

CARACTERIZACIÓN DEL COMPORTAMIENTO NO LINEAL DE LA DEFORMACIÓN DE GLÓBULOS ROJOS MEDIANTE EL USO DEL EXPONENTE DE HURST

Alcides J. Leguto^a, Manuel A. Mancilla-Canales^a, Patricia Ponce de León^b, Bibiana Riquelme^c, Santiago A. Bortolato^a y Ana M. Korol^{a,c}

^aDepartamento de Matemática y Estadística, Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas de la Univ. Nacional de Rosario. Suipacha 531, Rosario, Argentina. aleguto@fbioyf.unr.edu.ar

^bDepartamento de Parasitología, Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas de la Univ. Nacional de Rosario. Suipacha 531, Rosario, Argentina.

^cInstituto de Física de Rosario (IFIR-CONICET). Ocampo y Esmeralda, Rosario, Argentina.

Palabras Clave: *Cuantificadores no lineales, exponente de Hurst, ectacitometría, globulos rojos, Ascaris lumbricoides.*

Resumen. La ectacitometría es una técnica que cuantifica la deformabilidad de los glóbulos rojos (GRs) mediante la medición de bioseñales correspondientes a las fluctuaciones de las membranas de eritrocitos sometidas a una tensión de corte estacionaria controlada. La obtención de información relevante sobre el proceso en estudio a partir de este tipo de señales es muchas veces una tarea muy difícil, por lo tanto en una amplia mayoría de trabajos relacionados se aplican métodos de comprensión o reducción de la información. En este trabajo se desarrolla un método que trabaja con la bioseñal generada sin tratar, que se asiste de cuantificadores no lineales para estudiar las fluctuaciones de las membranas de los GRs. El método utiliza un sistema óptico patentado (Reómetro Eritrocitario) para evaluar las propiedades viscoelásticas de los GRs. Para analizar la dinámica celular se usa el método de Falsos Vecinos Próximos, el cálculo del coeficiente de correlación de Sugihara y May y el exponente de Hurst. Los resultados muestran diferencias significativas entre muestras de GRs sanas y tratadas con parásitos de *Ascaris lumbricoides*, lo que sugiere que el ruido aparente asociado con el caos determinista puede utilizarse para caracterizar aspectos biológicos y mecánicos de eritrocitos con diversos tratamientos.

1 ABREVIATURAS

% FVP: Porcentaje de Falsos Vecinos Próximos
Al: *Áscaris lumbricoides*
EA: Extractos parasitarios adultos
FBM: Movimiento Browniano Fraccionario
GR: Glóbulo rojo
OBM: Movimiento Browniano Ordinario
PBS: Solución tampón fosfato salino

2 INTRODUCCIÓN

La función principal de los glóbulos rojos (GRs) es el transporte de oxígeno en el cuerpo. Para poder llevar adelante esta tarea tienen que viajar a través de capilares de diámetros más pequeños que ellos mismos. Esto requiere que los GRs deban deformarse en forma notoria. En varias enfermedades hematológicas, entre las que se puede mencionar la producida por el contacto con parásitos larvales de *Ascaris lumbricoides* (Al), se ha demostrado que la viscoelasticidad característica de los GRs disminuye en forma significativa. El efecto más notorio es la disfunción microcirculatoria, que lleva a la aparición de síntomas clínicos agudos (Peterson *et al*, 1993; Brown *et al*, 2005; Szelachowska *et al*, 1992; Lapolla *et al*, 1991; Torregiani *et al*, 1995).

En un estudio previo, que consistió en la incubación *in vitro* de GRs sanos con diferentes concentraciones de larvas de Al, se encontró que a medida que aumenta la concentración de Al aumentan los niveles de aglutinación celular, así como también disminuye la filtrabilidad de los GRs (Ponce de León *et al*, 2012; Ponce de León *et al*, 2011; Puig Licea, 1987). Además, en un trabajo preliminar llevado adelante por nuestro grupo de trabajo sobre el comportamiento complejo de los glóbulos rojos cuando se incuban con larvas de Al, se ha demostrado la conveniencia del método de conteo en cajas en el análisis de imágenes para medir la dimensión fractal de las imágenes de eritrocitos cuando se trata de caracterizar a las diferentes poblaciones (Lupo *et al*, 2016).

Las técnicas de Coordenadas de Retardo sugeridas por Takens (Takens, 1981), Falsos Vecinos Próximos, propuesto por Abarbanel y colaboradores (Abarbanel *et al*, 1993), y el coeficiente de correlación de Sugihara y May (Sugihara y May, 1990), proporcionan herramientas muy poderosas para obtener una mejor caracterización del complejo comportamiento de los GRs. Este último permite realizar inferencias sobre la naturaleza dinámica del sistema en estudio. Esta inferencia puede llevarse a cabo examinando el coeficiente de correlación entre las series temporales predichas y observadas a través de diferentes intervalos de predicción, dependiendo de la dimensión de *Embedding* del atractor, siempre y cuando las series temporales fotométricas sean identificadas como caóticas. Finalmente, el exponente de Hurst permite caracterizar el movimiento browniano ordinario y el movimiento browniano fraccionario, no sólo para las series fotométricas, sino también para las series subrogadas aleatorizadas obtenidas a partir de las experimentales.

El objetivo de nuestro trabajo consistió en detectar posibles cambios entre el comportamiento de las propiedades viscoelásticas de los GRs incubados con larvas de Al y de poblaciones de GRs control mediante el análisis de series temporales fotométricas unidimensionales de células sometidas a una tensión de corte estacionaria controlada. Las series de tiempo se obtuvieron mediante la técnica de ectacitometría, utilizando un dispositivo

desarrollado y patentado por el Grupo de Óptica Aplicada en Biología del Instituto de Física de Rosario (Castellini *et al*, 2009; Albea *et al*, 2013).

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Extractos Parasitarios (EA) y Glóbulos Rojos

Se trabajó con EA de ejemplares adultos de *Al* en concentraciones de 5100 ± 200 larvas/mL, obtenidos por remoción quirúrgica de la cutícula y ruptura mecánica refrigerada, siguiendo el protocolo descrito en Ponce de León *et al*, 2012. Se utilizaron GR frescos Grupo O de donantes sanos, previa separación del plasma autólogo, los cuales fueron lavados en buffer fosfato salino de pH 7,4 y osmolaridad de 295 mOsm/kg (PBS).

Se incubó el sedimento globular con igual volumen de EA durante 30 minutos, a 37 °C (GR tratados). Los GR utilizados como control (GR control), fueron incubados con PBS. Finalizada la incubación, los GRs tratados (5 muestras) y control (12 muestras) fueron lavados en PBS

3.2 Instrumental y generación de bioseñales

Las bioseñales analizadas se obtuvieron a partir de series temporales fotométricas de 3500 puntos, correspondientes a las fluctuaciones de la membrana del GR sometida a una tensión de corte estacionaria controlada, utilizando el Reómetro Eritrocitario desarrollado por el Grupo de Óptica Aplicada del Instituto de Física de Rosario. Este instrumento permite usar la difracción de luz, bajo las condiciones establecidas por la teoría de Fraunhofer para obtener información cuantitativa de partículas de suspensiones eritrocitarias. Esto es posible porque las células en suspensión diluida, sometidas a una tensión de corte estacionaria controlada, adoptan una forma elipsoidal de tres ejes, que tiene el eje mayor en la misma dirección que la del campo de corte. Sobre una capa delgada de esta suspensión puede incidir un haz de láser, que la atraviesa perpendicularmente y se difracta produciendo un patrón de difracción de Fraunhofer, que es circular cuando las células están en reposo, o elípticas cuando se deforman por efecto de la tensión de corte. Esta información se registró para ser procesadas con los diferentes métodos propuestos para lograr el objetivo planteado

El uso del instrumento implicó colocar la suspensión de GRs dos discos de vidrio de sílex. Luego, un motor rotó el disco inferior para generar la tensión de corte estacionaria controlada. Este procedimiento permitió registrar los distintos patrones de difracción de Fraunhofer generados. En base a informes anteriores, las series temporales obtenidas se dividieron en dos partes: la primera describió la etapa en la que los eritrocitos están sometidos a la tensión de corte y la segunda describió la etapa en la que los eritrocitos recuperaron su forma circular de reposo.

4 ANÁLISIS DE DATOS

4.1 Datos subrogados

Para investigar si las series fotométricas tenían fluctuaciones irregulares y/o si los datos podían ser completamente descritos por variables aleatorias independientes e idénticamente distribuidos sin periodicidades, se aplicó el procedimiento de subrogación aleatorio de datos a todas las series temporales. Con este procedimiento fue posible destruir estructuras locales sobre la variabilidad a corto plazo y preservar los comportamientos globales.

Para llevar adelante este procedimiento, se dividió cada serie fotométrica en 100 partes de

35 puntos cada una. Entonces estas series más cortas se concatenaron al azar para generar series temporales nuevas y diferentes de 3500 puntos. Los subrogados obtenidos de esta manera pueden parecer triviales, pero es una buena manera de verificar que algún aspecto específico de la distribución de valores en la señal no esté engañando el algoritmo del coeficiente de correlación.

La hipótesis nula es que la señal medida es un conjunto de valores extraídos de una población finita sin orden aparente. En nuestras hipótesis, a pesar de que los sustitutos se han generado obteniendo series temporales completamente diferentes, todos ellos comparten el espectro de potencia con el dato original.

4.2 Porcentaje de Falsos Vecinos Próximos

Una serie temporal particular puede dar lugar a una órbita o trayectoria que representa la evolución del sistema. El conjunto de órbitas, a partir de todas las condiciones iniciales posibles, genera un flujo en el espacio de estado y puede usarse para visualizar el atractor del sistema. Sin embargo, para que esto sea posible cada trayectoria no debe intersectarse consigo misma y, además, trayectorias diferentes que proceden de condiciones iniciales diferentes no deben superponerse ni ocupar el mismo espacio. Esto se deriva del hecho de que un punto en el espacio de fase que representa el estado del sistema se considera que codifica toda la información sobre el sistema, incluyendo tanto su historia pasada y futura, que en un sistema determinista debe ser único.

En este espacio de fase, los puntos de una órbita tienen “vecinos”. Estos vecinos proporcionan información sobre cómo diferentes zonas del espacio de fase evolucionan en el tiempo. En una dimensión de *Embedding* E, que es demasiado pequeña para desplegar el atractor, no todos los puntos que están cerca unos de otros serán realmente vecinos: algunos de ellos estarán lejos y simplemente aparecerán como vecinos porque la estructura geométrica del atractor ha sido proyectada en un espacio más pequeño.

Abarbanel y sus colaboradores (Abarbanel et al, 1993) se propusieron evaluar a vecinos con dimensiones cada vez mayores hasta que no quedaran falsos vecinos. Desarrollaron un método específico a partir de consideraciones geométricas, conocido como porcentaje de falsos vecinos próximos (% FVP). El método propuesto busca un valor para la dimensión de *Embedding* mínima que establezca correctamente la dinámica del proceso.

En la dimensión D cada vector $Y(k)$ tendrá un vecino más cercano $Y_{NN}(k)$, en términos de distancia euclídea mínima:

$$R_D^2(k) = |Y(k) - Y_{NN}(k)|^2 = \sum_{j=0}^{D-1} (y(k-j\tau) - y_{NN}(k-j\tau))^2 \quad (1)$$

$$\begin{aligned} R_{D+1}^2(k) &= |Y(k) - Y_{NN}(k)|^2 = \sum_{j=0}^D (y(k-j\tau) - y_{NN}(k-j\tau))^2 \\ &= \sum_{j=0}^{D-1} (y(k-j\tau) - y_{NN}(k-j\tau))^2 + (y(-D\tau) + y_{NN}(k-D\tau))^2 \\ &= R_D^2(k) + (y(-D\tau) + y_{NN}(k-D\tau))^2 \end{aligned} \quad (2)$$

De (1-2), si R_D es la distancia mínima entre $Y(k)$ y $Y_{NN}(k)$, entonces R_{D+1} debe ser menor que R_D , pero si es mayor, entonces el atractor en R_D no se despliega y esos puntos se situaron

cerca porque el atractor verdadero se proyectó en un espacio más pequeño en las coordenadas del retardo.

Esto se puede comprobar aumentando las dimensiones de Embedding hasta que el valor de %FVP sea inferior al 1%. Se acepta que este valor umbral de %FVP puede utilizarse para encontrar la dimensión mínima de *Embedding* E en la cual el atractor del sistema está completamente desplegado.

4.3 Coeficiente de correlación de May-Sugihara

Para determinar el coeficiente propuesto por May y Sugihara primero se debe definir la dimensión de *Embedding* E en la que el atractor está completamente desplegado. Para esto, se empleó el procedimiento %FVP descrito arriba. Luego se utiliza la técnica de las coordenadas en retardo sugerida por Takens para generar el retrato del espacio de fase de la dinámica del sistema (Takens, 1981).

Una manera conveniente de reconstruir la dinámica del proceso es desplegar las series temporales en desplazamientos cada vez más grandes. Los desplazamientos se definieron como múltiplos enteros de un retardo fijo τ . Tomando N puntos equidistantes para el proceso de deformación y recuperación, es posible definir el espacio de fase de todos los estados posibles de las variables del sistema bajo estudio.

En cada serie de tiempo, la secuencia para la que se desea hacer una predicción debe considerarse ahora como un punto E-dimensional, es decir, un vector que comprende el valor actual y los E-1 valores anteriores separados por un tiempo de retardo. Luego se sitúan todos los puntos E-dimensionales próximos en el espacio de estado, como proponen May y Sugihara (Sugihara y May, 1990). Entonces, para cada punto Y del espacio de las fases en coordenadas en retardo, seleccionamos sus E+1 vecinos más próximos, de modo tal que el punto quede incluido en el menor simplex (el simplex de menor diámetro), formado por los vecinos más próximos. Este punto teórico será correlacionado con el experimental conocido (Y*). Finalmente, a cada vértice del simplex le calculamos el siguiente punto en el espacio en coordenadas en retardo y buscamos su baricentro que servirá de segundo punto teórico a correlacionarse con el segundo punto experimental conocido, proceso que repetimos “s” veces o pasos, en nuestro caso $s=10$.

Este es un método no paramétrico, que no utiliza información previa sobre el modelo empleado para generar la serie; la única información es la propia salida. Puede aplicarse a cualquier proceso dinámico estacionario o cuasi ergódico, incluido el caos.

Finalmente, se establece la correlación del coeficiente estadístico convencional $\langle C_s(Y, Y^*) \rangle$ entre Y* predicho y los valores Y observados en función de s. Si se obtiene una disminución en los coeficientes de correlación con el aumento del tiempo de predicción, entonces este es un rasgo característico del caos (Sugihara y May, 1990). Esta propiedad es notable porque indica una manera simple de diferenciar el ruido aditivo del caos determinista. El primero no está correlacionado, independientemente de cuán lejos o cerca se trate de proyectar el simplex, mientras que las predicciones con este último tienden a empeorar a medida que se intenta predecir el comportamiento a tiempos cada vez más grandes.

4.4 Exponente de Hurst y movimiento browniano

En una trayectoria no diferenciable clásica o, más en general, en el movimiento browniano ordinario (OBM), los incrementos pasados producen trayectorias que no están correlacionadas con aquellas generadas por incrementos futuros, es decir, el sistema no tiene memoria. En una

trayectoria correlacionada al azar, o más generalmente, en el movimiento browniano fraccional (FBM), los incrementos pasados producen desplazamientos que se correlacionan con otros producidos por incrementos futuros, al menos para los primeros pasos del proceso, de ahí que el sistema tenga memoria.

El exponente de Hurst proporciona una medida que permite discriminar un proceso aleatorio de ruido blanco puro de otro que tiene tendencias subyacentes. Se ha demostrado que esta herramienta puede diferenciar procesos dinámicos de “memoria larga” que muchas veces son ingenuamente descritos como ruido blanco. Un proceso de memoria larga es un proceso en el que los eventos pasados tienen un potente efecto en los futuros, pero a medida que el tiempo avanza el impacto sobre el proceso decae.

Una función dependiente del tiempo $X(t)$, como las series temporales fotométricas, es auto-afín si las fluctuaciones en diferentes escalas pueden ser reescaladas para obtener la señal original, siendo el resultado estadísticamente equivalente a la versión reescalada (Simonsen, 2003):

$$X(t) = \lambda^{-H} X(\lambda t) \quad (3)$$

En (3), λ es un número positivo y H es el exponente de Hurst, que cuantifica el grado de correlación (positivo o negativo) para los incrementos $\Delta Y(t_i) = y(t_i + 1) - y(t_i)$.

Se puede demostrar que para un proceso que satisface la propiedad de auto-afinidad, la función de correlación $\langle C_s(Y, Y^*) \rangle$ entre $\Delta Y(t)$ de la serie real y $\Delta Y^*(t)$ para el predicho, puede expresarse mejor considerando el coeficiente de correlación para el movimiento browniano, propuesto por Feder (Feder, 1988), que viene dado por la expresión:

$$C(t) = \langle \Delta Y(t) \Delta Y^*(t) \rangle \cdot (\langle [\Delta Y(t)]^2 \rangle)^{-1} = 2^{2H-1} - 1 \quad (4)$$

De (4), si $H = 0,5$ los incrementos de desplazamiento producen trayectorias estadísticamente independientes, y entonces $\langle C_s(Y, Y^*) \rangle = 0$. Este es el resultado esperado para el OBM. Para $H > 0,5$, los incrementos pasados y futuros están correlacionados positivamente, este tipo de comportamiento se conoce como persistente. Para $H < 0,5$; los incrementos pasados y futuros están correlacionados negativamente, este tipo de comportamiento se conoce como anti-persistente.

Para obtener el coeficiente de correlación de cada serie temporal se aplicó la metodología Sugihara y May, tal como se describe más arriba.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se trató de usar el análisis de series temporales para comprender el comportamiento de un sistema biológico y analizar cómo se altera en condiciones patológicas, con el objetivo de proponer nuevas formas de diagnóstico. Específicamente, se procesaron series fotométricas temporales provenientes de GRs con cuantificadores no lineales, para poder comparar y entender los cambios producidos en dos poblaciones eritrocitarias diferentes: muestras de GRs de donantes sanos y de pacientes afectados por larvas de *Al*.

Los algoritmos para calcular los cuantificadores se desarrollaron en dos lenguajes de programación diferentes: R (Core Team, 2016) y MATLAB, y están a libre disposición si se los requiere. Ciertamente, el uso de un cuantificador no lineal no pretende reemplazar el análisis convencional, sino proporcionar más información sobre los mecanismos de deformación de los glóbulos rojos.

El comportamiento aleatorio es, como uno espera, impredecible, por lo que la cuestión de la aleatoriedad en una serie de datos es más que un balance entre determinismo y aleatoriedad.

Dado que el ruido está presente en todas las mediciones físicas, determinar si la aleatoriedad es inherente a la dinámica del sistema o en el proceso de medición no siempre es sencillo. Además, los mecanismos a través de los cuales las larvas de *Al* pueden inducir daño vascular son al mismo tiempo metabólicos y mecánicos.

Primero se realizaron, en todas las series, las primeras diferencias ($x_{t+1} - x_t$) para reducir la auto-correlación. Para reconstruir la dinámica del proceso se utilizó la técnica de coordenadas de retardo sugerida por Takens, y la dimensión del espacio de fase se eligió aplicando el método de Abarbanel de falsos vecinos próximos, explicado más arriba. Así, se obtuvo el %FVP para siete dimensiones de *Embedding* (E) diferentes y cada vez mayores. Para todas las muestras se encontró que cuando $E = 6$, el %FVP era menor que 1%, y el atractor del sistema se desplegó completamente. Por lo tanto, se fijó en 6 la dimensión de *Embedding* de nuestro análisis. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 1.

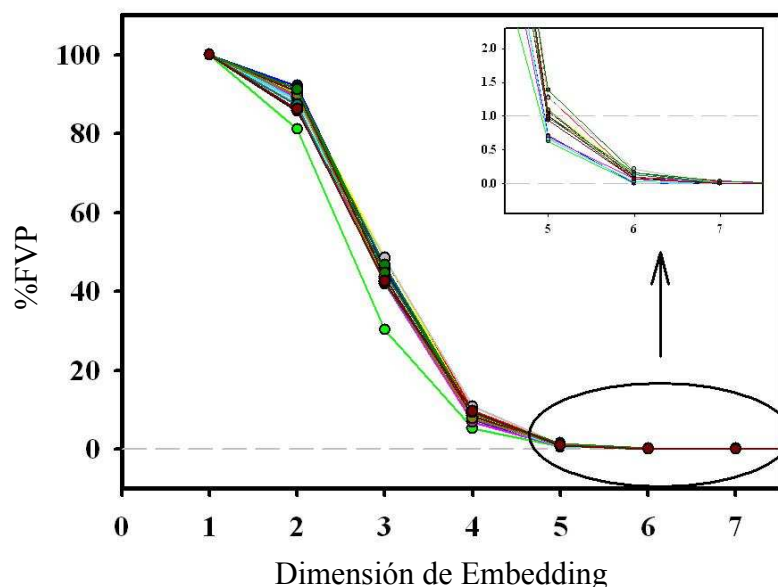


Figura 1. Porcentaje de Falsos Vecinos Próximos en función de la Dimensión de *Embedding*.

Con el fin de mejorar los resultados, se estudiaron las series temporales subrogadas. En este caso, los subrogados se generaron dividiendo todas las series de 3500 puntos, en 100 series de 35 datos consecutivos cada una, y concatenándolos al azar, para generar series temporales nuevas y diferentes con la misma longitud. Como consecuencia, el número de conjuntos de datos subrogados que se pueden generar aumenta considerablemente, ya que cualquier perturbación de los segmentos de prueba genera nuevas series temporales de subrogados. Sin embargo, hay que tener cuidado, porque si dos permutaciones diferentes mueven un segmento de prueba dado a la misma ubicación, los valores de la estadística de prueba serán los mismos para ambas permutaciones. Este problema se ha evitado. Las series temporales subrogadas aleatorias se usaron para contrastar el método propuesto y determinar si el proceso era estrictamente aleatorio o no.

La Figura 2 muestra los resultados correspondientes al procesamiento de las bioseñales de los GR control y GR tratados con el parásito en las condiciones del ensayo luego de aplicar el método de May y Sugihara. Se pueden observar tendencias diferentes a medida que crece el valor de s (línea sólida gris para el valor promedio de los GR tratados, línea punteada negra para los GR control), resultado que sugiere que es probable que se establezcan patrones de difracción diferentes entre los grupos. La evidencia hallada permite sustentar que para los GR

tratados con el parásito la dinámica del proceso de deformación de los GRs es más caótica con respecto a los GR control, ya que la correlación disminuye en forma más suave a medida que aumenta s .

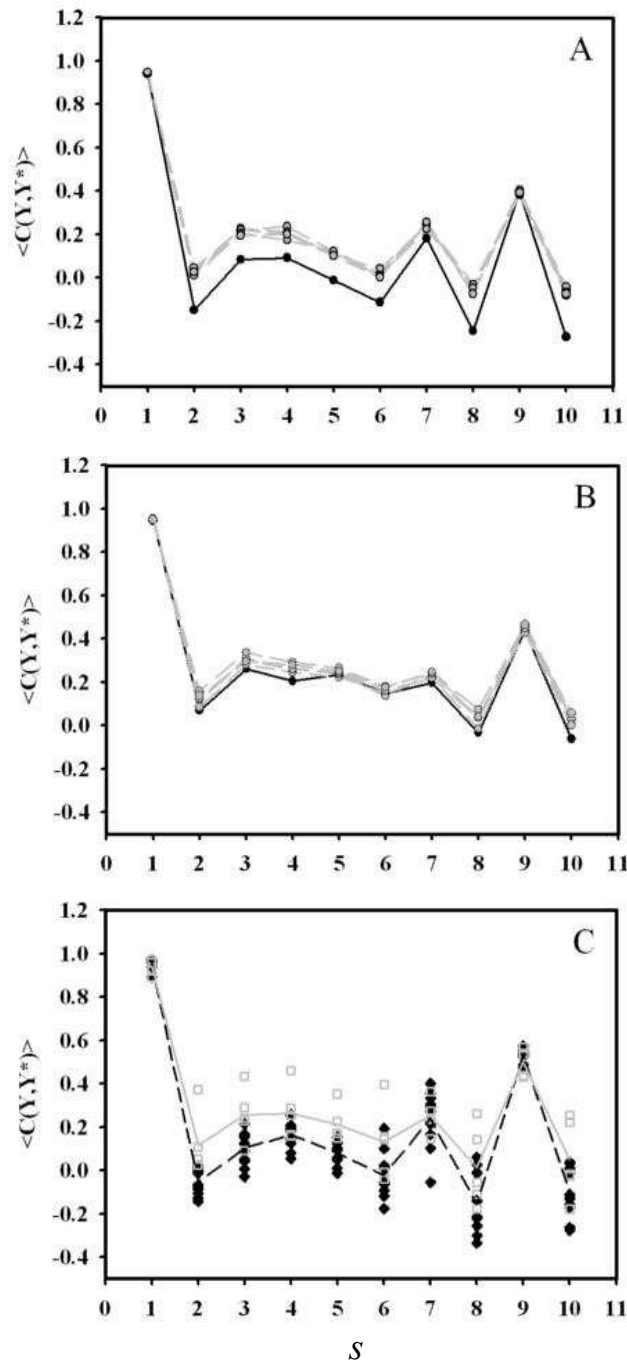


Figura 2. Coeficiente de correlación para diferentes pasos: A) Control de GRs (negro) y subrogados (gris). B) GRs incubados con larvas de *Ascaris lumbricoides* (negro) y subrogados (gris). C) GRs (negros) con su promedio (línea punteada negra) y los GRs incubados con larvas de *Ascaris lumbricoides* (gris) con su promedio (línea sólida gris).

La Tabla 1 presenta los promedios de los exponentes de Hurst para $s = 1,2$ de todas las muestras. Analizando los resultados para $s = 2$, es posible inferir que en muestras sin tratamiento, el proceso podría caracterizarse como un movimiento browniano ordinario

($H \approx 0,5$), donde propiedades estadísticas tales como la invariancia o rango no están relacionados en absoluto. Por otro lado, en muestras incubadas con larvas de *Al*, el proceso sería un movimiento browniano fraccional persistente ($H > 0,5$), que es fractal en sentido estadístico, es decir, las propiedades estadísticas están relacionadas a diferentes escalas de tiempo por medio de una ley de potencias.

Este trabajo encontró que el exponente de Hurst cambia al analizar las poblaciones de muestra de GRs. En otras palabras, se podría decir que existe una variabilidad “saludable”. Una disminución de esta variabilidad podría indicar un deterioro de la salud, mientras que el mantenimiento de la variabilidad en un intervalo razonable puede dotar a un sistema de cierta flexibilidad para responder y adaptarse a los factores de estrés ambiental. Determinar si esta variabilidad era aleatoria o caótica fue la clave en este estudio. Sin embargo, para poder definir con contundencia el tipo de variabilidad que caracteriza a cada tipo de población es necesario un mayor número de muestras, cuyos análisis permitan aseverar que la tendencia es incontrovertible. Trabajos en esta dirección se están llevando adelante con el fin de lograr una mejor validación del método.

Muestras	Exponente de Hurst	
	$s = 1$	$s = 2$
Controles sanos	0.985 ± 0.009	0.46 ± 0.04
Incubadas con <i>Al</i>	0.98 ± 0.01	0.57 ± 0.06
Subrogados de los controles	0.981 ± 0.001	0.5 ± 0.1
Subrogados de las incubadas con <i>Al</i>	0.97 ± 0.04	0.6 ± 0.1

Tabla 1. Exponentes de Hurst para la totalidad de muestras analizadas.

6 CONCLUSIONES

La aleatoriedad y las correlaciones estructurales no son aspectos totalmente independientes de la descripción física y biológica asociada a la deformación de los eritrocitos. Entre la aleatoriedad máxima y el orden perfecto, que no tienen correlaciones estructurales, existe una amplia gama de posibles grados de estructuras físicas sobre los datos, que presentan comportamientos bien diferentes.

El aporte de este trabajo es mostrar las posibilidades promisorias que tiene el uso del análisis de series temporales fotométricas para aplicaciones prácticas, lo que incluye la identificación de los eritrocitos de individuos sanos de aquellos eritrocitos incubados con larvas de *Al* así como la posibilidad de clasificar la enfermedad desde el punto de vista de la dinámica no lineal.

En este trabajo se demostró la consistencia de la metodología empleada a través del análisis de datos subrogados aleatorios obtenido de todas las series temporales registradas. Luego se aplicó el método para las muestras de eritrocitos sin tratamiento y se demostró que el proceso de deformación controlada de los mismos puede caracterizarse como un movimiento browniano ordinario. Finalmente se obtuvo el coeficiente de correlación propuesto por May y Sugihara para la serie de eritrocitos incubados con larvas de *Al*, y en estos casos los resultados obtenidos indican que el coeficiente de correlación para las primeras etapas del proceso aumenta al incrementar sus pasos. Es probable que este resultado indique que los eritrocitos en contacto con las larvas de *Al* hayan perdido propiedades viscoelásticas.

Muchas variables hemo-reológicas podrían influenciar y producir la deformabilidad eritrocitaria, la que conlleva una resistencia creciente del flujo en la microcirculación. Una vez que se pueda predecir cómo evolucionará las propiedades viscoelásticas de los GRs en contacto con larvas de *Al*, es posible proponer correcciones sobre el sistema biológico para llevarlo a un estado de variabilidad saludable o, por los menos, mantenerlo alejado de estados no deseados.

En definitiva, los objetivos de este trabajo están estrechamente relacionados con los objetivos clínicos prácticos subyacentes en las investigaciones sobre sistemas fisiológicos, y aportan nuevas herramientas complementarias para mejorar los diagnósticos pertinentes.

7 REFERENCIAS

- Abarbanel, H.D.I, Brown, R., Sidorowich, J.J., y Tsimring, L.S., The Analysis of Observed Chaotic Data in Physical Systems, *Rev Mod Phys*, 65:1331-1392, 1993.
- Albea, B., Marenzana, A., Castellini, H., Riquelme, B., New Instrument For Easy Determination of Rheological Parameters of Erythrocytes, *Biochimica Clinica*, 37:437, 2013.
- Brown, C., Ghali, H.S., Zhao, Z., Thomas, L.L., y Friedman, E.A., Association of Reduced Red Blood Cell Deformability with Diabetic Nephropathy, *Kidney International*, 67:295-300, 2005.
- Castellini, H., Riquelme, B., Foresto, P., Valverde, J., Estudio del Comportamiento Viscoelástico No Lineal de la Membrana del Glóbulo Rojo, *Anales AFA*, 20:219-223, 2009.
- Core Team, R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, 2016.
- Feder, J., The Cluster Fractal Dimension, *Fractals*, 1:31-40, 1988.
- Lapolla, A., Gerhardiger, C., Dal Frá, N., Franchin, A., Fedele, D., y Crepaldi, G., Glycated Erythrocyte Membrane Proteins and Hemorheological Parameters in Insulin Dependent Diabetic Subjects, *Clinical Hemorheology*, 11:405-415, 1991.
- Lupo, M., Leguto, A.J., Bortolato, S.A., y Korol, A.M., Evolution of Erythrocytes Aggregation: A Fractal Approach When Incubated With *Trichinella spiralis* and *Ascaris lumbricoides*, *Ain Shams Eng J*, 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.asej.2016.12.004>.
- Peterson, C.M., Jones, R.L., Koenig, R.J., Melvin, E.T., y Lehrman, M.L., Reversible Hematologic Sequellae of Diabetes Mellitus, *Annals of Internal Medicine*, 86:425-429, 1993.
- Ponce de León, P., Juárez Matamoros, K., Biondi, C., y Valverde, J., Alteración de la carga aniónica superficial de glóbulos rojos y glóbulos rojos desializados por *Ascaris lumbricoides*, *Rev. Cub. Med. Trop.*, 63:87-90, 2011.
- Ponce de León, P., Valverde, J., y Riquelme, B., Acción biorreológica de extractos de *Ascaris lumbricoides* en eritrocitos humanos, *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 32:62-69, 2012.
- Puig Licea, M., Alteraciones hemorreológicas en la diabetes mellitus, *Rev. Cubana Med.*, 26:1321-1328, 1987.
- Simonsen, I., Measuring anti-correlations in the nordic electricity spot market by wavelets, *Physica A*, 322:597-606, 2003.
- Sugihara, G., May, R., Non-Linear Forecasting as a Way of Distinguishing Chaos From Measurement Error In Time Series, *Nature*, 344:731-741, 1990.
- Szelachowska, M., Schaefer, W., Gries, A.F., y Kinalska, I., Activity of Ca/Mg ATPase in Erythrocyte Membrane of Women with Diabetes Mellitus Type I, *Endocrinology*, 43:23-

29, 1992.

Takens, F., Detecting strange attractors in turbulence. *Dynamical systems and turbulence, Lecture Notes in Mathematics*. 1:366-381, 1981.

Torregiani, F., Umansky-Zeverin, M., Riquelme, B., y Rasia, R., Hemorheologic alterations in diabetic patients, *Clinical Hemorheology*, 15:687-690, 1995.