ponderación para cada orden cinético, la proporción $v_{k0} / \sum v_{k0}$ (cf. Voit y Savageau, 1987). En consecuencia, cada uno de los elementos a_{ij} se pueden considerar, en términos de los órdenes cinéticos elementales, como una combinación lineal de los mismos

$$a_{ij} = \sum_p c_p^+ g_{pj} - \sum_q c_q^- h_{qj} \quad (4.4.29)$$

4.4. Una aproximación a la propagación del error en las estimaciones analíticas

siendo c_p^+ y c_q^- los coeficientes de ponderación apropiados y en donde, normalmente serán $p = gr^+(x_i)$ y $q = gr^-(x_i)$.

La derivada parcial de a_{ij} respecto a cada uno de los parámetros es su correspondiente peso c_p^+ o $-c_q^-$. Llamando \mathbf{C} al vector constituido por estos pesos, y \mathbf{S} a la matriz de varianzas y covarianzas de los parámetros —cuyos elementos los debe proporcionar el proceso de estimación—, la varianza de \hat{a}_{ij} viene dada por

$$S_{\hat{a}_{ij}} = \mathbf{C}'\mathbf{S}\mathbf{C}. \quad (4.4.30)$$

Si cada etapa individual ha sido estimada de forma aislada, entonces \mathbf{S} es una matriz diagonal y la expresión anterior se reduce a la conocida propiedad de que la varianza de una combinación lineal de variables independientes es la suma de las varianzas multiplicadas por su correspondiente factor de escala al cuadrado:

$$S_{\hat{a}_{ij}} = \sum_p (c_p^+)^2 S_{\hat{g}_{pj}}^2 + \sum_q (c_q^-)^2 S_{\hat{h}_{qj}}^2 \quad (4.4.31)$$

En cualquier caso, la fórmula (4.4.30) es exacta, ya que si consideramos su origen a partir del desarrollo en serie de Taylor dado en el apartado 4.4.1, las derivadas segundas se anulan por ser a_{ij} una función lineal de sus parámetros.

b) Análisis de los elementos B_i . El estimador puntual de cada una de las coordenadas B_i de \mathbf{B} , se podrá contemplar como una combinación lineal de estimadores, siempre que se considere como tales a $\ln \hat{\alpha}_i$ y $\ln \hat{\beta}_i$, en lugar de $\hat{\alpha}_i$ y $\hat{\beta}_i$. Esto queda justificado al asumir que, en general, son las expresiones logarítmicas las que se estiman directamente, y es a partir de ellas que se deduce el valor de $\hat{\alpha}_i$ y de $\hat{\beta}_i$ —ocurre así en el ajuste por regresión, y también al recurrir a datos procedentes de fuentes bibliográficas, en cuyo caso, se sigue una vía analítica basada en el formalismo de la ley potencial—.

Consecuentemente, la estimación de $S_{\hat{B}_i}^2$ obedecerá a una expresión similar a la (4.4.30), una vez que se hayan definido la matriz \mathbf{S} y el vector \mathbf{C} apropiados. Además, igual que ocurría al considerar la varianza de los \hat{a}_{ij} , esta expresión será exacta, y no una aproximación.

No obstante, siempre que la estimación de la etapa de influjo se haga de forma independiente a la estimación de la de eflujo, las covarianzas entre los estimadores de parámetros relativos a etapas diferentes deberán ser nulas. En tal situación, expresando B_i como

$$B_i = \left(\ln \beta_i + \sum_{j=n+1}^{n+m} h_{ij} y_j \right) - \left(\ln \alpha_i + \sum_{j=n+1}^{n+m} g_{ij} y_j \right), \quad (4.4.32)$$

y llamando $B_{i(\beta)}$ al primer término entre paréntesis del segundo miembro y $B_{i(\alpha)}$ al segundo, se puede definir

$$\mathbf{C} = (1 \quad y_{n+1} \quad \cdots \quad y_{n+m})^t, \quad (4.4.33)$$

$$\mathbf{S}_{\hat{B}_i(\beta)} = \begin{pmatrix} S_{\ln \hat{\beta}_i}^2 & S_{\ln \hat{\beta}_i, \hat{h}_{i,n+1}} & \cdots & S_{\ln \hat{\beta}_i, \hat{h}_{i,n+m}} \\ & S_{\hat{h}_{i,n+2}}^2 & \cdots & S_{\hat{h}_{i,n+2}, \hat{h}_{i,n+m}} \\ & & \ddots & \\ & & & S_{\hat{h}_{i,n+m}}^2 \end{pmatrix} \quad (4.4.34)$$

y $\mathbf{S}_{\hat{B}_i(\alpha)}$, que será una matriz análoga a $\mathbf{S}_{\hat{B}_i(\beta)}$ obtenida al sustituir β por α y h por g . En consecuencia, la varianza de $\hat{B}_{i(\beta)}$ será $S_{\hat{B}_i(\beta)}^2 = \mathbf{C}' \mathbf{S}_{\hat{B}_i(\beta)} \mathbf{C}$, la de $\hat{B}_{i(\alpha)}$ será $S_{\hat{B}_i(\alpha)}^2 = \mathbf{C}' \mathbf{S}_{\hat{B}_i(\alpha)} \mathbf{C}$ y, por tanto, la de \hat{B}_i vendrá dada por

$$S_{\hat{B}_i}^2 = \mathbf{C}' (\mathbf{S}_{B_{i(\beta)}} + \mathbf{S}_{B_{i(\alpha)}}) \mathbf{C}, \quad (4.4.35)$$

o equivalentemente, por

$$\begin{aligned} S_{\hat{B}_i}^2 = & S_{\ln \hat{\beta}_i}^2 + \sum_{j=n+1}^{n+m} y_j^2 S_{\hat{h}_{ij}}^2 + 2 \sum_{j=n+1}^{n+m} y_j S_{\hat{h}_{ij} \ln \hat{\beta}_i} + 2 \sum_{j < k} y_j y_k S_{\hat{h}_{ij} \hat{h}_{ik}} + \\ & S_{\ln \hat{\alpha}_i}^2 + \sum_{j=n+1}^{n+m} y_j^2 S_{\hat{g}_{ij}}^2 + 2 \sum_{j=n+1}^{n+m} y_j S_{\hat{g}_{ij} \ln \hat{\alpha}_i} + 2 \sum_{j < k} y_j y_k S_{\hat{g}_{ij} \hat{g}_{ik}} \end{aligned} \quad (4.4.36)$$

Lo extenso de esta expresión se debe a su generalidad, pues se ha considerado la situación en la que las m variables independientes afectan, simultáneamente, tanto al influjo como al eflujo relativos a x_i . En el extremo opuesto en cuanto a complejidad, se tiene la situación en la que ninguna variable independiente afecta a \dot{x}_i . En este caso

$$S_{\hat{B}_i}^2 = S_{\ln \hat{\beta}_i}^2 + S_{\ln \hat{\alpha}_i}^2, \quad (4.4.37)$$

creyendo conveniente volver a insistir en la suposición de independencia entre las estimaciones de $\ln \alpha$ y $\ln \beta$, ya que de no ser así, se debería añadir su covarianza.

4.4.2.3.- Relaciones entre los elementos. En principio, los coeficientes de las matrices que caracterizan el estado estacionario no son independientes. De manera natural, se van a dar asociaciones entre los propios elementos de la matriz de coeficientes, entre los elementos del vector de términos independientes y también, relaciones cruzadas entre los elementos de la matriz y el vector mencionados. A continuación se consideran estas tres posibilidades.

a) Relaciones entre los elementos a_{ij} . La expresión que define la covarianza entre dos coeficientes \hat{a}_{ij} y \hat{a}_{pq} genéricos de la matriz \mathbf{A}_{dep} , se puede caracterizar fácilmente a partir de las dependencias que tengan lugar entre los órdenes cinéticos aparentes que los constituyen. En principio, cabe pensar en dos tipos de dependencias: 1) por redundancia de parámetros, y 2) por covarianza entre diferentes parámetros.

El primer tipo debe resultar bastante frecuente, ya que se dará siempre que el influjo de un nodo sea precisamente el eflujo de otro o una parte de él. Por ejemplo, una ruta metabólica lineal se caracteriza por ser $v_i^- = v_{i+1}^+$. En tal situación, se dan las identidades $h_{i,j} = g_{i+1,j}$ ($j=1, \dots, n+m$) y $\beta_i = \alpha_{i+1}$. Diremos entonces que se da asociación por filas.

El segundo tipo de dependencias consideradas, responde sobre todo, al hecho de que todos los parámetros de una misma etapa, digamos v_i , se estiman de forma conjunta. En consecuencia, los estimadores $\hat{\alpha}_i$ y \hat{g}_{ij} (para todo j) relativos a dicha etapa, deben presentar una interdependencia caracterizada por una matriz de varianzas y covarianzas, cuyos elementos han de ser proporcionados por el método de estimación empleado. Hablaremos aquí de asociación por columnas.

De forma genérica, la dependencia entre dos estimadores \hat{a}_{ij} y \hat{a}_{pq} arbitrarios, se deduce al considerar

$$\begin{aligned} \text{Cov}(\hat{a}_{ij}, \hat{a}_{pq}) &= E(\hat{a}_{ij}\hat{a}_{pq}) - E(\hat{a}_{ij})E(\hat{a}_{pq}) = \\ &= E(\hat{g}_{ij}\hat{g}_{pq}) + E(\hat{h}_{ij}\hat{h}_{pq}) - E(\hat{g}_{ij}\hat{h}_{pq}) - E(\hat{h}_{ij}\hat{g}_{pq}) - \\ &= \left[E(\hat{g}_{ij})E(\hat{g}_{pq}) + E(\hat{h}_{pq})E(\hat{h}_{ij}) - E(\hat{g}_{pq})E(\hat{h}_{ij}) - E(\hat{g}_{ij})E(\hat{h}_{pq}) \right] \end{aligned} \quad (4.4.38)$$

de donde resulta

$$\text{Cov}(\hat{a}_{ij}, \hat{a}_{pq}) = \text{Cov}(\hat{g}_{ij}, \hat{g}_{pq}) + \text{Cov}(\hat{h}_{ij}, \hat{h}_{pq}) - \text{Cov}(\hat{g}_{ij}, \hat{h}_{pq}) - \text{Cov}(\hat{g}_{pq}, \hat{h}_{ij}). \quad (4.4.39)$$

Caso 1. Asociación por filas. Si cada etapa individual se estima de forma independiente, la asociación por filas se traduce en que todas las covarianzas de (4.4.30) se anulan salvo $\text{Cov}(\hat{g}_{ij}, \hat{h}_{pq})$ —o alternativamente, $\text{Cov}(\hat{g}_{pq}, \hat{h}_{ij})$.

En el caso en que una etapa, digamos v_i^+ , resulte de la agregación de otras, por ejemplo $v_i^+ = \sum_k v_k^-$ (para un recorrido apropiado de k), entonces

$$g_{ij} = \sum_k c_k h_{kj}, \quad (4.4.40)$$

siendo c_k el factor de peso relativo a v_k^- en la agregación. Por tanto, al variar convenientemente k , se tendrá $\text{Cov}(\hat{a}_{ij}, \hat{a}_{kj}) \neq 0$. Concretamente la covarianza entre \hat{a}_{ij} y \hat{a}_{kj} tomará un valor

$$S_{\hat{a}_{ij}, \hat{a}_{kj}} = -c_k S_{\hat{h}_{kj}}^2 \quad (4.4.41)$$

En el supuesto mas simple en que $v_i^- = v_{i+1}^+$, se verifica $h_{i,j} = g_{i+1,j}$, y por el factor de escala c_{kj} desaparece, resultando $S_{\hat{a}_{ij}, \hat{a}_{kj}} = S_{\hat{h}_{kj}}^2$.

Caso 2. Asociación por columnas. Cuando la estimación de las leyes de influjo y eflujo relativas a un nodo x_i se hace por separado, solo se darán dependencias entre los estimadores de los coeficientes relativos al influjo (los de tipo \hat{g}_{ij}) y los relativos al eflujo (los de tipo \hat{h}_{ij}), de manera que las covarianzas entre los estimadores de tipo \hat{g} y \hat{h} se anulan, obteniendo así:

$$S_{\hat{a}_{ij}, \hat{a}_{ik}} = S_{\hat{g}_{ij}, \hat{g}_{ik}} + S_{\hat{h}_{ij}, \hat{h}_{ik}} \quad (4.4.42)$$

b) Relaciones entre elementos B_i . La asociación entre dos elementos B_i y B_j del vector de términos independientes \mathbf{B} , se dará en los mismos supuestos que originan la asociación por filas de los elementos \hat{a}_{ij} de la matriz de coeficientes. Si la agregación es $v_j^+ = \sum_i v_i^-$, considerando la notación introducida al caracterizar $S_{\hat{B}_i}^2$, una acotación de la covarianza entre los dos estimadores viene dada por

$$\left| S_{\hat{B}_i, \hat{B}_j} \right| \leq S_{\hat{B}_i(\beta)} S_{\hat{B}_j(\alpha)} \quad (4.4.43)$$

debiendo tener $S_{\hat{B}_i, \hat{B}_j}$ signo negativo por darse la asociación entre los estimadores de los términos $B_{i(\beta)}$ y $B_{j(\alpha)}$. En el caso mas simple en que se de la identidad $v_i^- = v_j^+$, esta se traduce en la equivalencia entre $B_{i(\beta)}$ y $B_{j(\alpha)}$, de manera que

$$S_{\hat{B}_i, \hat{B}_j} = -S_{\hat{B}_i(\beta)}^2 \quad (4.4.44)$$

c) *Relaciones entre elementos* \hat{a}_{ij} y \hat{b}_i . La asociación entre elementos de \mathbf{A}_{dep} y de \mathbf{B} se podrá dar siguiendo los criterios descritos como asociación por filas y asociación por columnas.

La asociación por columnas se va a dar siempre (salvo ortogonalidad del diseño experimental), ya que obedece a la dependencia en la estimación de los parámetros de una misma ley de velocidad. Por tanto, cabe esperar que $\text{Cov}(\hat{a}_{ij}, \hat{b}_i) \neq 0$ siendo, bajo la hipótesis de independencia de los estimadores de etapas distintas, $\text{Cov}(\hat{a}_{ij}, \hat{B}_i) = \text{Cov}(\hat{g}_{ij}, \hat{B}_{i(\alpha)}) + \text{Cov}(\hat{h}_{ij}, \hat{B}_{i(\beta)})$. Dada la forma en que se definen los coeficientes a_{ij} y B_i , esta covarianza será de signo negativo

4.4.2.4.- Obtención de la matriz de varianzas y covarianzas de $\hat{\mathbf{y}}_{\text{dep}}$. Consideremos cada uno de los subespacios fila de la matriz de coeficientes \mathbf{A}_{dep} para definir los vectores $\mathbf{A}_1, \dots, \mathbf{A}_n$ tales que

$$\mathbf{A}_i = (a_{i1} \quad \dots \quad a_{in}), \quad (4.4.45)$$

y recordemos que \mathbf{B} era el vector columna definido en §. En adelante, dada la inclusión de los nodos *independientes* como elementos de \mathbf{B} , se obviará el hecho de que cualquier variable y_i es de tipo *endógeno* o *dependiente*.

Conocidas las varianzas de los estimadores \hat{a}_{ij} y \hat{B}_i del sistema y sus interdependencias en términos de covarianzas, se pueden definir, para $i, j = 1, \dots, n$, las matrices

$$\mathbf{S}_{\mathbf{A}_i, \mathbf{A}_i} = \begin{pmatrix} S_{a_{i1}}^2 & \dots & S_{a_{i1}, a_{in}} \\ & \ddots & \vdots \\ & & S_{a_{in}}^2 \end{pmatrix} \quad (4.4.46)$$

que es la matriz de varianzas y covarianzas relativos a los elementos del vector \mathbf{A}_i ,

$$\mathbf{S}_{\mathbf{A}_i, \mathbf{A}_j} = \begin{pmatrix} S_{a_{i1}, a_{j1}} & \dots & S_{a_{i1}, a_{jn}} \\ & \ddots & \vdots \\ & & S_{a_{in}, a_{jn}} \end{pmatrix} \quad (4.4.47)$$

que es la matriz de covarianzas entre los elementos del vector \mathbf{A}_i y \mathbf{A}_j ,

$$\mathbf{S}_{\mathbf{A}_i, \mathbf{B}} = \begin{pmatrix} S_{a_{i1}, B_1} & \cdots & S_{a_{i1}, B_n} \\ & \ddots & \vdots \\ & & S_{a_{in}, B_n} \end{pmatrix} \quad (4.4.48)$$

que es la matriz de covarianzas entre los elementos del vector \mathbf{A}_i y \mathbf{B} , y finalmente

$$\mathbf{S}_{\mathbf{B}, \mathbf{B}} = \begin{pmatrix} S_{B_1}^2 & \cdots & S_{B_1, B_n} \\ & \ddots & \vdots \\ & & S_{B_n}^2 \end{pmatrix} \quad (4.4.49)$$

que es la matriz de varianzas y covarianzas correspondiente al vector de términos independientes. Las matrices así definidas constituyen las particiones de una matriz mayor que denominaremos $\mathbf{S}_{\hat{\theta}}$ y cuyos elementos son las varianzas y covarianzas relativas a todo el conjunto de estimadores

$$\hat{\theta} = \{\hat{a}_{11}, \dots, \hat{a}_{nn}, \hat{B}_1, \dots, \hat{B}_n\}. \quad (4.4.50)$$

Dicha matriz, de dimensiones $(n^2 + n) \times (n^2 + n)$, queda definida por:

$$\mathbf{S}_{\hat{\theta}} = \begin{pmatrix} \mathbf{S}_{\mathbf{A}_1, \mathbf{A}_1} & \mathbf{S}_{\mathbf{A}_1, \mathbf{A}_2} & \cdots & \mathbf{S}_{\mathbf{A}_1, \mathbf{A}_n} & \mathbf{S}_{\mathbf{A}_1, \mathbf{B}} \\ & \mathbf{S}_{\mathbf{A}_2, \mathbf{A}_2} & \cdots & \mathbf{S}_{\mathbf{A}_1, \mathbf{A}_n} & \mathbf{S}_{\mathbf{A}_2, \mathbf{B}} \\ & & \ddots & \vdots & \vdots \\ & & & \mathbf{S}_{\mathbf{A}_n, \mathbf{A}_n} & \mathbf{S}_{\mathbf{A}_n, \mathbf{B}} \\ & & & & \mathbf{S}_{\mathbf{B}, \mathbf{B}} \end{pmatrix}. \quad (4.4.51)$$

La derivada de cada solución y_k ($k=1, \dots, n$) del sistema original, respecto a cada uno de los vectores \mathbf{A}_i y \mathbf{B} , se puede expresar como los vectores

$$\frac{\partial y_k}{\partial \mathbf{A}_i} = \begin{pmatrix} \frac{\partial y_k}{\partial a_{i1}} & \cdots & \frac{\partial y_k}{\partial a_{in}} \end{pmatrix} \quad (4.4.52)$$

con $i=1, \dots, n$, y

$$\frac{\partial y_k}{\partial \mathbf{B}} = \begin{pmatrix} \frac{\partial y_k}{\partial B_1} \\ \vdots \\ \frac{\partial y_k}{\partial B_n} \end{pmatrix} \quad (4.4.53)$$

4.4. Una aproximación a la propagación del error en las estimaciones analíticas

de manera que el vector gradiente de y_k respecto a $\hat{\theta}$ queda definido por

$$\nabla(y_k) = \left(\left(\frac{\partial y_k}{\partial \mathbf{A}_1} \right) \quad \dots \quad \left(\frac{\partial y_k}{\partial \mathbf{A}_n} \right) \quad \left(\frac{\partial y_k}{\partial \mathbf{B}} \right)' \right). \quad (4.4.54)$$

Queda por concretar la identidad de las derivadas $\partial y_k / \partial \theta$. Si \mathbf{A}_{dep} es regular, la regla de Cramer permite obtener la expresión explícita para el estado estacionario, que vendrá dada por

$$y_i = \frac{\Delta^{(i)}}{\Delta} \quad (4.4.55)$$

en donde Δ es el determinante de la matriz de coeficientes del sistema lineal:

$$\Delta = \det(\mathbf{A}_{\text{dep}}) \quad (4.4.56)$$

y $\Delta^{(i)}$ es el determinante de la matriz obtenida al sustituir la columna i de Δ por el vector \mathbf{B} de términos independientes. Llamando Δ_{ij} al cofactor de Δ relativo a la posición (i, j) , la derivada de Δ respecto a un elemento genérico θ_{ij} viene dada por

$$\frac{\partial \Delta}{\partial \theta_{ij}} = (-1)^{i+j} \Delta_{ij}. \quad (4.4.57)$$

Según la naturaleza de θ_{ij} , pueden darse tres posibilidades:

a) si $\theta_{ij} = a_{ij}$ con $j \neq k$, se tiene

$$\frac{\partial y_k}{\partial a_{ij}} = \frac{1}{\Delta^2} \left[\Delta \frac{\partial \Delta^{(k)}}{\partial a_{ij}} - \Delta^{(k)} \frac{\partial \Delta}{\partial a_{ij}} \right] \quad (4.4.58)$$

y por tanto

$$\frac{\partial y_k}{\partial a_{ij}} = \frac{(-1)^{i+j}}{\Delta^2} \left[\Delta \Delta_{ij}^{(k)} - \Delta^{(k)} \Delta_{ij} \right]. \quad (4.4.59)$$

b) en el caso en que sea $\theta_{ij} = a_{ij}$ pero con $j = k$, la expresión anterior se reduce a

$$\frac{\partial y_k}{\partial a_{ik}} = -(-1)^{i+j} \frac{\Delta^{(k)} \Delta_{ij}}{\Delta^2}. \quad (4.4.60)$$

c) por último, si el parámetro es $\theta_{ij}=B_i$ (se considera en tal caso que $j=n+1$), entonces se anula la derivada respecto al denominador y se obtiene

$$\frac{\partial y_k}{\partial B_j} = (-1)^{i+k} \frac{\Delta_{ik}^{(k)}}{\Delta} \quad (4.4.61)$$

Estos tres casos quedan recogidos en la expresión generalizada

$$\frac{\partial y_k}{\partial \theta_{ij}} = \frac{(-1)^{i+\varphi(j,k)}}{\Delta^2} \left[(1-\delta_{k,j}) \Delta \Delta_{i\varphi(j,k)}^{(k)} - (1-\delta_{(n+1),j}) \Delta^{(k)} \Delta_{ij} \right] \quad (4.4.62)$$

en donde $\varphi(j,k) = j(1-\delta_{(n+1),j}) + k\delta_{(n+1),j}$ y δ_{ij} es la delta de Kronecker ($\delta_{ij}=0$ si $i \neq j$ y $\delta_{ij}=1$ si $i=j$).

Llegados a este punto, es inmediato dar una aproximación a la varianza de \hat{y}_k en base a lo expuesto en 4.4.1.1:

$$S_{\hat{y}_k}^2 = \nabla(y_k) \mathbf{S}_{\hat{\theta}} \nabla'(y_k). \quad (4.4.63)$$

Esta aproximación se puede generalizar al considerar a \mathbf{y} como la función vectorial de coordenadas y_1, \dots, y_n . Llamando $\mathbf{D}(\mathbf{y}_{\text{dep}})$ a la jacobiana de \mathbf{y}_{dep} respecto al vector de parámetros θ ;

$$\mathbf{D}(\mathbf{y}_{\text{dep}}) = \begin{pmatrix} \nabla(y_1) \\ \vdots \\ \nabla(y_n) \end{pmatrix} \quad (4.4.64)$$

se puede definir la matriz de varianzas y covarianzas de $\hat{\mathbf{y}}$ según

$$\mathbf{S}_{\hat{\mathbf{y}}_{\text{dep}}} = \mathbf{D}(\mathbf{y}_{\text{dep}}) \mathbf{S}_{\hat{\theta}} \mathbf{D}'(\mathbf{y}_{\text{dep}}) \quad (4.4.65)$$

de forma que

$$\mathbf{S}_{\hat{\mathbf{y}}_{\text{dep}}} = \begin{pmatrix} S_{\hat{y}_1}^2 & \cdots & S_{\hat{y}_1, \hat{y}_n} \\ & \ddots & \vdots \\ & & S_{\hat{y}_n} \end{pmatrix} \quad (4.4.66)$$

4.4. Una aproximación a la propagación del error en las estimaciones analíticas

resultando ser una aproximación de la matriz de varianzas y covarianzas $\Sigma_{\mathbf{y}_{\text{dep}}}$ de \mathbf{y}_{dep} .

Una valoración de esta aproximación se resume en los siguientes puntos:

- A nivel computacional la única complicación es el cálculo del número de determinantes que supone la evaluación de $\mathbf{D}(\mathbf{y}_{\text{dep}})$. No obstante, hay una vía de optimizar el método si se consideran las relaciones del tipo $\Delta_{ij} = \Delta_{ij}^{(j)}$.
- Los elementos de la diagonal de $\mathbf{S}_{\hat{\mathbf{y}}_{\text{dep}}}$ permiten caracterizar el error de aproximación de los nodos en el estado estacionario. Esto supone la posibilidad elaborar intervalos de confianza (en principio mediante la acotación de Tchebyshev) que pueden ser usados para poner de manifiesto qué variables contienen mayor error, o bien, contrastar hipótesis.
- A partir de $\mathbf{S}_{\hat{\mathbf{y}}_{\text{dep}}}$ es posible obtener una aproximación a la matriz de correlaciones que permite caracterizar la dependencia (estadística) entre los niveles de concentración en el estado estacionario a partir de la forma en que se asocian los parámetros locales del sistema.

4.5 Sistemas S y modelos de ecuaciones simultáneas

Desde el punto de vista (mas general) de la teoría del control de sistemas, la perturbación de un sistema a través de las variables consideradas independientes, es el modo de caracterizar la forma en que dicho sistema interacciona con su entorno. En la BST, tal interacción se formaliza en términos de las ganancias logarítmicas (cf. Savageau, 1976; o Voit, 1991). Sin embargo, el problema de la estimación de las ganancias logarítmicas no se ha considerado con rigor desde un punto de vista estadístico.

A parte de las relaciones analíticas, que conducen a la definición de ganancia logarítmica como una función de los parámetros locales del sistema (cf. Savageau 1976), el cálculo de estas propiedades se plantea a menudo en términos de incrementos finitos en la escala logarítmica (Shiraishi y Savageau, 1992c) o como un problema de regresión simple (Savageau, 1971a; 1976; Voit y Savageau, 1991). Desde luego, el primero de estos enfoques resulta adecuado si lo que se estudia es el comportamiento de un sistema mediante simulación por ordenador. Aquí todas las variables son *matemáticas*, y no se contempla la variabilidad que caracteriza a la observación experimental. El planteamiento como un problema de regresión simple, será en este sentido mas apropiado. Sin embargo, cuando hay mas de una variable independiente, formular el problema en términos de *regresión simple* —en lugar de hacerlo en términos de *regresión múltiple*—, puede no ser adecuado. Un coeficiente de regresión tiene que interpretarse como el efecto diferencial de una variable eliminando los efectos de las otras (Draper y Smith, 1981), por tanto, solo tiene sentido si se especifican el resto de las variables que influyen en la respuesta. Además, cuando los regresores no sean (estadísticamente) independientes, la estimación de las ganancias logarítmicas mediante regresión simple dará en general estimaciones distorsionadas (Peña, 1989).

A todo esto se debe añadir un grado mas de complejidad. Si el orden del sistema considerado es $n > 1$, lo que se tendrá que estimar serán los coeficientes de n (y no de una) ecuaciones de regresión. En todas ellas, los regresores serán esencialmente los mismos, y el problema pasa a ser entonces de *regresión multivariante* (Srivastava y Khatri, 1979).

Teniendo en cuenta estas consideraciones, cuando el sistema representado tiene estructura de sistema S, la consideración del modelo de regresión multivariante conduce a lo que, en otras disciplinas como la Econometría, se conoce como *modelo de ecuaciones simultáneas*. Este tipo de formulación tiene además, una ventaja añadida. En determinadas condiciones es posible, salvo por una constante de proporcionalidad, identificar a algunos, o incluso a todos, los coeficientes de las ecuaciones del modelo.

4.5.1 El modelo analítico y el modelo estadístico

4.5.1.1.- El modelo analítico de la BST. Comencemos por establecer el problema a partir de la caracterización del estado estacionario que proporciona la representación como sistemas S. En su forma desarrollada, el estado invariante de flujo permite escribir (cf. con el capítulo 1)

$$\begin{aligned} a_{11}y_1 + \dots + a_{1n}y_n + a_{1,n+1}y_{n+1} + \dots + a_{1,n+m}y_{n+m} &= b_1 \\ a_{21}y_1 + \dots + a_{2n}y_n + a_{2,n+1}y_{n+1} + \dots + a_{2,n+m}y_{n+m} &= b_2 \\ \dots & \\ a_{n1}y_1 + \dots + a_{n2}y_2 + a_{n,n+1}y_{n+1} + \dots + a_{n,n+m}y_{n+m} &= b_n \end{aligned} \quad (4.5.1)$$

La existencia de solución explícita para este sistema depende de la no singularidad de la matriz de coeficientes \mathbf{A}_{dep} (cf. Savageau 1969b; 1976; Savageau y Sorribas, 1989), que en caso de darse, permite escribir

$$\mathbf{y}_{\text{dep}} = \mathbf{L}_{\text{xx}} \mathbf{y}_{\text{ind}} + \mathbf{M} \mathbf{b} \quad (4.5.2)$$

en donde se define $\mathbf{L}_{\text{xx}} = -\mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \mathbf{A}_{\text{ind}}$ y $\mathbf{M} = \mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1}$ (Savageau y Sorribas, 1989).

Sin embargo, el problema que se plantea aquí no es el de determinar \mathbf{y}_{dep} a partir del conocimiento de los parámetros del sistema junto a un valor preestablecido del vector \mathbf{y}_{ind} . La cuestión ahora, es determinar en qué condiciones se pueden estimar los parámetros de (4.5.2), si se asignan valores a \mathbf{y}_{ind} y se observa los que toma \mathbf{y}_{dep} . Obsérvese que aquí hay dos cuestiones implícitas. La primera es la formulación del modelo en términos estadísticos. La segunda, es la consideración de cuál es la estrategia óptima, bajo algún criterio, que se debe seguir para asignar valores al vector de variables independientes, lo que representa un problema de *diseño experimental*. De manera adicional, también es posible plantear si es posible, una vez identificados los parámetros de (4.5.2), hacer alguna inferencia sobre la identidad de los parámetros de (4.5.1), lo que se conoce como un problema de *identificación*.

En este apartado se planteará la formulación del modelo y las condiciones en que se puede dar la identificación. Cuestiones relativas al diseño experimental serán tratadas en el apartado siguiente.

4.5.1.2.- Concepción del modelo estadístico. Como punto de partida, es necesario establecer la hipótesis de que las coordenadas de \mathbf{y}_{ind} son variables matemáticas (no aleatorias), mientras que las de \mathbf{y}_{dep} , por estar sujetas a errores de medida o a las propias fluctuaciones del sistema, serán variables aleatorias.

Si se fijan N valores de \mathbf{y}_{dep} , cada una de las $k=1, \dots, N$ observaciones de \mathbf{y}_{dep} permitirán especificar el sistema (4.5.1) como

4.5. Sistemas S y modelos de ecuaciones simultáneas

$$\begin{aligned}
 a_{11}y_{1(k)} + \dots + a_{1n}y_{n(k)} + a_{1,n+1}y_{n+1(k)} + \dots + a_{1,n+m}y_{n+m(k)} + \varepsilon_{1(k)} &= b_1 \\
 a_{21}y_{1(k)} + \dots + a_{2n}y_{n(k)} + a_{2,n+1}y_{n+1(k)} + \dots + a_{2,n+m}y_{n+m(k)} + \varepsilon_{2(k)} &= b_2 \\
 \vdots & \\
 a_{n1}y_{1(k)} + \dots + a_{n2}y_{2(k)} + a_{n,n+1}y_{n+1(k)} + \dots + a_{n,n+m}y_{n+m(k)} + \varepsilon_{n(k)} &= b_n
 \end{aligned} \tag{4.5.3}$$

en donde cada una de las ecuaciones tiene asociado un componente aleatorio ε_i inherente a la procedencia empírica de las coordenadas de \mathbf{y}_{dep} y que resta determinismo a (4.5.1) o a (4.5.2). De forma matricial, el sistema (4.5.3) puede expresarse

$$\mathbf{A}_{\text{dep}}\mathbf{y}_{\text{dep}(k)} + \mathbf{A}_{\text{ind}}\mathbf{y}_{\text{ind}(k)} + \varepsilon_{(k)} = \mathbf{b} \tag{4.5.4}$$

en donde $\varepsilon_{(k)}$ es el vector n -dimensional de perturbaciones aleatorias. La expresión equivalente a (4.5.2) será ahora, para la observación k -ésima,

$$\mathbf{y}_{\text{dep}(k)} = \mathbf{L}_{\text{xx}}\mathbf{y}_{\text{ind}(k)} + \mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1}\mathbf{b} - \mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1}\varepsilon_{(k)}. \tag{4.5.5}$$

Una forma más conveniente de expresar el sistema, con vistas a la posible determinación de sus parámetros, es incluir al término independiente \mathbf{b} en la matriz de coeficientes del vector \mathbf{y}_{ind} . Para ello basta con definir la matriz de dimensiones $n \times (m+1)$

$$\mathbf{A}_{\text{ind}}^* = \left(\mathbf{A}_{\text{ind}} \mid -\mathbf{b} \right). \tag{4.5.6}$$

Esto supone la consideración de una nueva variable independiente, con valor constante y unitario, cuyo vector de coeficientes es \mathbf{b} . i.e.:

$$\mathbf{y}_{\text{ind}}^* = \begin{pmatrix} \mathbf{y}_{\text{ind}} \\ 1 \end{pmatrix}. \tag{4.5.7}$$

Según lo anterior, ahora la premultiplicación de \mathbf{b} por la inversa de la matriz de coeficientes de las variables dependientes (el operador \mathbf{M} de la BST) debe resultar

$$\mathbf{b}^* = \mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1}\mathbf{b}. \tag{4.5.8}$$

Definiendo la ampliación de la matriz de ganancias logarítmicas \mathbf{L}^* , dada por

$$\mathbf{L}^* = \left(\mathbf{L}_{\text{xx}} \mid \mathbf{b}^* \right) \tag{4.5.9}$$

se tiene finalmente

$$\mathbf{y}_{\text{dep}(k)} = \mathbf{L}^* \mathbf{y}_{\text{ind}(k)}^* + \boldsymbol{\varepsilon}_{(k)}^* \quad (4.5.10)$$

en donde está implícito

$$\boldsymbol{\varepsilon}_{(k)}^* = -\mathbf{A}_{\text{dep}}^{-1} \boldsymbol{\varepsilon}_{(k)} \quad (4.5.11)$$

La generalización a $k=1, \dots, N$ observaciones del vector \mathbf{y}_{dep} a partir de otros tantos valores prefijados de \mathbf{y}_{ind} requiere introducir algunos cambios en la notación. En el ámbito estadístico lo habitual es tratar con matrices donde las distintas observaciones se disponen por filas para el conjunto de variables que se disponen por columnas, i.e. genéricamente el arreglo es:

Obs.	\mathbf{y}			
	y_1	y_2	\dots	y_n
$k = 1$	$y_{1(1)}$	$y_{2(1)}$	\dots	$y_{n(1)}$
$k = 2$	$y_{1(2)}$	$y_{2(2)}$	\dots	$y_{n(2)}$
\vdots	\vdots	\vdots		\vdots
$k = N$	$y_{1(N)}$	$y_{2(N)}$	\dots	$y_{n(N)}$

Bajo este criterio, se puede definir la matriz Ψ , con dimensiones $N \times n$, constituida por las observaciones de \mathbf{y}_{dep} :

$$\Psi = \begin{pmatrix} y_{1(1)} & y_{2(1)} & \dots & y_{n(1)} \\ y_{1(2)} & y_{2(2)} & \dots & y_{n(2)} \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ y_{1(N)} & y_{2(N)} & \dots & y_{n(N)} \end{pmatrix} \quad (4.5.12)$$

de manera que la fila k de Ψ es la observación k -ésima del vector (traspuesto) \mathbf{y}_{dep} :

$$\Psi = \begin{pmatrix} \mathbf{y}_{\text{dep}(1)}^t \\ \vdots \\ \mathbf{y}_{\text{dep}(N)}^t \end{pmatrix} \quad (4.5.13)$$

Análogamente, \mathbf{X} será la matriz (empírica) correspondiente a las variables independientes, que tendrá dimensión $N \times (m+1)$, y queda especificada por:

$$X = \begin{pmatrix} y_{n+1(1)} & y_{n+2(1)} & \cdots & y_{n+m(1)} & 1 \\ y_{n+1(2)} & y_{n+2(2)} & \cdots & y_{n+m(2)} & 1 \\ \vdots & \vdots & & \vdots & \vdots \\ y_{n+1(N)} & y_{n+2(N)} & \cdots & y_{n+m(N)} & 1 \end{pmatrix}, \quad (4.5.14)$$

de manera que cada una de sus filas es el vector (traspuesto) de valoraciones de cada una de las variables independientes, i.e.:

$$X = \begin{pmatrix} \mathbf{y}_{\text{ind}(1)}^{*t} \\ \cdots \\ \mathbf{y}_{\text{ind}(N)}^{*t} \end{pmatrix} \quad (4.5.15)$$

En base a estas matrices, la relación (4.5.4) puede ser escrita como

$$\Psi \mathbf{A}'_{\text{dep}} + X(\mathbf{A}'_{\text{ind}})^t + E = \mathbf{0}_{N \times n}, \quad (4.5.16)$$

siendo E la matriz cuyos vectores fila resultan de transponer cada vector de error correspondiente a cada una de las observaciones del sistema, i.e.:

$$E = \begin{pmatrix} \boldsymbol{\varepsilon}'_{(1)} \\ \vdots \\ \boldsymbol{\varepsilon}'_{(N)} \end{pmatrix}. \quad (4.5.17)$$

En la teoría de ecuaciones simultáneas, la expresión (4.5.16) es la denominada *forma estructural* del sistema.

Para facilitar el tratamiento subsiguiente, se designará a los subespacios columna de \mathbf{A}'_{dep} como los vectores n -dimensionales $\mathbf{A}_1, \dots, \mathbf{A}_n$. Del mismo modo, los subespacios columna de $(\mathbf{A}'_{\text{ind}})^t$ serán designados $\mathbf{A}_1^*, \dots, \mathbf{A}_n^*$. Por tanto

$$\mathbf{A}_i = \begin{pmatrix} a_{i1} \\ \vdots \\ a_{in} \end{pmatrix} \text{ y } \mathbf{A}_i^* = \begin{pmatrix} a_{i(n+1)} \\ \vdots \\ a_{i(n+m)} \\ b_i \end{pmatrix}, \quad (4.5.18)$$

de manera que

$$\mathbf{A}'_{\text{dep}} = (\mathbf{A}_1 \mid \cdots \mid \mathbf{A}_n) \text{ y } \mathbf{A}'_{\text{ind}} = (\mathbf{A}_1^* \mid \cdots \mid \mathbf{A}_n^*). \quad (4.5.19)$$

Destacando la estructura en particiones y las dimensiones de cada matriz, el sistema (4.5.16) es equivalente a

$$\begin{pmatrix} \mathbf{y}_{\text{dep}(1)}^t \\ \vdots \\ \mathbf{y}_{\text{dep}(N)}^t \end{pmatrix}_{(N \times n)} \begin{pmatrix} \mathbf{A}_1 & \cdots & \mathbf{A}_n \end{pmatrix}_{(n \times n)} + \begin{pmatrix} \mathbf{y}_{\text{ind}(1)}^{*t} \\ \vdots \\ \mathbf{y}_{\text{ind}(N)}^{*t} \end{pmatrix}_{(N \times (m+1))} \begin{pmatrix} \mathbf{A}_1^* & \cdots & \mathbf{A}_n^* \end{pmatrix}_{((m+1) \times n)} + \mathbf{E}_{(N \times n)} = \mathbf{0}_{(N \times n)} \quad (4.5.20)$$

4.5.2 Las formas estructural y reducida

La expresión (4.5.16), que se ha dado en llamar *forma estructural*, pone de manifiesto la relación entre las variables dependientes del sistema, las independientes y los términos de error que afectan a cada ecuación. Sin embargo, una peculiaridad adicional de este modelo es que las variables dependientes pueden aparecer en *todas* las ecuaciones, dado que se determinan mutuamente. Esto supone la aparición de ligaduras entre las ecuaciones que se ven reforzadas por la posible correlación entre los términos de error.

Una consecuencia inmediata de la asociación entre las ecuaciones, es que el modelo (4.5.16) no puede ser contemplado, en general, como una colección de modelos uniecuacionales de cara a la estimación, pues los estimadores así obtenidos van a ser sesgados e inconsistentes (véase por ejemplo Gujarati, 1990, o Johnston, 1984). Un problema añadido es la propia estructura del modelo, puesto que las mismas variables que se pretende explicar, las \mathbf{y}_{dep} , están desempeñando el papel de explicativas, resultando además que no son variables matemáticas sino aleatorias.

La representación del sistema (4.5.16) de forma equivalente a la (4.5.2), pero considerando al conjunto de observaciones experimentales, da lugar a lo que se conoce como *forma reducida* (Gujarati, 1990; Johnston, 1984). Pero dado que la forma original del modelo es la estructural, es necesario establecer las hipótesis básicas acerca de la distribución del error, en términos de esta forma del modelo.

4.5.2.1.- Hipótesis básicas relativas a la forma estructural. Básicamente, las hipótesis sobre (4.5.16) son las clásicas del modelo de regresión, vistas en §4.2 (Gujarati, 1990; Johnston, 1984). Estas hipótesis, relativas a ε , se pueden expresar como sigue

1. la esperanza del error es nula $E(\varepsilon_k) = \mathbf{0}_n$
2. no se da autocorrelación entre los términos de error:

$$E(\varepsilon_j \varepsilon_k^t) = \mathbf{0}_{n \times n} \quad \text{para } j \neq k$$

3. La varianza del error puede expresarse como $\text{Var}(\varepsilon) = \Sigma_\varepsilon$, siendo Σ_ε una matriz simétrica definida positiva:

$$\Sigma_\varepsilon = \text{Var} \begin{pmatrix} \varepsilon_{1(k)} \\ \vdots \\ \varepsilon_{n(k)} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \sigma_1^2 & \cdots & \sigma_{1n} \\ & \ddots & \vdots \\ & & \sigma_n^2 \end{pmatrix} \quad (4.5.21)$$

En general, se admite la existencia de correlaciones contemporáneas entre dos términos de error de ecuaciones diferentes (parámetros σ_{ij}), pero si existen dichas correlaciones no cambian en el tiempo (lo que constituye una generalización del concepto de homocedasticidad). El hecho de que existan correlaciones contemporáneas no nulas es la esencia de los modelos en ecuaciones simultáneas. De hecho, como ya se ha comentado, esta es una de las razones que impiden considerar el sistema original como una colección de modelos uniecuacionales aislados, debiendo ser considerado como un solo modelo.

De manera adicional se puede asumir la normalidad de ε , en cuyo caso se expresará $\varepsilon_k \rightarrow N_n(\mathbf{0}_n, \Sigma_\varepsilon)$.

4.5.2.2.- La forma reducida. A partir de la forma estructural

$$\Psi \mathbf{A}'_{\text{dep}} + \mathbf{X}(\mathbf{A}'_{\text{ind}})^t + \mathbf{E} = \mathbf{0}_{N \times n}$$

la expresión de \mathbf{y}_{dep} en función de los \mathbf{y}_{ind} se obtiene de la postmultiplicación de cada miembro de

$$\Psi \mathbf{A}'_{\text{dep}} = -\mathbf{X} \mathbf{A}'_{\text{ind}} - \mathbf{E}$$

por la inversa de \mathbf{A}'_{dep} (hemos supuesto, por hipótesis, que \mathbf{A}_{dep} es regular y por tanto también lo es su traspuesta). En consecuencia

$$\Psi = -\mathbf{X} \mathbf{A}'_{\text{ind}} (\mathbf{A}'_{\text{dep}})^{-1} - \mathbf{E} (\mathbf{A}'_{\text{dep}})^{-1} \quad (4.5.22)$$

Definiendo $\Theta = \mathbf{A}'_{\text{ind}} (\mathbf{A}'_{\text{dep}})^{-1}$ —es inmediato comprobar que $\Theta = \mathbf{L}'$ — se obtiene la matriz de parámetros de dimensión $(m+1) \times n$, dada por

$$\Theta = \begin{pmatrix} L(x_1, x_{n+1}) & L(x_2, x_{n+1}) & \cdots & L(x_n, x_{n+1}) \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ L(x_1, x_{n+m}) & L(x_2, x_{n+m}) & \cdots & L(x_n, x_{n+m}) \\ b_1^* & b_2^* & \cdots & b_n^* \end{pmatrix}. \quad (4.5.23)$$

Por tanto, (4.5.22) se puede escribir en la denominada *forma reducida* del sistema de ecuaciones simultáneas, dada por

$$\Psi = X\Theta + E^* \quad (4.5.24)$$

en donde E^* es la matriz de dimensión $N \times n$ definida por

$$E^* = E(\mathbf{A}'_{dep})^{-1}. \quad (4.5.25)$$

La matriz de covarianzas de E^* , que se escribirá Σ_{E^*} , se obtiene al considerar

$$\text{Cov}(\varepsilon_j^*, \varepsilon_k^*) = E(\varepsilon_j^* \varepsilon_k^{*'})$$

como ε_k^* viene definido por $\varepsilon_k^* = \mathbf{A}_{dep}^{-1} \varepsilon_k$, de la expresión anterior se deduce

$$\Sigma_{E^*} = \mathbf{A}_{dep}^{-1} \Sigma_E (\mathbf{A}_{dep}^{-1})' \quad (4.5.26)$$

que será una matriz diagonal siempre que se verifique el supuesto de independencia entre los errores correspondientes a diferentes observaciones, i.e.

$$E(\varepsilon_j \varepsilon_k') = \mathbf{0}_{n \times n} \text{ para } j \neq k.$$

Además, Σ_{E^*} será definida positiva por serlo Σ_E .

Si también se considera la normalidad de los ε_k , la distribución de los ε_k^* será igualmente normal. En consecuencia, y habida cuenta de la identidad $\varepsilon_k^* = \mathbf{A}_{dep}^{-1} \varepsilon_k$, la función de verosimilitud muestral puede escribirse

$$\begin{aligned} \mathcal{L}(\mathbf{y}_{dep(1)}, \dots, \mathbf{y}_{dep(N)} | \mathbf{y}_{ind(1)}, \dots, \mathbf{y}_{ind(N)}) &= (2\pi)^{-nN/2} |\Sigma_{E^*}|^{-N/2} \\ &\cdot \exp\left\{-\frac{1}{2} \text{tr}\left[\Sigma_{E^*}^{-1} (\Psi - X\Theta)' (\Psi - X\Theta)\right]\right\} \end{aligned} \quad (4.5.27)$$

En base a esta expresión, todos los parámetros de la forma reducida del modelo pueden obtenerse, previa estimación, a partir de los momentos de la distribución normal multivariante, cosa que es inviable con los parámetros de la forma estructural (Johnston, 1984).

A partir de (4.5.24), la estimación de parámetros puede hacerse, en base a las hipótesis consideradas, mediante mínimos cuadrados ordinarios, según

$$\hat{\Theta} = (X'X)^{-1} X'\Psi. \quad (4.5.28)$$

La estimación de $\hat{\Sigma}_{E^*}$ es

$$\hat{\Sigma}_{E^*} = \frac{\hat{E}^{*t} \hat{E}^*}{N - m} \quad (4.5.29)$$

o de forma desarrollada:

$$\hat{\Sigma}_{E^*} = \frac{\Psi' [\mathbf{I}_N - X(X'X)^{-1} X'] \Psi}{N - m} \quad (4.5.30)$$

de manera que el elemento genérico σ_{ij}^* de Σ_{E^*} se estima mediante el cociente

$$\hat{\sigma}_{ij}^* = \frac{\sum_{k=1}^N \hat{\varepsilon}_{ik}^* \hat{\varepsilon}_{jk}^*}{N - m} \quad (4.5.31)$$

4.5.3 El problema de la identificación

A partir de la forma reducida, siempre que el problema esté bien condicionado, será posible estimar los $(m+1) \times n$ parámetros de Θ . Sin embargo, dado que el número de parámetros de la forma estructural es muy superior al de la forma reducida, el problema de identificación no es en general factible, a no ser que se impongan restricciones sobre los parámetros.

Las restricciones más obvias consisten en imponer —a priori— que algunos coeficientes de la forma estructural sean cero. Tal tipo de supuesto es coherente con la naturaleza de los sistemas que se están considerando, y es fundamental en la estrategia propuesta por Sorribas y Cascante (1994) al tratar el problema de la identificación de los parámetros en la BST.

No obstante, aunque se impongan restricciones, no siempre se puede recuperar la totalidad de los parámetros de la forma estructural a partir de la reducida. En la mayoría de las ocasiones, lo más que se consigue es recuperar solo alguna de las ecuaciones de la forma estructural. De ser así, se dice que tal ecuación está *identificada*, en caso contrario se dice que *no está identificada*. Por otra parte, puede ser que haya un único modo de recuperar los coeficientes de una ecuación identificada, en este caso se dice que está *exactamente identificada*, pero también puede ocurrir que hubiese varias alternativas, no equivalentes, de hacerlo, y la ecuación está entonces *sobreidentificada* (véase Johnston, 1984).

El problema de la identificación es equivalente a la resolución del sistema de ecuaciones

$$\Theta \mathbf{A}_{\text{dep}}^t = -\mathbf{A}_{\text{ind}}^t \quad (4.5.32)$$

Sean $a_{i[j]}$ los elementos no nulos de la columna j de $\mathbf{A}_{\text{dep}}^t$ con un criterio de orden tal que los n_j primeros coeficientes son no nulos y los $n-n_j$ restantes se asumen cero. Denominaremos $\mathbf{A}_{[j]}$ al vector columna de dimensión n_j constituido por dichos elementos. Del mismo modo, $a_{i[j]}^*$ serán los coeficientes ordenados de la columna j -ésima de $\mathbf{A}_{\text{ind}}^*$ de manera que los m_j primeros son los no nulos. El vector columna de dichos coeficientes será denominado $\mathbf{A}_{[j]}^*$. De acuerdo a la notación introducida, los coeficientes de cada ecuación se podrán expresar

$$\begin{pmatrix} \mathbf{A}_{[j]} \\ \mathbf{0}_{(n-n_j)} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} a_{j[1]} \\ \vdots \\ a_{j[n_j]} \\ 0 \\ \vdots \\ 0 \end{pmatrix} \quad \text{y} \quad \begin{pmatrix} \mathbf{A}_{[j]}^* \\ \mathbf{0}_{(m-m_j)} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} a_{j[1]}^* \\ \vdots \\ a_{j[m_j]}^* \\ 0 \\ \vdots \\ 0 \end{pmatrix} \quad (4.5.33)$$

De la relación $\Theta \mathbf{A}_{\text{dep}}^t = -\mathbf{A}_{\text{ind}}^t$ se deduce que, para la ecuación i -ésima, se puede escribir

$$\Theta \begin{pmatrix} \mathbf{A}_{[i]} \\ \mathbf{0} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mathbf{A}_{[i]}^* \\ \mathbf{0} \end{pmatrix} \quad (4.5.34)$$

lo que induce de forma natural el considerar la partición

$$\Theta = \left(\begin{array}{c|c} \Theta_1(m_i \times n_i) & \Theta_2(m_i \times (n-n_i)) \\ \hline \Theta_3((m-m_i) \times n_i) & \Theta_4((m-m_i) \times (n-n_i)) \end{array} \right) \quad (4.5.35)$$

Para la ecuación i -ésima, la expresión (4.5.34) equivale a resolver los dos sistemas

$$\begin{aligned} \Theta_1 \mathbf{A}_{[i]} &= \mathbf{A}_{[i]}^* \\ \Theta_3 \mathbf{A}_{[i]} &= \mathbf{0}_{(m-m_i)} \end{aligned} \quad (4.5.36)$$

lo que permitirá, de manera subsiguiente, obtener estimaciones de los vectores $\mathbf{A}_{[i]}$ y $\mathbf{A}_{[i]}^*$ a partir de las estimaciones dados por $\hat{\Theta}$.

En el primero de los sistemas de (4.5.36), hay tantas ecuaciones como coeficientes tiene $\mathbf{A}_{[i]}^*$, esto es m_i , de manera que si se puede resolver el segundo sistema para estimar $\mathbf{A}_{[i]}$, se tendría estimado $\mathbf{A}_{[i]}^*$. Por otra parte, el segundo sistema es un sistema lineal y homogéneo de $m-m_i$ ecuaciones con n_i incógnitas, que son los elementos de $\mathbf{A}_{[i]}$. El álgebra lineal establece que un sistema lineal homogéneo completo tiene solución no nula solo si la matriz de coeficientes es singular (Burgos, 1977), por tanto, se tiene que verificar la condición

$$\text{Rg}(\Theta_3) = n_i - 1 \quad (4.5.37)$$

que es la llamada *condición de rango* (Johnston, 1984). Si esta condición se satisface, se pueden obtener los componentes de $\mathbf{A}_{[i]}$, salvo quizá por una constante de proporcionalidad. Una alternativa para dar unicidad a la solución es *normalizar* el sistema (4.5.24) dividiendo cada ecuación por el coeficiente de una de las variables, de tal manera que se consiga un $a_{ij}=1$ para todo i .

La condición de rango proporciona una condición necesaria y suficiente para la identificación de una ecuación. Si $\text{Rg}(\Theta_3) < n_i - 1$ entonces la ecuación i no está identificada, y si $\text{Rg}(\Theta_3) < n_i$ entonces el sistema tendría como única solución a la trivial.

Una condición que es necesaria pero sin embargo no es suficiente, es la *condición de orden*, según la cual la matriz Θ_3 solo podrá tener rango igual a n_i-1 si se cumple la condición $m-m_i \geq n_i-1$. Esta condición se traduce en que el número de variables predeterminadas excluidas de la ecuación sea mayor o igual que el número de variables dependientes incluidas, como explicativas, en dicha ecuación. A continuación se resumen estas condiciones:

Ecuación i	Condición de orden	Condición de rango
1. Subidentificada	$m - m_i < n_i - 1$	
2. Posiblemente identificada	$m - m_i \geq n_i - 1$	
2.1. Sobreidentificada		$m - m_i > n_i - 1$ y $\text{rg}(\Theta_3) = n_i - 1$
2.2. Exactamente identificada		$m - m_i = n_i - 1$ y $\text{rg}(\Theta_3) = n_i - 1$
2.3. No identificada		$m - m_i \geq n_i - 1$ y $\text{rg}(\Theta_3) < n_i - 1$

4.6 Comentarios finales sobre la necesidad del planteamiento estadístico

4.6.1 La aproximación analítica y el ajuste estadístico

En la BST, el concepto de *aproximación* toma su sentido más analítico: el que viene dado por el teorema de Taylor. En consecuencia, el formalismo de la ley potencial aparece, en el espacio doble logarítmico, como la recta tangente a la función que se desea aproximar (la correspondiente al modelo mecanicista) en el punto designado como valor nominal.

Una primera cuestión que surge aquí se refiere a la identidad de ese (tan nombrado) valor nominal. Un sistema bioquímico, por estable que pueda resultar su régimen de funcionamiento (algo que, desde luego, no siempre ocurre), siempre estará sometido a perturbaciones externas de naturaleza aleatoria, y también a las propias fluctuaciones internas. De acuerdo con Nicolis y Prigogine (1997), las variables de estado de los sistemas que están constituidos por un gran número de elementos que interaccionan entre sí, deben formularse en sentido estadístico. La justificación está clara: el valor que el investigador asume como representante del régimen de funcionamiento del sistema, no es más que uno de los valores posibles en que éste se puede encontrar. Por tanto, lo lógico sería entender los valores nominales en términos probabilísticos, o al menos, poder disponer de una medida que indique el efecto de las fluctuaciones sobre el valor que se asume como nominal.

Una idea que se desprende de aquí es la de considerar, en lugar de un *valor* nominal, una *región* nominal. De acuerdo con esto, el sistema será libre de fluctuar en una región que el experimentador pueda *controlar* en términos de la formulación del modelo. Ahora, en lugar de elaborar el modelo y comprobar *a posteriori* su rango de validez (esta es la filosofía de la BST), se trata de hacerlo al revés: se establecen los márgenes en los que el modelo debe ser válido como punto de partida para su elaboración.

Este último punto de vista, que es el propio de la Estadística, debe llamarnos la atención sobre una cuestión importante: el formalismo de la ley potencial debería contemplarse como un modelo de tipo empírico.

Cuando se trata con este tipo de modelos, un principio fundamental es que su validez, como base de las inferencias, viene condicionada por los propios límites de la región cubierta por la observación. La razón es obvia, los modelos empíricos son de naturaleza interpoladora, puesto que el criterio bajo el cual se ajustan sus parámetros es el de intentar aproximar, lo mejor posible, a *todos* los puntos que se estén considerando. De acuerdo con Box *et al.* (1988), son los modelos mecanicistas los que proporcionan las bases para la extrapolación, aunque hay que considerar siempre, que la inferencia más allá de los límites de la observación puede no ser adecuada.

Considerando que efectivamente, se asume una *región* nominal y no un *valor* nominal, el fundamento de la aproximación sigue siendo el teorema de Taylor. Sin embargo, este cambio de perspectiva conlleva otro cambio importante en la concepción del problema. Cuando se asume un solo valor nominal, toda la información que lleva al modelo polinómico de aproximación, procede del conocimiento de ese punto y del valor que en él tomen las derivadas de la función de referencia. Sin embargo, cuando se contempla la aproximación en una región más amplia, la información ya no se obtiene a partir de un solo punto. Aquí hay implicado otro cambio cualitativo importante, pues estamos pasando de *lo continuo* con que trabaja el teórico haciendo uso de técnicas analíticas, a *lo discreto*, que es lo único de lo que dispone el experimentador, quién deberá servirse de herramientas estadísticas.

Metodológicamente, la diferencia entre los puntos de vista, el analítico y el empírico, es que en el primero la calidad de la aproximación viene dada por que el proceso tenga un comportamiento *suave* y no se aleje mucho del modelo que lo aproxima. Sin embargo, desde el punto de vista empírico, se establece primero la región en que va a ser estudiada la función para determinar después cuál es el polinomio de Taylor que la aproxima. Entre ambos puntos de vista se pueden encontrar dos diferencias. La primera es que el analítico trata con funciones continuas, mientras que el experimental lo hace con puntos discretos (las observaciones). La segunda, es que esos puntos discretos están afectados por distintas fuentes de variación aleatoria que, a efectos del modelo, se agrupan en un término de error experimental.

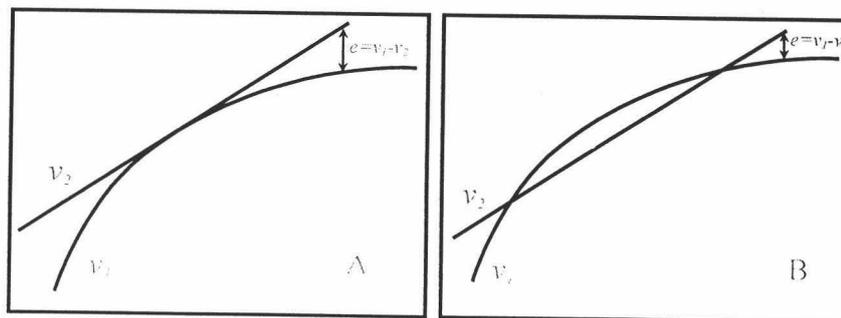


Figura 4.6.1.- Dos criterios de aproximación a una función continua. En (A) toda la información para la aproximación la aporta un solo punto y su derivada. En (B) se intenta que la aproximación v_2 lo sea respecto a un recorrido concreto de la función original v_1 .

4.6.2. Crítica a la metodología clásica de experimentación

La filosofía *clásica* de experimentación, supone determinar el efecto de una variable (por ejemplo su orden cinético aparente), mediante la modificación de los niveles de esa *única* variable, al tiempo que se eliminan los efectos de las restantes manteniéndolas fijas a un determinado nivel (el valor nominal). Sin embargo, este procedimiento es deficiente cuando existe variabilidad experimental, y puede conducir a resultados equivocados cuando existe interacción (Hicks, 1982; Box *et al*, 1988; Peña, 1989).

Para ilustrar esta última idea, considérese la situación representada en la figura 4.6.2. Un proceso viene determinado por la acción conjunta de dos factores, x_1 y x_2 . El investigador trata de determinar el efecto de cada uno de esos factores manteniendo fijo el otro, de manera que toma observaciones a lo largo de las rectas representadas en la figura. Si reparamos en los tres puntos señalados, la conclusión sería que tanto al aumentar x_1 como al hacerlo con x_2 , hay una reducción de la respuesta. Sin embargo, el método de observación seguido, no pone de manifiesto que el aumento conjunto de las dos variables induce un aumento efectivo de la variable respuesta.

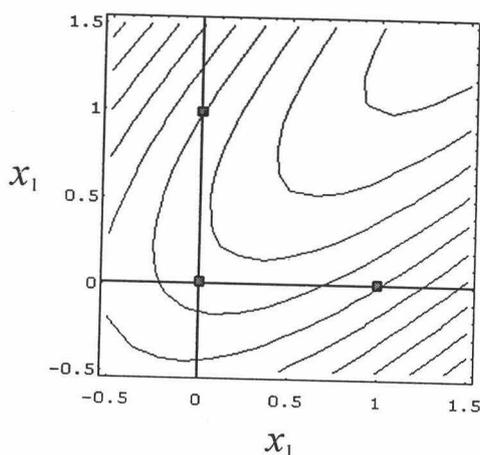


Figura 4.6.2.- Filosofía clásica de experimentación

El problema es que el tipo de planteamiento seguido, supone de forma implícita que el modelo es

$$w(x_1, x_2) = w_0 + g_1 x_1 + g_2 x_2, \quad (4.6.1)$$

y sin embargo, no se considera que el cambio en un factor produce un cambio diferente en la respuesta cuando se modifican los niveles del otro factor. En este

caso, en que se dice que hay *interacción* entre los dos factores, el modelo adecuado sería

$$w(x_1, x_2) = w_0 + g_1x_1 + g_2x_2 + g_{12}x_1x_2 \quad (4.6.2)$$

La otra deficiencia encontrada en la metodología clásica, era referente a la estimación del error experimental. En principio, la estimación del error precisa de la repetición del experimento. Si se supone el caso anterior donde participan dos variables, se necesitarían cuatro experimentos clásicos para estimar la magnitud del efecto de x_i y su error experimental, pero siempre referidos a $x_j=x_{j0}$. Si ahora se quiere determinar el efecto de x_j y su error, serán necesarios al menos dos nuevos experimentos manteniendo $x_i=x_{i0}$.

De forma alternativa, se puede observar el efecto de las variables x_i y x_j modificando de manera simultánea ambas variables. De este modo, solo se precisan cuatro experimentos para poder dar una idea del error experimental así como de la interacción entre las variables. La cuestión es que *todos* los datos se utilizan en estimar los efectos de *todas* las variables.

Esta alternativa, según la cual se introducen en la experimentación todas aquellas variables que puedan afectar simultáneamente a la respuesta, es lo que se denomina un *experimento factorial*, que de manera más formal se define como aquel en donde *todos* los niveles de un factor son combinados con *todos* los niveles de los factores restantes (Peña, 1989).

Una aplicación inmediata en el contexto de la BST sería la estimación de ganancias logarítmicas. Supongamos un sistema con 10 variables independientes. Se varía cada una de ellas, digamos dos veces, con el fin de tener una idea del error experimental, sin embargo, tras 20 experimentos no se puede decir cual es el efecto de cambiar simultáneamente dos variables.

4.6.3 Algunas cuestiones sobre el diseño factorial

Las ventajas del diseño factorial, descritas en el apartado anterior, son más notorias en la medida en que el número de factores aumenta. Sin embargo, hay otro aspecto que queda por resolver, y es cómo determinar la región en la que se lleva a cabo la experimentación. Sin embargo, la cuestión de qué puntos tomar es una pregunta que solo puede responderse adecuadamente una vez que se dispone de suficiente información acerca del proceso estudiado. De acuerdo con Box *et al.* (1988), se da la paradoja de que el mejor momento para diseñar un experimento es una vez que este ha concluido, de manera que el peor momento para realizar el diseño es precisamente al principio, cuando apenas se conoce la naturaleza del proceso bajo estudio.

En esta fase inicial de desconocimiento, es fundamental la puesta en práctica de *diseños exploratorios* según un *programa de experimentación secuencial*, el cual va a permitir explotar tanto la información como el esfuerzo

experimental realizado en las primeras fases, donde no se conoce la forma de la respuesta, para mejorar la elección de puntos experimentales en etapas subsiguientes. Según Box *et al.* (1988), la experimentación secuencial debe permitir:

1. cambiar la localización del experimento en el espacio de las variables a una localización mas prometedora.
2. eliminar variables incluidas inicialmente, que resultan no tener efecto, e incluir otras variables no contempladas (el espacio de factores explorados puede cambiar)
3. La evidencia experimental puede sugerir la transformación de variables para explicar mejor la respuesta.
4. Revelar pautas de comportamiento insospechadas

Box *et al.*(1988) sugieren la *regla del 25%* que se traduce en que no mas de un cuarto del experimento sea realizado en las etapas iniciales.

Por otra parte, disponer de suficiente información implica conocer: 1) qué variables son las mas importantes; 2) sobre qué rangos deben ser estudiadas las variables; 3) en qué métrica deben ser consideradas (p.e. logarítmica, lineal, etc.); y 4) que transformaciones deben realizarse (por ejemplo: x_1+x_2 , x_1/x_2 , etc.) (Box y Draper, 1987; Box *et al.* 1988). En este sentido, los diseños factoriales son decisivos a la hora de permitir el descubrimiento de similitudes y simplificaciones, facilitando así el proceso de construcción del modelo.

Un diseño factorial se puede abordar según distintas estrategias. El estudio de las mismas es un campo extraordinariamente extenso y que constituiría un aporte de indudable valor a la BST. Por el momento, a efectos de este trabajo, tan solo citar los objetivos que de cara a la BST convendría perseguir en términos de diseño (cf. Box y Draper, 1987):

1. Proporcionar una distribución razonable de los puntos experimentales, de manera que suministren suficiente información acerca de la región de interés, o según se expuso en 4.6.1, la que vendrá a ser la *región nominal*.
2. Permitir la investigación de la calidad del modelo, especialmente la falta de ajuste. De este modo se puede establecer, de manera apropiada, la validez del formalismo de la ley potencial.
3. Permitir la extensión, de manera secuencial, a modelos de orden superior.
4. Proporcionar un estimación del error.
5. Reducir el esfuerzo experimental. Esto supone: precisar un número limitado de pruebas experimentales y no requerir excesivas combinaciones de los niveles de las variables que actúan como factores.

4.6.3.1.- Algunos comentarios sobre diseños para ajustar el modelo de primer grado. La clase de diseños que minimiza la varianza de los coeficientes de regresión son los *diseños ortogonales*. La ortogonalidad implica que la matriz de diseño $L'L$ sea diagonal, i.e. que $l_{i(t)}l_{j(t)}=0$.

La ortogonalidad es la propiedad más deseable de los diseños de primer orden (cf. Box *et al.* 1988), pues tiene consecuencias importantes sobre la varianza de la respuesta: $V(\hat{w})$. La cuestión tiene que ver con la *función de información*, que se define como la recíproca de la varianza $I=V(w)^{-1}$ (Box y Draper, 1987), de manera que, en un diagrama de contorno, los contornos de la varianza equivalen a los de la función de información. Es deseable que dichos contornos sean círculos concéntricos. Cuando así ocurre, se dice que el diseño es *rotacional*, y la magnitud del error (la varianza) en un punto dado, solo dependerá de su distancia al punto central, y no de la dirección que quede definida por ambos puntos.

Además, un diseño rotacional no modifica la varianza relativa a la estimación de la respuesta al *rotar* sobre el centro (de ahí su nombre). Esta propiedad es muy deseable de cara al análisis canónico, ya que entonces, el error de los coeficientes canónicos, concretamente el de los autovalores, se puede asumir igual al error de los coeficientes cuadráticos del modelo (Box y Draper, 1987). Un diseño ortogonal de primer orden es rotacional (Box *et al.*, 1988).

La clase de diseños ortogonales de primer orden incluye a los modelos factoriales 2^k y a las fracciones de los mismos en donde no se de confusión entre los efectos principales. En este punto es importante la codificación de los factores en niveles ± 1 . Por otra parte, la estimación del error experimental supone la replicación de, al menos, algunas medidas. Una forma común de incluir replicación en un diseño 2^k es aumentarlo con observaciones adicionales en el centro del diseño. La adición de puntos en el centro no altera las estimaciones puntuales de los efectos ni las propiedades de ortogonalidad. No obstante, si que influye sobre el término independiente (la gran media). Otra forma alternativa de replicar es el *simplex*. Se trata de una figura regular con $k+1$ vértices en k dimensiones. Para $k=2$ se trata de un triángulo, para $k=3$ de un tetraedro regular, etc. (véase Cox y Coxhran,).

4.6.3.2.- Algunos comentarios sobre diseños para ajustar el modelo de segundo grado. Para poder ajustar un modelo de segundo grado, se necesitan al menos tres niveles para cada factor. Esto sugiere que puede ser razonable un diseño 3^k , en donde los niveles (-1, 0, 1) de cada factor se combinan con los restantes (figura 4.6.3).

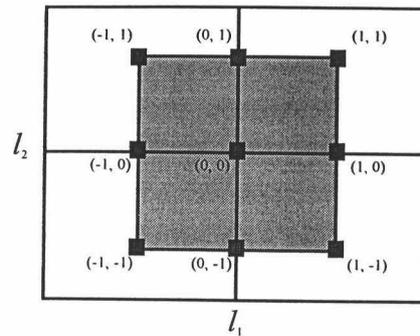


Figura 4.6.3.- Diseño 3^2

Sin embargo, el diseño 3^k es poco recomendable debido principalmente a tres tipos de inconvenientes, que son válidos para las fracciones factoriales de los 3^k :

1. no son rotacionales.
2. en la medida en que aumenta el número de factores, los experimentos pueden hacerse excesivamente grandes.
3. los coeficientes relativos a los términos cuadráticos, se estiman con baja precisión (Box y Wilson, 1951).

Como alternativa a este tipo de diseños, se pueden considerar los denominados *diseños compuestos centrales*, que fueron desarrollados por Box y Wilson (1956) para el ajuste de superficies de segundo orden.

Un diseño de este tipo consiste en considerar un diseño 2^k , o una fracción factorial del mismo, aumentado con $2k$ puntos axiales, que vienen dados por los vectores de diseño:

$$(\pm a, 0, 0, \dots, 0), (0, \pm a, 0, \dots, 0), \dots (0, 0, \dots, \pm a)$$

mas N_c puntos centrales $(0, 0, \dots, 0)$.

La elección del valor a y del número de puntos centrales N_c determinarán las propiedades del diseño:

Si N_f es el número de puntos de la porción factorial de tipo 2^k , el diseño será rotacional siempre que se considere $a=(N_f)^{1/4}$ (Box y Wilson, 1956). Por ejemplo, en un diseño con $k=3$ factores de los que se tienen $N_f=8$ medidas según un diseño factorial 2^3 , el valor de $a=8^{1/4}=1.682$, de manera que el diseño se aumentará con

$$(\pm 1.682, 0, 0), (0, \pm 1.682, 0), (0, 0, \pm 1.682)$$

mas el número de puntos centrales que se considere. Por otra parte, la elección del número de puntos centrales puede conferir otras propiedades al diseño, como son la ortogonalidad o que tenga precisión uniforme.

La precisión uniforme supone que la varianza de la estimación de la respuesta en el origen sea igual a la varianza a una unidad de distancia del mismo. Esta propiedad previene contra la aparición de sesgos en las estimaciones debidos a efectos de orden superior (tercero o mayor), de forma mas apropiada que la ortogonalidad.

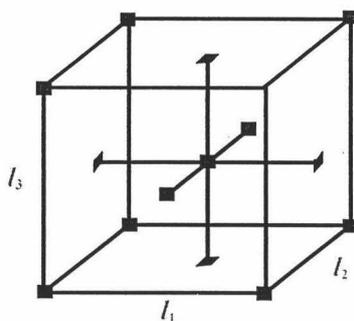


Figura 4.6.4.- Diseño compuesto central para $k=3$ factores.

Otra característica que hace muy convenientes a este tipo de diseños es que se pueden construir, según un programa secuencial, a partir de un diseño 2^k exploratorio.

Box y Behnken (1960; véase Box y Draper, 1987) han propuesto alternativas para el ajuste de superficies de respuesta. Estos diseños están formados por combinaciones factoriales 2^k con diseños en bloques incompletos. El resultado es una eficiencia alta (en términos del número de observaciones requeridas) y la rotabilidad o cuasi-rotabilidad del diseño.

4.6.3.3. Ajuste alternativo de una superficie PL2 al modelo de Ritcher y Betz. Para finalizar este apartado, sirva como ilustración el ajuste, desde una perspectiva estadística, del modelo de Ritcher y Betz para describir el control de la PFK. No se va a profundizar en cuestiones de diseño, sino que mas bien, se trata de mostrar la diferencia entre el ajuste analítico y el empírico (aunque a lo que se va a hacer aquí, mejor sería llamarle *pseudoempírico*).

En la sección 2.5.6.2 se hizo un ajuste clásico (en la línea habitual de la BST) de un modelo de segundo grado, observando que la caracterización de la región de saturación no queda bien representada por la región decreciente de la superficie de segundo grado. El problema, llevado a tres dimensiones, es el que se vio en §2.2 (cf. con la figura 2.3.2b).

4.6. Comentarios finales sobre la necesidad del enfoque estadístico

Si en lugar de considerar un ajuste de tipo analítico, en donde toda la información la aporta el punto escogido como valor nominal, se desarrolla el modelo según un criterio estadístico, la calidad del ajuste mejora notablemente. En este apartado se han considerado 27 observaciones del modelo de Ritcher y Betz de acuerdo con un diseño factorial 3^3 . Este tipo de diseño puede suele no ser el mas adecuado, puesto que no es rotacional. Sin embargo, aquí no se ha considerado error experimental y el modelo debe entenderse (únicamente) dirigido a ilustrar las diferencias entre el ajuste de tipo analítico y el de tipo empírico.

La matriz de diseño se da en la tabla 4.6.1. La región de interés se ha restringido a los límites $-1 \leq l_i \leq 1$ para $i=1,2,3$.

Tabla 4.6.3.- Diseño 3^3 para la obtención de puntos a partir del modelo de Ritcher y Betz.

l_1	l_2	l_3	l_1^2	l_2^2	l_3^2	$l_1 l_2$	$l_1 l_3$	$l_2 l_3$	w
-1	-1	-1	1	1	1	1	1	1	-1.5745
0	-1	-1	0	1	1	0	0	1	-5.1989
1	-1	-1	1	1	1	-1	-1	1	-9.1549
-1	0	-1	1	0	1	0	1	0	-0.2366
0	0	-1	0	0	1	0	0	0	-1.6600
1	0	-1	1	0	1	0	-1	0	-5.3760
-1	1	-1	1	1	1	-1	1	-1	-0.1704
0	1	-1	0	1	1	0	0	-1	-0.2249
1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1.6941
-1	-1	0	1	1	0	1	0	0	-0.1548
0	-1	0	0	1	0	0	0	0	-1.6901
1	-1	0	1	1	0	-1	0	0	-5.4379
-1	0	0	1	0	0	0	0	0	-0.0781
0	0	0	0	0	0	0	0	0	-0.1536
1	0	0	1	0	0	0	0	0	-1.8349
-1	1	0	1	1	0	-1	0	0	-0.0763
0	1	0	0	1	0	0	0	0	-0.0668
1	1	0	1	1	0	1	0	0	-0.1536
-1	-1	1	1	1	1	1	-1	-1	-0.0415
0	-1	1	0	1	1	0	0	-1	-0.1114
1	-1	1	1	1	1	-1	1	-1	-1.7407
-1	0	1	1	0	1	0	-1	0	-0.0398
0	0	1	0	0	1	0	0	0	-0.0304
1	0	1	1	0	1	0	1	0	-0.1230
-1	1	1	1	1	1	-1	-1	1	-0.0398
0	1	1	0	1	1	0	0	1	-0.0285
1	1	1	1	1	1	1	1	1	-0.0263

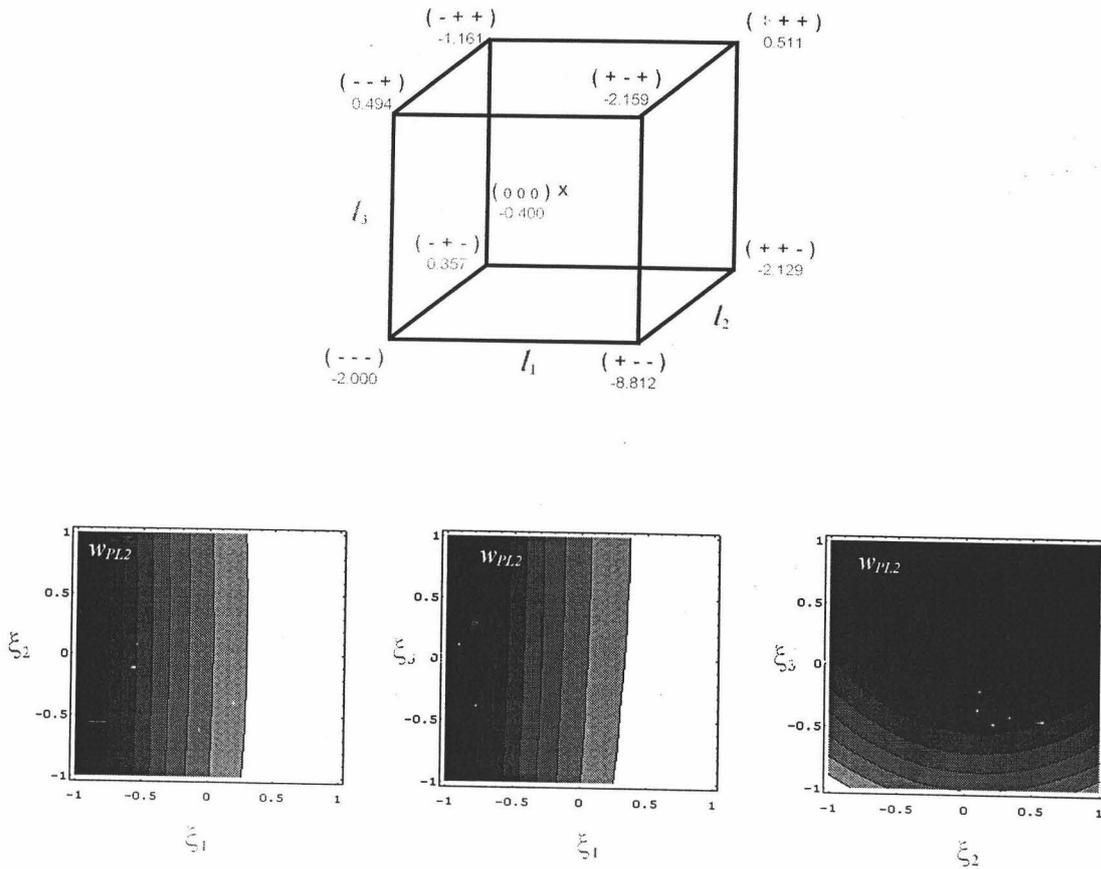


Figura 4.6.5.- Cubo de diseño y superficies de contorno del modelo (4.6.3). (Cf. estos contornos con los de la figura 2.5.8.)

El modelo PL2 resultante del ajuste mínimo cuadrático, viene especificado por los parámetros

$$w_0 = -0.3998; \quad \mathbf{g} = \begin{pmatrix} -1.2850 \\ 1.2569 \\ 1.2838 \end{pmatrix}; \quad \frac{1}{2} \mathbf{G} = \begin{pmatrix} -0.5347 & 0.5406 & 0.5198 \\ 0.5406 & -0.4734 & -0.5017 \\ 0.5198 & -0.5017 & -0.4544 \end{pmatrix} \quad (4.6.3)$$

El análisis canónico de esta superficie revela la misma estructura que en el caso analítico:

$$\boldsymbol{\gamma} = \begin{pmatrix} 2.2078 \\ -0.0111 \\ -0.0680 \end{pmatrix}; \quad \boldsymbol{\lambda} = \begin{pmatrix} -1.5304 \\ -0.0412 \\ 0.0267 \end{pmatrix}; \quad \mathbf{U} = \begin{pmatrix} -0.6016 & 0.3868 & -0.6989 \\ 0.5722 & 0.8192 & -0.0391 \\ 0.5574 & -0.4234 & -0.7142 \end{pmatrix} \quad (4.6.4)$$

4.6. Comentarios finales sobre la necesidad del enfoque estadístico

Hay una variable canónica dominante que explica la mayor proporción de la variabilidad de la respuesta, de manera que el modelo puede expresarse, en coordenadas canónicas, según:

$$w_{PL2} = -0.3998 + 2.2078\xi_1 - 1.5304\xi_1^2 \quad (4.6.5)$$

a partir del cual, la recuperación de coeficientes es prácticamente total:

$$\mathbf{g}_{u_1} = \begin{pmatrix} -1.3235 \\ 1.2588 \\ 1.2263 \end{pmatrix}; \quad \frac{1}{2}\mathbf{G}_{u_1} = \begin{pmatrix} -0.5537 & 0.5267 & 0.5131 \\ 0.5267 & -0.5009 & -0.4880 \\ 0.5131 & -0.4880 & -0.4754 \end{pmatrix} \quad (4.6.6)$$

En la figura 4.6.6 se ha representado este perfil que debe compararse con el de la figura 2.5.6.

Tabla 4.6.4.- Error relativo en la recuperación de coeficientes en la métrica original a partir de la variable canónica dominante ξ_1

coeficientes de primer grado $\left \frac{(g_{j0} - g_{j0u_1})}{g_{j0}} \right $	coeficientes de segundo grado $\left \frac{(g_{jk} - g_{jk u_1})}{g_{jk}} \right $		
3.0%	3.6%	2.6%	1.3%
0.2%	2.6%	5.8%	2.7%
4.5%	1.3%	2.7%	4.6%

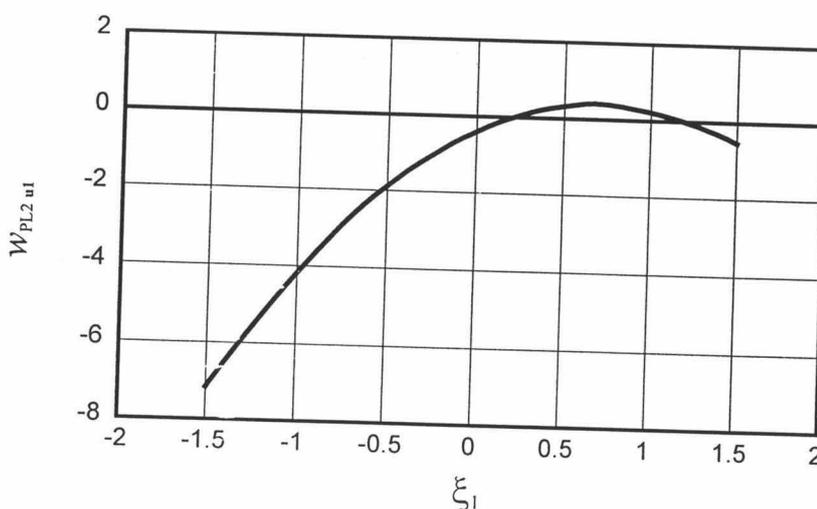


Figura 4.6.6.- Perfil de la reducción a un solo eje canónico de la aproximación de segundo grado al modelo de Ritcher y Betz.

Resumen de las aportaciones realizadas

Resumen de las aportaciones realizadas

- A Un aspecto propio de la metodología de las superficies de respuesta, es la extensión de los modelos polinómicos de primer grado a modelos cuadráticos. En este trabajo se ha desarrollado plenamente el formalismo de la ley potencial de segundo grado (PL2), contemplado como modelo polinómico de tipo cuadrático en el espacio doble logarítmico.

En este sentido, sobre la base de la formulación PL2, se ha dado una representación de los procesos catalizados enzimáticamente en términos de una superficie de segundo grado en los términos de la Teoría de Sistemas Bioquímicos (BST).

De manera concisa, las aportaciones basadas en el desarrollo del formalismo PL2 han sido:

1. Describir cómo el formalismo de segundo grado permite caracterizar no linealidades relativas al espacio doble logarítmico. Estas no linealidades se dan a dos niveles: desviación de la linealidad en la dirección marginal de cada variable (cuya magnitud se recoge por los términos cuadráticos), e interacción con otras variables (que queda representada por los términos correspondientes a los productos cruzados). Los puntos de interés relativos a la aplicación de este formalismo, han sido:
 - La caracterización de cinéticas unireactivas. Poniendo de manifiesto la capacidad del formalismo para caracterizar el error de aproximación del formalismo de primer grado.
 - Se ha puesto de manifiesto la capacidad del formalismo para representar cinéticas de comportamiento no monótono.
 - Se ha caracterizado la representación de cinéticas multireactivas, poniendo de manifiesto la posibilidad de que existan extremos relativos condicionadas a determinadas direcciones de cambio en las variables.
 - Se ha descrito la relación mantenida entre los coeficientes de primer y segundo grado, cuando el mecanismo descrito es *esencialmente hiperbólico* (en el sentido de Michelis-Menten).
2. Desarrollar el análisis canónico del formalismo de segundo grado enmarcándolo en el análisis de los sistemas bioquímicos. Este tipo de análisis permite obtener una representación *normalizada* del fenómeno estudiado, a partir de la cual es posible:
 - Clasificar, bajo criterios formales, el tipo de respuesta.
 - Obtener combinaciones lineales de las variables (en la métrica logarítmica) que constituyen las *variables canónicas* o *agregados*

canónicos. La formación de este tipo de agregados está dirigida por la propia naturaleza de la respuesta. Para estas variables canónicas se han definido:

- *medidas indicadoras* de su relevancia en la explicación del proceso
- un *método* de reducción de las dimensiones en que tiene lugar la respuesta, así como criterios de recuperación de coeficientes en la métrica original.
- Determinar la calidad de la aproximación de primer grado en términos de:
 - la magnitud de la desviación de la respuesta
 - la dirección (entendida como cambios simultáneos de distintas variables) en que se consigue una mejor o peor representación.
- Analizar las características resultantes al obtener modelos mediante un proceso de agregación.
- Las posibilidades del análisis canónico quedan ilustradas a partir de tres situaciones analizadas
 - Análisis del mecanismo de inhibición competitiva. Este tipo de modelo representa el patrón de comportamiento de los mecanismos de adición secuencial de ligandos. Con este modelo se ha ilustrado la forma en que el análisis canónico permite detectar las *direcciones fundamentales del cambio* en la respuesta.
 - Análisis del mecanismo de control de la fosfofructoquinasa (PFK) según el modelo de Richer y Betz (Spain, 1985). Este modelo sirve como referencia para:
 - ⇒ ilustrar la capacidad del análisis canónico para *reducir la complejidad* (semiótica) de un fenómeno de tipo alostérico (extraordinariamente no lineal).
 - ⇒ ilustrar lo poco adecuado que puede resultar la obtención del modelo potencial bajo una filosofía de ajuste puramente analítica. Se debería sustituir el concepto de *valor nominal* por el de *región nominal*. En este sentido, deben compararse los resultados de los apartados 2.5.6.2 (pág. 123) y 4.6.3.3 (pág. 316).
 - ⇒ Cinética de la fumarasa. Pone de manifiesto la mayor adecuación de la *estrategia reversible* que la *irreversible* para la agregación de flujos (procedimiento básico en la obtención de sistemas S)

3. Se ha descrito cómo los modelos de segundo grado permiten:
 - servir como *soporte* para el refinamiento de los modelos de primer grado.
 - introducir diferentes valores nominales de referencia (relativos a una misma variable) en un único modelo.
 - caracterizar fenómenos que el formalismo de primer grado no es capaz de hacer. Esta idea se ilustra formulando, en términos del formalismo de segundo grado, el modelo teórico de Boiteux *et al.* (1980) para explicar la regulación del ciclo de la PFK-FBPasa. El modelo aquí obtenido es capaz de representar:
 - ⇒ el fenómeno de biestabilidad que caracteriza a los regímenes glucolítico y gluconeogénico de la etapa considerada.
 - ⇒ el acoplamiento entre las señales reguladoras que evitan el reciclaje de sustratos.
 - ⇒ el fenómeno de histeresis que caracteriza la transición entre ambos regímenes.
4. Se ha caracterizado cómo el formalismo de la ley potencial de segundo grado es la extensión natural del formalismo de primer grado. Esto se ha hecho en los siguientes términos:
 - Se ha desarrollado una estrategia de agregación de modelos de segundo grado que permita definir sistemas S de segundo grado a partir de sistemas generales GMA. El análisis canónico permite evaluar las propiedades del modelo resultante de la agregación.
 - Se han aplicado los criterios descritos en la BST para ganar eficiencia computacional. La implementación del método de Taylor se puede realizar del mismo modo que en los modelos de primer grado.
5. A partir de los modelos de segundo grado se pueden obtener modelos de primero por lo que se ha dado en llamar *relajación* del sistema de segundo grado. Sin embargo, la vía de la reformulación (*recasting*) no parece prometedora, y los modelos de segundo grado son más *parsimoniosos* que los de primero obtenidos por esta vía.
6. Basado en el formalismo de segundo grado, se ha desarrollado la forma de caracterizar el error de estado estacionario de un sistema S. En este sentido se ha desarrollado un algoritmo para refinar el estado estacionario sin recurrir a la integración numérica del sistema.

B Otro aspecto fundamental de este trabajo es el programa informático desarrollado SPL2. En él se hacen dos aportaciones fundamentales:

- la programación orientada a objetos de cara a la simulación de procesos metabólicos.
- la implementación eficiente de sistemas descritos mediante el formalismo de la ley potencial de segundo grado.

Este programa materializa la forma en que el autor de este trabajo concibe el establecimiento de los modelos que nos ocupan. Con el presente trabajo se entrega una copia del mismo.

C Desde el punto de vista estadístico, se ha justificado la necesidad de introducir métodos y técnicas propias de la Inferencia Estadística en la BST (algo que no se ha hecho en ninguna medida hasta el momento). De manera mas concreta, en este trabajo:

- Se ha establecido las condiciones en que el formalismo de la ley potencial de primer grado puede ser visto como un especificación lineal
- Se ha caracterizado el efecto de la transformación doble logarítmica inherente al formalismo de la ley potencial
- Se ha formulado el modelo de la ley potencial como modelo de regresión múltiple y se ha establecido la forma de su estimación bajo el supuesto de que se verifiquen las condiciones del teorema de Gauss-Markov
- Se ha caracterizado la forma en que se deben hacer las inferencias sobre la función flujo asociada a cada etapa de velocidad. En este sentido, se han descrito las implicaciones que tiene la aleatoriedad del flujo sobre las condiciones de estabilidad orbital del modelo
- Se han descrito algunos de los posibles errores de especificación del modelo de la ley potencial de primer grado como modelo de regresión múltiple. En este sentido, se ha considerado de forma especial el problema de la falta de ajuste y del indeterminismo de las variables regresoras en el contexto de la BST.
- Se ha caracterizado la forma en que se propagan los errores de medida a la determinación de parámetros de la BST a partir de datos cinéticos de procedencias diversas. En este sentido, se ha ilustrado como es posible aproximar el error de los coeficientes de primer grado, pero en general, no es posible hacer lo mismo con los coeficientes de segundo grado.
- Se ha caracterizado la forma en que se propaga el error de los parámetros locales del modelo a la caracterización del estado estacionario de los sistemas S.
- Se ha caracterizado la representación como sistemas S en términos de sistemas de ecuaciones simultáneas. Esto permite

- establecer las bases para la estimación de las ganancias logarítmicas del sistema en términos del diseño factorial
- establecer las condiciones en que pueden ser identificados los parámetros de la *forma estructural* del modelo

D De manera simultánea al desarrollo de los principales resultados de este trabajo, se ha puesto de manifiesto:

- la deficiencia de la metodología clásica de experimentación, consistente en modificar *una* variable cada vez. En su lugar deberían considerarse diseños factoriales.
- la necesidad de establecer *a priori* la región de interés en términos del dominio de las variables. En lugar de esto, en la BST se establece un *punto* de interés, de manera que a partir de aquí, el modelo va a tener carácter *extrapolador* (en lugar de *interpolador*).
- la necesidad de establecer en la BST, criterios de validación de los modelos obtenidos, según una perspectiva estadística.

Áreas de posterior investigación

El autor de estas líneas, quiso hacer un exhaustivo tratamiento estadístico de la BST y se encontró con los modelos de segundo grado.

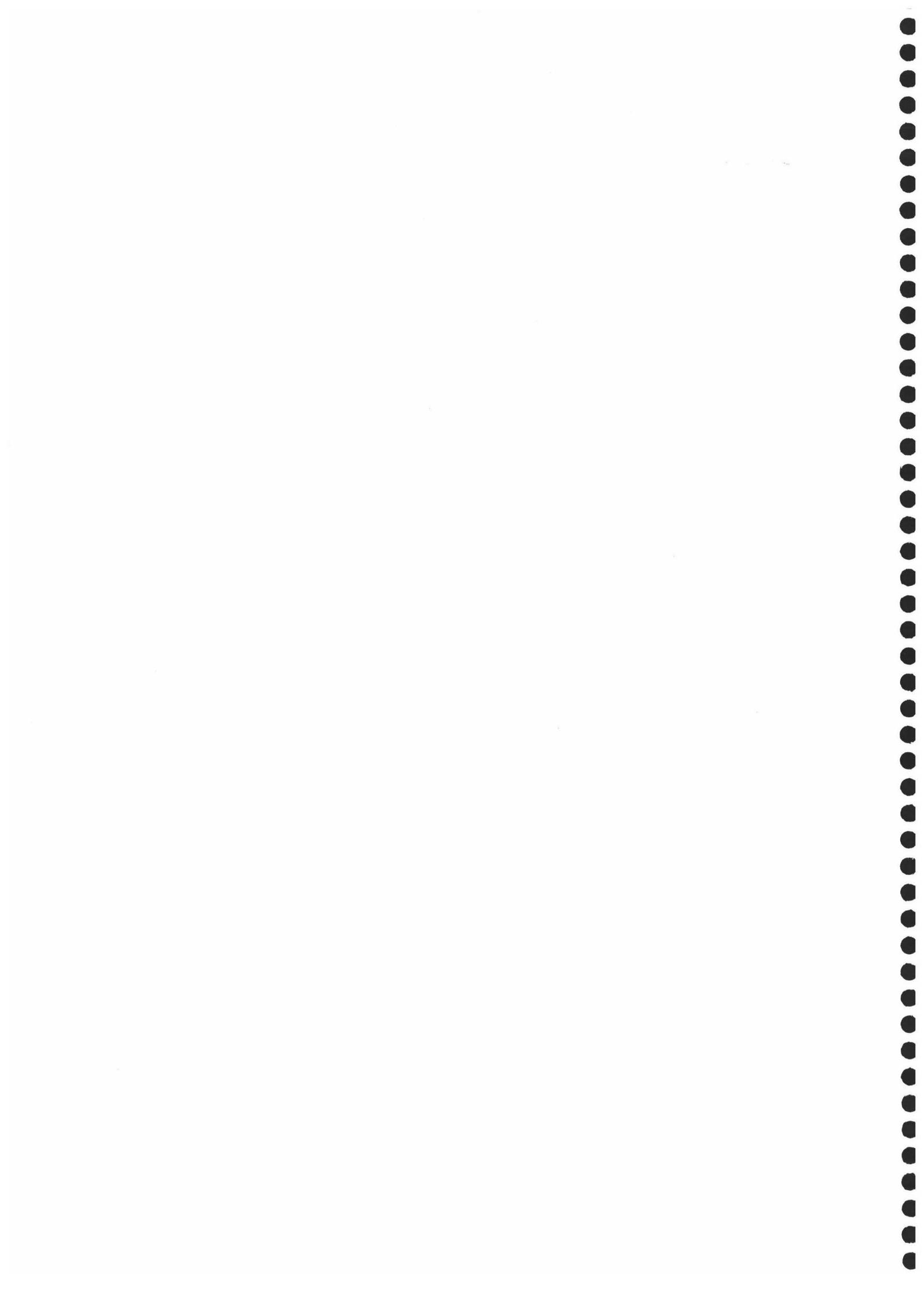
La formulación de segundo grado es fundamental, desde el punto de vista estadístico, como *modelo de referencia* que permita romper el vínculo entre los modelos de tipo mecanicista y el formalismo de la ley potencial. Sin embargo, aún queda mucho por hacer —sino *todo*—, si lo que se pretende es constituir las bases que permitan hacer de la BST una teoría *aplicada* (en el sentido más empírico).

Aquí son aplicables la gran mayoría de métodos y técnicas propias de la metodología estadística, así que el campo de estudio es lo suficientemente amplio como para permitir orientar la investigación a cuestiones variadas, como pueden ser los sistemas de ecuaciones simultáneas, el diseño experimental, o incluso el análisis causal.

Por otra parte, el programa informático que aquí se ha presentado, es tan solo, una plataforma a la que se pueden (y se deben) incorporar nuevas funciones de cálculo. En este sentido, el diseño orientado a objetos facilita enormemente la incorporación de *librerías estándar* (con la suficiente acreditación), para dotar al programa de funciones que permitan, al menos, implementar la totalidad de los resultados presentados en este trabajo.



Bibliografía



BIBLIOGRAFÍA

- ANAND, D.K. (1983) *Introduction to Control Systems*. 2nd Ed. Pergamon Press.
- APOSTOL, T.M. (1989) *Calculus. One-Variable Calculus with an Introduction to Linear Algebra*. Blaisdell Pub. Co. Waltham, Massachusetts.
- APOSTOL, T.M. (1989b) *Calculus. Multi-Variable Calculus and Linear Algebra with Applications to Differential Equations and Probability*. Blaisdell Pub. Co. Waltham, Massachusetts.
- ATKINSON, A.C. (1985) *Plots, Transformations and Regression*. Clarendon Press.
- BALZER, W. (1997). *Teorías empíricas: modelos, estructuras y ejemplos*. Alianza Universidad.
- BATES, J.H.T.; BATES, D.A.; MACKILLOP, W. (1987). "On the Difficulties fo Fitting the Double Michaelis-Menten Equation to Kinetic Data". *J. Theor. Biol.* **125**, 237-241.
- BERTALANFFY, L. VON (1978). "Historia y situación de la Teoría General de Sistemas". En *Tendencias en la Teoría General de Sistemas*. 29-53. Ed. cast. Alianza Universidad.
- BEZEAU, M.; ENDRENYI, L. (1986). "Design Experiments for the Precise Estimation of Dose-Response Parameters: the Hill Equation". *J. Theor. Biol.* **123**, 415-430
- BLACKETT, D.W. (1982) *Elementary Topology. A Combinatorial and Algebraic Approach*. Academic Press..
- BLOXHAM, D.P.; CLARK, M.G.; HOLLAND, P.C.; LARDY, H. A. (1973). "A model Study of the Fructose Diphosphatase-Phosphofructokinase Substrate Cycle" *Biochem. J.* **134**, 581-587..
- BLOXHAM, D.P.; LARDY, H.A. (1973). en *The Enzymes*. (P. D. Boyer, ed.) vol. **8**, 239-278, Academic Press, N. Y.
- BOITEUX, A.; HESS, B.; SEL'KOV, E.J. (1980). "Creative Functions of Instability and Oscillations in Metabolic Systems". *Current Topics in Cell. Reg.* **17**, 171-203.
- BOX, G.E.P.; DRAPER, N.R. (1987). *Empirical Model Building and Response Surfaces*. Wiley
- BOX, G.E.P.; HUNTER, W.G.; HUNTER J.S. (1988) *Statistics for Experimenters. An Introduction to Design, Data Analysis, and Model Building*. J. Wiley & Sons.
- BOX, G.E.P.; WILSON, K. B. (1951) "On the experimental attainment of the optimum conditions". *Jour. Roy. Stat. Soc.* **13**, 1-45.
- BURDEN, R.L.; FAIRES, J. D. (1985). *Numerical analysis*. PWS, Boston.
- BURGOS, J. (1977) *Curso de Álgebra y Geometría*. Ed. Alhambra S.A.
- CARK, M.G.; KNEER, N.; BOSCH, A.L.; LARDY, H.A. (1974). "The Fructose 1,6-Diphosphate-Phosphofructokinase Substrate Cycle". *J. Biol. Chem.* **248**, 5695-5703.
- CLELAND, W.W. (1967a) "Enzyme Kinetics". *Ann. Rev. Biochem.* **36**, 77-113.
- CLELAND, W.W. (1967b) "The Statistical Analysis of Enzyme Kinetic Data". *Advan. Enzymol.* **29**, 1-32.

- CLELAND, W.W. (1970). "Steady-state Kinetics". *The Enzymes (Vol II: Kinetics and Mechanism)* 3th. Ed. Academic Press, N.Y.
- COCHRAN, W.G.; COX, G.M. (1962). *Experimental Designs*. J. Wiley & Sons, N.Y.
- COOK, R.D.; WEISBERG, S. (1982). *Residuals and Influence in Regression*. Chapman and Hall.
- CORNISH-BOWDEN, A. (1995). *Fundamentals of Enzyme Kinetics*. Portland Press.
- CURTO, R.; SORRIBAS, A.; CASCANTE, M.. (1995). Comparative Characterization of the Fermentation Pathway of *Saccharomyces cerevisiae* Using Biochemical Systems Theory and Metabolic Control Analysis: Model Definition and Nomenclature. *Math. Biosci.* **130**, 25-50.
- CURTO, R.; VOIT, E.O.; SORRIBAS, A.; CASCANTE, M.. (1997). Validation and steady-state analysis of a power-law model of purine metabolism in man. *Biochem. J.* **324**, 761-775.
- CZERLINSKI, G.H.; ANDERSON, B. (1989) "Metabolic Amplification: Analysis of the Kinetic Detection of Low Substrate Levels". *J. Theor. Biol.* **139**, 187-200.
- DORF, R.C. (1989). *Modern Control Systems*. 5th Ed. Addison-Wesley. Reading Massachusetts.
- DRAPER, N.; SMITH, H. (1981). *Applied Regression Analysis*. (2nd Ed.) Wiley
- ELBERT, T.F. (1984). *Estimation and Control of Systems* Van Nostrand. Reinhold.
- GERVAGAULT, J.F.; CANU, S. (1987). "Biestability and Irreversible Transitions in a Simple Substrate Cycle". *J. Theor. Biol.* **127**, 439-449.
- GORDON, L.; ATKINS, G; NIMMO I. (1975). "A comparison of seven methods for fitting the Michaelis-Menten equation". *Biochem. J.* **149**, 775-777.
- GRAYBILL, F.A (1961). *An Introduction to Linear Statistical Models. Vol. I*. McGraw-Hill.
- GUJARATI, D. (1990). *Econometría*. Mc Graw-Hill
- HENDERSON, P. J. F. (1993). "Statistical analysis of enzyme kinetic data". En *Enzyme assays. A practical approach*. R. Eisenthal & M.J. Danson Eds. Oxford Univ. Press.
- HESS, B.; BOITEUX, A. (1971) "Oscillatory Phenomena in Biochemistry". *Ann. Rev. Biochem.* **10**, 237-258.
- HESS, B.; BOITEUX, A.; KUSCHMITZ, D. (1983) "Regulation of Glycolysis" en *Biological Oxidations*. Springer-Verlag. Berlin.
- HICKS, C.R. (1982) *Fundamental Concepts in the Design of Experiments*. Holt-Saunders International Editions.
- HIGGINS, J. J. (1959). *A theoretical Study of the Kinetic Properties of Sequential Enzyme Reactions*, Ph. D. Dissertation, University of Pennsylvania. (citado en Higgins, 1965)
- HIGGINS, J. J. (1963). "Analysis of Sequential Reactions". *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **108**, 305-321.
- HIGGINS, J. J. (1965). "Dynamics and Control in Cellular Reactions". *Control of Energy Metabolism*, 13-46. Academic Press.

- HIRSCH, M.W.; SMALE, S. (1974) *Differential Equations, Dynamical Systems, and Linear Algebra*. Academic Press. N.Y.
- HOCHACHKA, P.W., SOMERO, G.N. (1984) *Biochemical Adaptation*. Princeton Univ. Press. N. J.
- HSU, J.P.; TSENG, S. (1989) "Estimating the adjustable parameters of the double Michaelis-Menten model". *J. Theor. Biol.* 137, 355-363.
- IRVINE, D. H.; SAVAGEAU, M.A. (1985a). "Network regulation of the immune response: Alternative control points for suppressor modulation of effector lymphocytes". *J. Immunol.* 134, 2100-2116.
- IRVINE, D. H.; SAVAGEAU, M.A. (1985b). "Network regulation of the immune response: Modulation of suppressor lymphocytes by alternative signals including contrasuppression". *J. Immunol.* 134, 2117-2130.
- IRVINE, D. H.; SAVAGEAU, M.A. (1990). "Efficient solution of non-linear ordinary differential equations expressed in S-system canonical form". *SIAM J. Numer. Anal.* 27, 704-735.
- IRVINE, D.H.; SAVAGEAU, M.A.; VOIT, E.O. (1991) Numerical analysis of S-systems with ESSYNS, in "Canonical Nonlinear Modelling," E.O. Voit, Ed., Van Nostrand and Reinhold, New York, pp. 133-141.
- JOHNSON, N.L.; KATZ, S.; BALAKRISHNAN, N. (1995). *Continuous univariate distributions* (vol. 1). John Wiley & Sons.
- JOHNSTON, J. (1984). *Econometric Methods*. McGraw Hill
- KATZ, J.; ROGNSTAD, R. (1976) "Futile Cycles in the Metabolism of Glucose" en *Current Topics in Cell. Regulation*, vol. 10, 237-289.
- KATZ, J.; ROGNSTAD, R. (1978) "Futile cycling in glucose metabolism". *Trends Biochem. Sci.* 3, 171-174.
- KOSHLAND JR., D. E. (1984) "Control of Enzyme Activity and Metabolic Pathways". *Trends Biochem. Sci.* 100, 155-159.
- KENDALL, M.G.; BUCKLAND, W.R. (1982) *A Dictionary of Statistical Terms*. Longman.
- KENDALL, M.G.; STUART, A. (1979) *The advanced Theory of Statistics (Vol. 2)*. Charles Griffin.
- KLIR, G.J. (1969) *An Approach to General Systems Theory*. Van Nostrand Reinhold. N.Y.
- KOTZ, S.; JOHNSON, N.L. (Editors) (1983) *Encyclopedia of Statistical Sciences*. John Wiley & Sons, Inc.
- LEVINS, H. (1969). "Sistemas complejos". En *Hacia una Biología Teórica*, pp.: 479-498. Alianza Universidad.
- MARTÍN, A.; LUNA, J.D. (1989). *Bioestadística para las ciencias de la salud*. Norma.
- MATHEWS, R.H.; ALBEN, J.O. (1978). *J. Theor. Biol.* 72, 219 [tomado de Hsu y Tseng (1989) y Jason et al. (1987)].
- MERINO, F. (1974) "A new method for determining the Michaelis Constant". *Biochem. J.* 143, 93-95.
- NEWSHOLME, E. A.; START, C. (1973) *Regulation in Metabolism*. Wiley. N.Y.

- NI, T.-C.; SAVAGEAU, M.A. (1996a) "Model assessment and refinement using strategies from biochemical systems theory: Application to metabolism in human red blood cells". *J. Theoret. Biol.* **179**, 329-368.
- NI, T.-C.; SAVAGEAU, M.A. (1996b). "Application of Biochemical Systems Theory to Metabolism in Human Red Blood Cells. Signal propagation and accuracy of representation". *J. Biol. Chem.* **271**, 7927-7941.
- NI, T.-C.; SAVAGEAU, M.A. (1996c) Scanning for refinement of complex biological models, in "Methodologies for the Conception, Design, and Application of Intelligent Systems," Vol. 1, T. Yamakawa and G. Matsumoto, Eds., World Scientific, Singapore, pp. 147-150.
- NICOLIS, G.; PRIGOGINE, I. (1997) *La estructura de lo complejo*. Alianza Universidad.
- NOVALES, A. (1993). *Econometría*. Mc Graw Hill. Madrid.
- ORCHARD, R.A. (1987). "Sobre un enfoque de la Teoría General de Sistemas" en *Tendencias en la Teoría General de Sistemas*. Alianza Universidad
- OTTAWAY, J.H. (1973). "Normalization in the Fitting of Data by Iterative Methods". *Biochem. J.* **134**, 729-736.
- PATTEE, H. H. (1969). "El problema de la jerarquía biológica". En *Hacia una Biología Teórica*. 531-556. Alianza Universidad.
- PEÑA SÁNCHEZ DE RIVERA, D. (1989) *Estadística. Modelos y métodos: 2. Modelos lineales y series temporales*. 2ª Ed. Alianza Universidad.
- PEÑA SÁNCHEZ DE RIVERA, D. (1992) *Estadística. Modelos y métodos: 1. Fundamentos*. 5ª Ed. Alianza Universidad.
- RAAIJMAKERS, J.G.W. (1987) "Statistical Analysis of the Michaelis-Menten Equation". *Biometrics* **43**, 793-803.
- REDER, C. (1988) "Metabolic Control Theory: A Structural Approach" *J. Theor. Biol.* **135**, 175-201.
- RICHARDS, R.J. (1979). *An Introduction to Dynamics and Control*. Longman Scientific & Technical. UK.
- SABATE, L.; FRANCO, R.; CANELA, E.I., CENTELLES, J.J., CASCANTE, M. (1995) "A model of the pentose phosphate pathway in rat liver cells". *Mol. Cel. Biochem.* **142**, 9-17.
- SALVADOR, A. (1996). *Development of Methodology and Software for Analysis of Kinetic Models of Metabolic Processes. Application to the Mitochondrial Metabolism of Lipid Hydroperoxides*. Ph. D. Thesis. University of Lisbon.
- SAVAGEAU, M.A. (1969a). "Biochemical Systems Analysis: I. Some Mathematical Properties of the Rate Law for the Component Enzymatic Reactions". *J. Theoret. Biol.* **25**, 365-369.
- SAVAGEAU, M.A. (1969b). "Biochemical Systems Analysis: II. The Steady-State for an *n*-pool System using a Power-Law Approximation". *J. Theoret. Biol.* **25**, 370-379.
- SAVAGEAU, M.A. (1970). "Biochemical Systems Analysis: III. Dynamic solutions using a Power-law approximation". *J. Theoret. Biol.* **26**, 215-226.
- SAVAGEAU, M.A. (1971a). "Parameter Sensitivity as a Criterion for Evaluating and Comparing the Performance of Biochemical Systems". *Nature* **229**, 542-544.

- SAVAGEAU, M.A. (1971b). "Concepts Relating the Behaviour of Biochemical Systems to Their Underlying Molecular Properties". *Arch. Biochem. Biophys.* **145**, 612-621.
- SAVAGEAU, M.A. (1972). "The Behaviour of Intact Biochemical Control Systems". *Curr. Topics in Cell. Reg.* **6**, 63-130.
- SAVAGEAU, M.A. (1974a). "Comparison of classical and autogenous systems of regulation in inducible operons". *Nature* **252**, 546-549.
- SAVAGEAU, M.A. (1974b). "Optimal Design of Feedback Control by Inhibition. Steady State Considerations". *J. Mol. Evol.* **4**, 139-156.
- SAVAGEAU, M.A. (1975). "Optimal Design of Feedback Control by Inhibition. Dynamic Considerations". *J. Mol. Evol.* **5**, 199-222.
- SAVAGEAU, M.A. (1976). *Biochemical Systems Analysis. A Study of Function and Design in Molecular Biology*. Addison-Wesley Pub. Co. Reading, Massachusetts.
- SAVAGEAU, M.A. (1979a). "Growth of complex systems can be related to the properties of their underlying determinants". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **76**, 5413-5417.
- SAVAGEAU, M.A. (1979b). "Allometric Morphogenesis of Complex Systems: Derivation of the basic equations from first principles". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **76**, 6023-6025.
- SAVAGEAU, M.A. (1979c). "Feedforward Inhibition in Biosynthetic Pathways: Inhibition of the Aminoacyl-tRNA Synthetase by the Penultimate Product". *J. theor. Biol.* **77**, 385-404.
- SAVAGEAU, M.A. (1979d). "Feedforward Inhibition in Biosynthetic Pathways: Inhibition of the Aminoacyl-tRNA Synthetase by Intermediates of the Pathway". *J. theor. Biol.* **77**, 405-425.
- SAVAGEAU, M.A. (1980) "Growth equations: a general equation and a survey of special cases". *Math. Biosci.* **48**, 267-278.
- SAVAGEAU, M.A. (1985a). "Mathematics of organizationally complex systems". *Biomed. Biochem. Acta.* **44**, 839-844.
- SAVAGEAU, M.A. (1985b). "A Theory of alternative designs for biochemical systems". *Biomed. Biochem. Acta.* **44**, 875-880.
- SAVAGEAU, M.A. (1988) Introduction to S-systems and the underlying power-law formalism. *Mathl. Comput. Modelling* **11**, 546-551.
- SAVAGEAU, M.A. (1990a) "Biochemical Systems Theory: Alternative Views of Metabolic Control" in *Control of metabolic Processes* (chap. 4). (Cornish-Bowden, A., and Cárdenas, M. L., eds.) NATO ASI series, Plenum Publishing Corp., N.Y.
- SAVAGEAU, M.A. (1991a) "Biochemical systems theory: Operational differences among variant representations and their significance". *J. Theoret. Biol.* **151**, 509-530.
- SAVAGEAU, M.A. (1991b) "Metabolite channeling: Implications for regulation of metabolism and for quantitative description of reactions *in vivo*", *J. Theoret. Biol.* **152**, 85-92.
- SAVAGEAU, M.A. (1991c) "The challenge of reconstruction". *The New Biologist*, **3**, 101-102.

- SAVAGEAU, M.A. (1992b) A critique of the enzymologist's test tube, in "Fundamentals of Medical Cell Biology," Vol. 3A, E.E. Bittar, Ed., JAI Press Inc., Greenwich, Connecticut, pp. 45-108.
- SAVAGEAU, M.A. (1993a) "Finding multiple roots of nonlinear algebraic equations using S-system methodology", *Appl. Math. Comput.* **55**, 187-199.
- SAVAGEAU, M.A. (1995b) "Enzyme kinetics *in vitro* and *in vivo*: Michaelis-Menten revisited", in *Principles of Medical Biology*, Vol. 4, E.E. Bittar, Ed., JAI Press Inc. Greenwich, Connecticut, pp. 93-146.
- SAVAGEAU, M.A. (1996a) "Power-law formalism: A canonical nonlinear approach to modeling and analysis" in *World Congress of Nonlinear Analysts 92*, Vol. 4, V. Lakshmikantham, Ed., Walter de Gruyter Publishers, Berlin, pp. 3323-3334.
- SAVAGEAU, M.A. (1996c) "The Power-Law Formalism: Generic Properties and Relatedness to Other Canonical Nonlinear Formalisms", in *Tutorials of the 4th International Conference on Soft Computing*, Vol. 2, Fuzzy Logic Systems Institute, Iizuka, Japan, pp. 3-32.
- SAVAGEAU, M.A.; SORRIBAS, A. (1989). "Constraints Among Molecular and Systemic Properties: Implications for Physiological Genetics". *J. theor. Biol.* **141**, 93-115.
- SAVAGEAU, M.A.; VOIT, E.O. (1982). "Power-Law Approach to Modeling Biological Systems. I. Theory". *J. Ferment. Technol.* **60**, 221-228.
- SAVAGEAU, M.A.; VOIT, E.O. (1987). "Recasting Non-linear Differential Equations as S-Systems: A Canonical Non-linear Form". *Math. Biosci.* **87**, 83-115.
- SAVAGEAU, M.A.; VOIT, E.O.; IRVINE, D. H. (1987a). "Biochemical Systems Theory and Metabolic Control Theory: 1. Fundamental Similarities and Differences". *Math. Biosci.* **86**, 127-145.
- SAVAGEAU, M.A.; VOIT, E.O.; IRVINE, D. H. (1987b). "Biochemical Systems Theory and Metabolic Control Theory: 2. The Role of Summation and Connectivity Relationships". *Math. Biosci.* **86**, 147-169.
- SCHMIDT, P. (1976). *Econometrics*. Marcel Dekker, Inc., N.Y.
- SCHULZ, A. R. (1994). *Enzyme Kinetics. From Diastase to Multi-Enzyme Systems*. Cambridge Univ. Press.
- SEGEL, I. H. (1982). *Cálculos de Bioquímica*. Ed. Acribia. Zaragoza.
- SEGEL, I. H. (1993). *Enzyme Kinetics. Behaviour and Analysis of Rapid Equilibrium and Steady-State Enzyme Systems*. J. Wiley & Sons, Inc.
- SHIRAISHI, F.; SAVAGEAU, M.A. (1992a). "The Tricarboxilic Acid Cycle in *Dictyostelium discoideum*. I. Formulation of alternative kinetic Representations". *J. Biol. Chem.* **267**, 22912-22918.
- SHIRAISHI, F.; SAVAGEAU, M.A. (1992b). "The Tricarboxilic Acid Cycle in *Dictyostelium discoideum*. II. Evaluation of Model consistency and Robustness". *J. Biol. Chem.* **267**, 22919-22925.
- SHIRAISHI, F.; SAVAGEAU, M.A. (1992c). "The Tricarboxilic Acid Cycle in *Dictyostelium discoideum*. III. Analysis of Steady State and Dynamic Behaviour". *J. Biol. Chem.* **267**, 22926-22933.

- SHIRAIISHI, F.; SAVAGEAU, M.A. (1992d). "The Tricarboxylic Acid Cycle in *Dictyostelium discoideum*. IV. Resolution of Discrepancies Between Alternate Methods of Analysis". *J. Biol. Chem.* **267**, 22934-22943.
- SHIRAIISHI, F.; SAVAGEAU, M.A. (1993). "The tricarboxylic acid cycle in *Dictyostelium discoideum* V. Systemic effects of including protein turnover in the current model". *J. Biol. Chem.* **268**, 16917-16928.
- SHIRAIISHI, F.; SAVAGEAU, M.A. (1996). "The tricarboxylic acid cycle in *Dictyostelium discoideum*. Two methods of analysis applied to the same model". *J. Theoret. Biol.* **178**, 219-222.
- SORRIBAS, A.; CASCANTE, M. (1992). "Assessment of the regulatory properties of a metabolic pathway: Parameter estimation from steady-state measurements." *World Congress of Nonlinear Analysts '92*. V. Lakshmikantham Ed. Walter de Gruyter.
- SORRIBAS, A.; CASCANTE, M. (1993). "Steady-State Measurements and Identifiability of Regulatory Patterns in Metabolic Studies". *Modern Trends in Biothermokinetics*, 125-131.
- SORRIBAS, A.; CASCANTE, M. (1994). "Structure identifiability in metabolic pathways: parameter estimation in models based on the power-law formalism". *Biochem. J.* **298**, 303-311.
- SORRIBAS, A.; SAMITIER, S.; CANELA, E.; CASCANTE, M. (1993). "Metabolic Pathway Characterization from Transient Response Data Obtained *In Situ*: Parameter Estimation in S-system Models." *J. Theor. Biol.* **162**, 81-102.
- SORRIBAS, A.; SAVAGEAU, M.A. (1989a). "A Comparison of Variant Theories of Intact Biochemical Systems. I. Enzyme-Enzyme Interactions and Biochemical Systems Theory". *Math. Biosci.* **94**, 161-193.
- SORRIBAS, A.; SAVAGEAU, M.A. (1989b). "A Comparison of Variant Theories of Intact Biochemical Systems. II. Flux-Oriented and Metabolic Control Theories". *Math. Biosci.* **94**, 195-238.
- SORRIBAS, A.; SAVAGEAU, M.A. (1989c). "Strategies for Representing Metabolic Pathways within Biochemical Systems Theory: Reversible Pathways". *Math. Biosci.* **94**, 239-269.
- SRIVASTAVA, M.S.; KHATRI, C.G. (1979). *An Introduction to Multivariate Statistics*. Elsevier, North Holland, NY.
- STORER, A.C.; DARLISON, M.G.; CORNISH-BOWDEN, A. (1975). "The Nature of Experimental Error in Enzyme Kinetic Measurements". *Biochem. J.* **151**, 361-367.
- STORER, A.C.; CORNISH-BOWDEN, A. (1974). "The Kinetics of Coupled Enzyme Reactions". *Biochem. J.* **141**, 205-209.
- THEIL, H. (1978). *Introduction to Econometrics*. Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs N.J.
- TORRES, N.; REGALADO, C.; SORRIBAS, A.; CASCANTE, M. (1993). "Quality assessment of a metabolic model and systems analysis of citric acid production by *Aspergillus niger*". *Modern Trends in Biothermokinetics* 115-124.

- VOIT, E.O.; SAVAGEAU, M.A. (1982a). "Power-Law Approach to Modeling Biological Systems. II. Application to Ethanol Production". *J. Ferment. Technol.* **60**, 229-232.
- VOIT, E.O.; SAVAGEAU, M.A. (1982b). "Power-Law Approach to Modeling Biological Systems. III. Methods of Analysis". *J. Ferment. Technol.* **60**, 233-241.
- VOIT, E.O.; SAVAGEAU, M.A. (1984). "Analytical Solutions to a Generalised Growth Equation". *J. Math. Anal. App.* **103**, 380-386.
- VOIT, E.O.; SAVAGEAU, M.A. (1985) "S-system analysis of biological systems", en *Mathematics in Biology and Medicine; Lecture Notes in Biomathematics*, Vol. **57**, Springer-Verlag, N.Y., pp. 517-524.
- VOIT, E.O.; SAVAGEAU, M.A. (1986). "Equivalence between S-Systems and Volterra Systems". *Mat. Biosci.* **78**, 47-55.
- VOIT, E.O.; SAVAGEAU, M.A. (1987). "Accuracy of Alternative Representations for Integrated Biochemical Systems". *Biochemistry* **26**, 6869-6880.
- VOIT, E.O.; SAVAGEAU, M.A.; IRVINE, D.H. (1991) An introduction to S-systems, in *Canonical Nonlinear Modelling*, E.O. Voit, Ed., Van Nostrand and Reinhold, New York, pp. 47-66.
- WADDINGTON, C.H. (Editor) (1969). *Hacia una biología teórica*. Alianza Universidad
- WESTLEY, J. (1969). *Enzymic catalysis*. Harper & Row. N.Y.
- WRIGHT, B.E.; BUTLER, M.H.; ALBE, K.R. (1992) "Systems Analysis of the Tricarboxylic Acid Cycle in *Dictyostelium discoideum*. I. The basis for model construction". *Jour. Biol. Chem.* **267**, 3101-3105
- ZIVIN, J.A.; WAUD, D.R. (1982) "How to analyze binding, enzyme and uptake data: the simplest case, a single phase". *Life Sciences* **30**, 1407-1722.

Definición formal del sistema

Elementos del sistema	<p style="text-align: center;">Nodos</p> $\underbrace{x_1, \dots, x_n}_{\text{variables dependientes}}, \underbrace{x_{n+1}, \dots, x_{n+m}}_{\text{variables independientes}}$	<p style="text-align: center;">Aristas</p> $v_i(\mathbf{x}) = v_i(x_1, \dots, x_{n+m}), w_i(\mathbf{x}) = \ln v_i(\mathbf{x})$ $i=1, \dots, r$
Modelo dinámico	$\frac{d\mathbf{x}}{dt} = \dot{\mathbf{x}} = \mathbf{M}_{INC} \cdot \mathbf{v}$	$\mathbf{M}_{INC} = (m_{ij})_{\substack{i=1, \dots, n \\ j=1, \dots, r}}$ <p>(matriz de incidencia $n \times r$)</p>
Especificación de las aristas (escala logarítmica)	$w_{PL1i} = w_{i0} + l' \mathbf{g}_i$ $w_{PL2i} = w_{i0} + l' \mathbf{g}_i + \frac{1}{2} l' \mathbf{G}_i l$ <p>con $l_j = \ln(x_j/x_{j0}); w_{i0} = w_i(x_0)$</p>	<p>En la implementación se utiliza</p> $\Gamma_i = \left[\mathbf{g}_i \mid \frac{1}{2} \mathbf{G}_i \right]_{(n+m) \times (n+m+1)}$

Implementación (archivos *.SBQ)

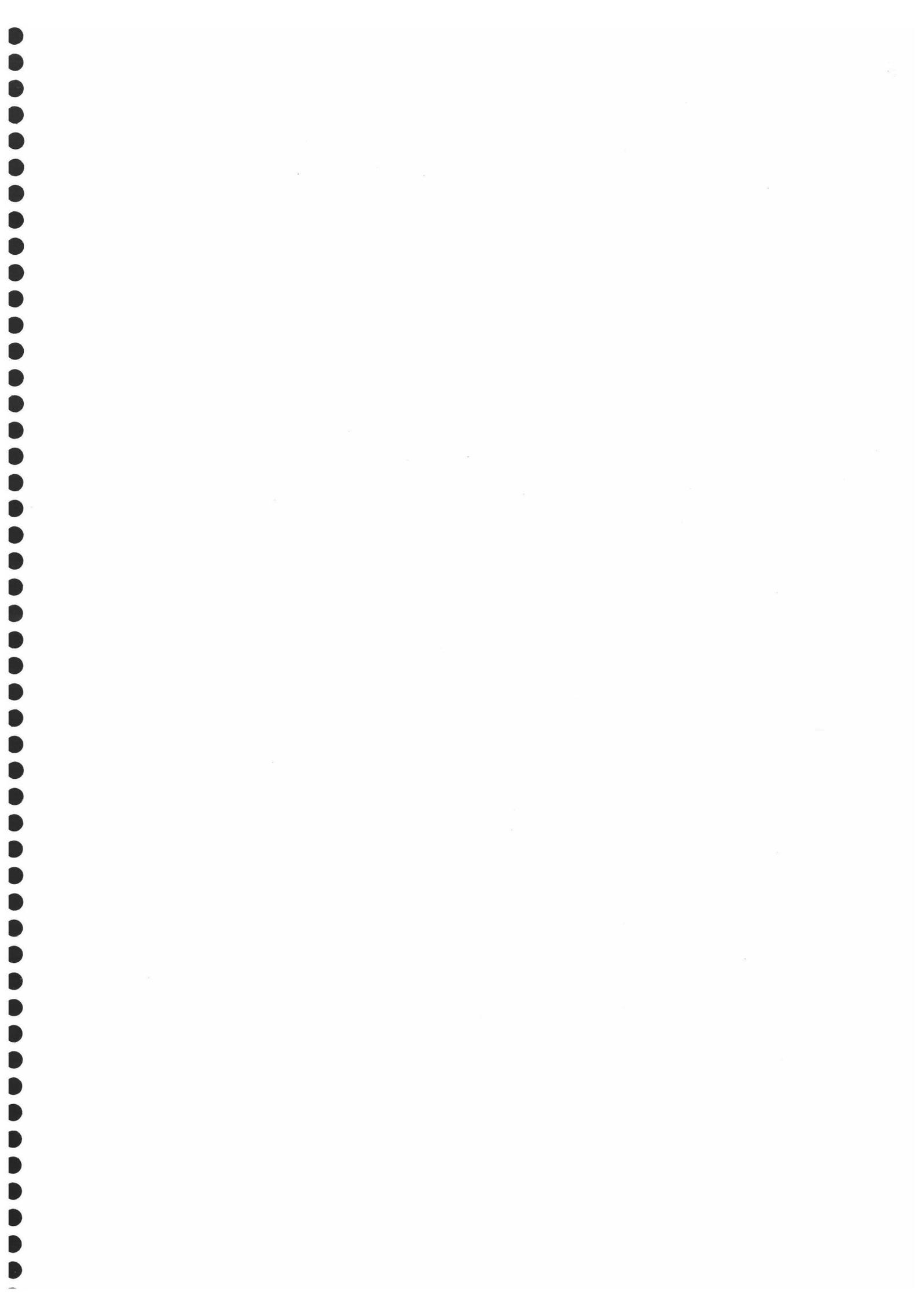
Notación: “[” y “]” indican el principio y fin de párrafo. El texto en **negrita** es literal. El texto en *cursiva* debe sustituirse por lo que este indica. Cuando son posibles varias alternativas, estas se escriben entre llaves { } y separadas por signos |. El signo < permite escribir comentarios a su derecha.

[SISTEMA] <i>nombre</i> <i>descripción</i>	< Título y descripción del problema
[DIMENSIONES] <i>N = número de variables dependientes</i> <i>M = número de variables independientes</i> <i>R = número de ecuaciones de velocidad</i>	< Especificación de las <u>dimensiones</u> del sistema
[MINCIDENCIA] $m_{11} \dots m_{1r}$ $\dots \dots \dots$ $m_{n1} \dots m_{nr}$	< Elementos de la <u>matriz de incidencia</u> $n \times r$
[XDep] <i>X(i) = nombre</i> <i>X0(i) = { (x_{nominal}=inicial) (x_{nominal} x_{inicial}) }</i>	< <u>Variables (nodos) dependientes</u> (con entrada en la matriz de incidencia; $i=1, \dots, n$) < Un solo valor en X0(i) indica que por valor inicial se toma el nominal
[Xind] <i>X(i) = nombre</i> <i>X0(i) = { (x_{nominal}=inicial) (x_{nominal} x_{inicial}) }</i> <i>Ft({i*}) = {ESC(p) PUL(p) RAM(p) PAR(p) SEN(p,f) COS(p,f) }</i>	< <u>Variables (nodos) independientes</u> (sin entrada en la matriz de incidencia). < ($i=n+1, \dots, n+m$) < Ft: función de perturbación ¹ . Parámetros: < p = amplitud (como proporción de x_0) < f = frecuencia < El * indica todas las variables.
[V(i)] <i>Etapa = nombre de la etapa</i> <i>Tipo = {PL1 PL2}</i> <i>Parametros = { w_{i0} ln(v_{i0}) }</i> $\begin{matrix} g_{i,1,0} & \frac{1}{2} g_{i,1,1} & & & \\ g_{i,2,0} & \frac{1}{2} g_{i,1,2} & \frac{1}{2} g_{i,2,2} & & \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \\ g_{i,n+m,0} & \frac{1}{2} g_{i,1,n+m} & \frac{1}{2} g_{i,2,n+m} & \dots & \frac{1}{2} g_{i,n+m,n+m} \end{matrix}$	< <u>Aristas</u> ($i=1, \dots, r$) (un párrafo por arista) < La constante de velocidad se puede dar en escala logarítmica o cartesiana < Matriz Γ_i . Si la arista es de tipo PL1 solo se escribe la 1ª columna (la matriz nula G se obvia). Si la arista es de tipo PL2, de la matriz G se especifican solo los elementos de la submatriz triangular inferior.

Respuesta dinámica

Tipos de respuesta	Especificación (en tiempo de ejecución)	
Total (libre + forzada)	TCI ($x(t_0)$ = condiciones iniciales)	TSS ($x_{dep}(t_0)$ (t_0) = estado -basal- estacionario)
Forzada ($x_{dep}(t_0)=0, x_{ind}(t_0) \neq 0$)	FCI ($x_{ind}(t_0)$ = condiciones iniciales)	--
Libre ($x_{dep}(t_0) \neq 0, x_{ind}(t_0)=0$)	LCI ($x_{dep}(t_0)$ = condiciones iniciales)	LSS ($x_{dep}(t_0)$ = estado -basal- estacionario)

¹ **Funciones de perturbación:** ESC= escalonada; PUL= impulso; RAM= rampa; PAR= parabólica; SEN= seno; COS= coseno.





Biblioteca Universitaria de Granada



01053105