

ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO VISCOELÁSTICO NO LINEAL EN EL ALMACENAMIENTO DE GLÓBULOS ROJOS

Horacio Castellini^a, Virginia Danieli^b, Liliana Di Tulio^b and Bibiana Riquelme^{b,c}

^a *Facultad de Ciencias Exactas Ingeniería y Agrimensura, Universidad Nacional de Rosario, Pellegrini
250, 2000 Rosario, horacio9573@yahoo.com.ar*

^b *Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Suipacha 550,
2000 Rosario*

^c *Grupo de Óptica Aplicada, I.F.I.R. C.O.N.I.C.E.T., Boulevard 27 de Febrero 30, 2000 Rosario,
riquelme@ifir.edu.ar*

Keywords: Reología, Sistemas Complejos, No Lineal.

Resumen. Actualmente es bien conocido que la membrana del glóbulo rojo (**MGR**) de mamíferos posee propiedades tanto elásticas como viscosas que le infieren un comportamiento viscoelástico. La representación mediante un conjunto de ecuaciones diferenciales lineales (o comportamiento lineal) y su posterior estudio en régimen oscilatorio, es bien conocida y estudiada tanto empírica como teóricamente. Recientemente ha cobrado notoriedad el estudio experimental del comportamiento no lineal de la MGR ante un régimen oscilatorio. En este trabajo se desarrolla una serie de códigos escritos algunos en lenguaje PERL y otros en lenguaje C, que corren en sistema Unix. Los cuales permiten estudiar el comportamiento no lineal a partir de los datos obtenidos de un adquisidor de datos adosado a un eritrodefórmetero de régimen oscilante. Esto no solo permite caracterizar el comportamiento no lineal del atractor sino que además permite caracterizar las posibles alteraciones durante el almacenamiento de glóbulos rojos humanos desde este punto de vista.

1. INTRODUCCIÓN

En trabajos previos (B. and R. (1997)), se ha demostrado que el método difractométrico es adecuado para realizar el análisis viscoelástico complejo de la **MGR**, y resulta ser una herramienta muy útil para investigar las propiedades reológicas de esta. Los parámetros viscoelásticos complejos de la **MGR**, determinados por difracción láser, han sido y siguen siendo de gran utilidad para la detección de alteraciones producidas en distintos niveles de la membrana eritrocitaria ya sea por enfermedades tales como la diabetes, algunas anemias o la hipertensión arterial, así también como las inducidas in vitro por lectinas, glicosilación o polimerizaciones sintéticas (M. and J. (2005), J. and R. (1998)). Las mediciones realizadas con el Eritrodeformómetro en régimen oscilante han permitido verificar que, para frecuencias y velocidades de corte dentro del rango fisiológico, la elongación eritrocitaria varía sinusoidalmente como lo hace la tensión de corte, con un desfase δ que es función de la frecuencia de oscilación, es decir que la **MGR**, para ese rango de tensiones de corte, pueden ser en la práctica descrita como material viscoelástico lineal. Sin embargo, los resultados muestran la existencia de una componente viscoelástica no lineal subyacente (B. and R. (1997)).

El método de los gráficos recurrentes permite visualizar patrones recurrentes en una serie temporal de datos. Esta técnica fue propuesta por primera vez por Eckman *et al.* (S. and D. (1987)) en 1987 para estudiar series temporales, y hallar correlaciones complejas y ocultas entre los datos. Actualmente se usa una consecuencia de este que es conocido como análisis cuantificado recurrente (**ACR**) (J. and C. (1992)) el cual se aplica en los más diversos campos tanto de la física (J. and F. (2002)), química (M. and N. (1999)), economía (J. and Zebrowska (2000)) etc. Por otro lado la complejidad estadística es una herramienta útil para caracterizar comportamientos “no triviales” (S. et al. (1999)) de un estudio estadístico de sistemas dinámicos.

1.1. Análisis Cuantificado Recurrente

Una serie temporal puede considerarse como una concatenación secuenciada de n medidas de un observable.

$$S = \{s_1, s_2, \dots, s_n\} \quad (1)$$

desde la cual se puede construir otra secuencia de N vectores de dimensión d .

$$A_k = \{s_k, s_{k+\tau}, s_{k+2\tau}, \dots, s_{k+(d-1)\tau}\} \quad (2)$$

siendo τ el retardo y d la dimensión del vector. A esta operación se la conoce como *embedding* de la serie temporal y a d se la denomina dimensión de *embedding*. No se puede apelar al uso de los gráficos recursivos para hallar estos parámetros, por lo que es menester usar otras técnicas de cálculo. En este trabajo se usó el primer mínimo relativo de la información mutua para obtener el valor de τ (Fraser and Swinney (1986)), y con el algoritmo de *false nearest* se pudo hallar la dimensión de *embedding* (Kennel et al. (1992)).

Luego para cada par de vectores, se calcula la norma del máximo para generar la matriz de recurrencia booleana simétrica siguiente:

$$R_{(i,j)} = \Theta(\delta_h - \|A_i - A_j\|_\infty) - \Theta(\delta_l - \|A_i - A_j\|_\infty) \quad (3)$$

donde Θ es la función de *Heaviside*. Es decir: cuando $\delta_l < \|A_i - A_j\|_\infty < \delta_h$ a $R_{(i,j)}$ se le asigna el valor “1” de otra manera se le asigna el valor “0”. Al intervalo $[\delta_l, \delta_h]$ se lo conoce

como pasadizo umbral. La elección de dicho pasadizo es crítica, ya que si es muy estrecho se pierde información y si es muy ancho puede incluir puntos irrelevantes. Un buen criterio es el sugerido por Zbilut (J. and C. (1992)). El cual sugiere usar la zona de escala fractal para elegir los posibles valores de dicho pasadizo. Dicho criterio es el usado en este trabajo para hallar los valores más convenientes de δ_l y δ_h .

Para poder caracterizar los GR, Webber (J. and F. (2002)) introdujo una serie de cuantificadores, los cuales son conocidos como *análisis cuantificado recurrente* (ACR).

a) El primero de ellos es el *porcentaje de recurrencia* (%REC), definido como:

$$\%REC = 100 \frac{N_r}{N_t} \quad (4)$$

donde $N_t = \dim(R)^1$ y N_r es el número de puntos recursivos dados por

$$N_r = 2 \#\{(i, j) / R_{(i,j)} > 0 \text{ and } i < j\}. \quad (5)$$

donde $\#$ es la cardinalidad del conjunto. La pendiente de la región lineal del gráfico $\log(\%REC)$ versus $\log(\delta_h - \delta_l)$ es la dimensión de correlación [r11].

b) El segundo cuantificador es el *porcentaje de determinismo* (%DET), definido como:

$$\%DET = 100 \frac{N_l}{N_r} \quad (6)$$

donde N_l es el número de puntos periódicos dados por

$$N_l = 2 \#\{(i, j) / (i, j) \in d_c(k, b), i < j, \forall c, k, b > 0.\} \quad (7)$$

Una línea periódica de longitud b , origen k y zona $c > 0$ se define como:

$$d_c(k, b) = \{(i, i + c) / \prod_{i=k}^{k+b} R_{(i,i+c)} > 0.\} \quad (8)$$

El %DET permite caracterizar la organización del GR.

c) El tercero es llamado *entropía* (S) y es definida como el cumulante de primera especie de la estadística de líneas periódicas de longitud b , es decir:

$$S = - \sum_{b=1}^H P_b \log_2(P_b) \quad (9)$$

donde H es la longitud de la línea de período máximo y $P_n > 0$ es la frecuencia relativa de las líneas periódicas con longitud b . A diferencia de la entropía definida por Shannon (C. (1948)), éste cuantificador mide cuan alejado es el comportamiento de una señal respecto del comportamiento armónico. El máximo valor se obtiene para ondas sinusoidales y vale $S_{max} \approx \log_2(H)$. Según Webber, S representa la entropía de Shannon solo cuando se sabe de ante mano que el sistema es caótico y la dimensión de *embedding* es enorme (J. and C. (1992)).

d) El cuarto y último cuantificador es H . Eckman (S. and D. (1987)) mostró que la longitud de esta línea está relacionada con la inversa del máximo exponente positivo de Lyapunov².

¹Todos los puntos posibles

²Líneas de corta longitud indican comportamiento caótico o estocástico

Recientemente Castellini y Romanelli (H. and L. (2004)) han desarrollado un eficaz algoritmo para evaluar **ACR** aplicado al estudio de transiciones en reacciones químicas caóticas. El objetivo del presente trabajo es extender esa metodología al estudio de la viscoelasticidad no lineal de la **MGR** de seres humanos bajo las condiciones de almacenamiento en bancos de sangre. En este trabajo se pretende determinar si hay alteraciones significativas durante el almacenamiento cuando se estudia el comportamiento no lineal dentro del rango fisiológico cuando se aplica el **ACR** como su combinación con la complejidad estadística.

1.2. Complejidad Estadística

Jaynes (R. (1993)), en su momento, establece la relevancia de la teoría de la información (T. and J. (1991)) en la física teórica. Él propone un programa con dos directivas esenciales. Una es la medida de la información de Shannon, $S[p]$ (C. (1948)),

$$S[P] = \sum_{i=1}^N p_i \ln \left(\frac{1}{p_i} \right) \quad (10)$$

esta mide la incertidumbre asociada a la probabilidad de ocurrencia de procesos físicos descrita por una distribución de probabilidades $\{p_i, i = 1, \dots, N\}$. Y la otra es su célebre **principio de máxima entropía** (R. (1993)).

Al mismo tiempo, Kolmogorov (A. (1958)) transforma la teoría de la información de Shannon en una herramienta para el estudio de la dinámica de sistemas. Entonces se puede pensar a una distribución de probabilidades como un vector perteneciente a un espacio vectorial $\Omega \subset \mathbb{R}^N$, es decir $P = (p_1, p_2, \dots, p_N)$. Luego si $S[P] = 0$, es posible predecir con cierta certeza en que intervalo se encuentra el sistema de todos los posibles intervalos en que está dividida la variable observada. Por lo que el conocimiento de los procesos descritos por P son máximos. Por el contrario la *ignorancia* es máxima si $S[P] = \ln N$, es decir distribución de probabilidad uniforme. Esos dos extremos, máxima predicción y máxima ignorancia, pueden ser vistos como casos “triviales”. Varios autores han concebido la idea de medir posibles “no trivialidades” de un sistema desde un punto de vista estadístico (Crutchfield et al. (2000)). Para tal fin se define el funcional $F[P]$ que permite evaluar estas entropías “no triviales” este se conoce como **complejidad estadística** o meramente complejidad. Existen una gran gama de definiciones de complejidad (Crutchfield et al. (2000)), de todas ellas se elige la sugerida por López Ruiz, Mancini y Calbert; conocida como complejidad **LMC** (HL. and X. (1995)). Esta se basa en la noción de “desequilibrio”. Su definición es la siguiente:

$$C^{LMC} = Q D \quad (11)$$

donde D es la medida del desequilibrio y $0 \geq Q \geq 1$ es la entropía de Shannon normalizada, es decir:

$$Q = \frac{S[P]}{S_{max}[P]}. \quad (12)$$

Consecuente con la idea de desequilibrio, éste debe ser una distancia en el espacio de probabilidades, es decir debe medir cuan diferente es la distribución de probabilidades a la distribución uniforme. Se han sugerido varias medidas, como ser: Kullback-Leiber (S. and R. (1951)), la divergencia de Jensen-Shannon (J. (1991)), etc. De todas ellas se escogió el desequilibrio de

Wootters ([Wootters \(1981\)](#)),

$$D(P) = D_0 \cos^{-1}\left(\sum_{i=1}^N \left(p_i \frac{1}{N}\right)^{\frac{1}{2}}\right) \quad (13)$$

donde

$$D_0 = \frac{1}{\cos^{-1}\left(\left(\frac{1}{N}\right)^{\frac{1}{2}}\right)} \quad (14)$$

Como enfatiza el autor en su publicación ([Wootters \(1981\)](#)), esta es la noción más natural de distancia en el espacio de probabilidades.

1.3. Combinación del ACR y la Complejidad LMC

Uno de los inconvenientes que posee la complejidad **LMC** en su definición original es la pérdida de cualquier relación casual de la señal, sea esta global o local. Una probable solución es combinar el uso de **ACR** con la complejidad **LMC** de la siguiente forma: a la serie temporal de datos se le aplica el **ACR** para obtener la estadística de líneas periódicas de longitud b . Luego a dicho histograma se aplica la definición de la complejidad **LMC**. Al combinar ambas metodologías es menester reinterpretar los resultados, pues ahora $S[P]$ no corresponde a la entropía de información por el contrario corresponde al cumulante de primera especie del histograma de líneas periódicas. Por otro lado el desequilibrio de Wootters $D[P]$ está asociado al caso totalmente periódico y sinusoidal. Es decir, en esta combinación $D[P]$ se anula cuando la señal es periódica y $S[P]$ adquiere su máximo valor el cual es $\log_2(N)$, donde N es el número de líneas periódicas. En el caso de ruido $S[P]$ adquiere su valor mínimo o se anula, en cambio $D[P]$ adquiere su valor máximo.

Finalmente se puede decir que C^{LMC} combinada con el **ACR**, se anula sólo en los casos de señales periódicas y puede adquirir un valor mínimo o nulo para el caso de ruidos. Este se incrementa a medida que el sistema se hace más complejo, pero que a su vez posee alguna relación casual la cual, en este caso es la recursividad.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Análisis de la Serie Temporal

La serie temporal obtenida del adquisidor de datos se filtró para eliminar toda respuesta en frecuencia sinusoidal conocida. Para ello se utilizó filtro Notch ([S. and W. \(1992\)](#)) desarrollado en lenguaje P.E.R.L. Al residuo resultante $r(t)$ se lo filtró nuevamente con un filtro Savitzky-Golay de sexto orden ([Huke and Muldoon \(1992\)](#)), lo cual permite eliminar fenómenos de ruido blanco en los datos. Cabe destacar que este es un filtro F.I.R. (Finite Impulse Response) y no un I.I.R. (Infinite Impulse Response) por lo que el comportamiento del atractor no es afectado por este tipo de filtrado ([Theiler \(1986\)](#)). Luego se normalizaron los datos a media nula ($\mu = 0$) y varianza unidad ($\sigma^2 = 1$). La serie temporal filtrada contiene el comportamiento no lineal buscado con una óptima relación señal ruido.

2.2. Aplicación del ACR al estudio viscoelástico no lineal

Cuando se utilizó el ACR, figura 1, para evaluar la dimensión de correlación en función del tiempo de almacenamiento esta resultó ser la misma e independiente de dicho tiempo, cuyo

valor es $C_2 = 2,5 \pm 0,1$. Esto indica que la topología del atractor no se modifica con el tiempo, por lo que se puede garantizar de que se trata del mismo sistema dinámico.

Del histograma de líneas periódicas se calculó, el cumulante de primera especie $S[p]$, el logaritmo binario de la recíproca de la longitud de la línea periódica máxima $\log_2(1/H)$ y la complejidad **LMC**, $C[p]$. Los valores numéricos hallados se presentan en las tablas 1, 2, 3 para las distintas frecuencia de excitación fisiológicas. Como se puede apreciar en la figura 2 la longitud máxima sufre un abrupto incremento en el día 29, esto indica que la **MGR** como sistema dinámico sufre una abrupta reducción del valor de su exponente de Lyapunov. Esto se puede interpretar como un incremento en la rigidez de la **MGR** pero este incremento desaparece a partir del día 30 en adelante. Para luego incrementarse. Una consecuencia no deseada del endurecimiento de la **MGR** es la destrucción de la célula al ser sometida a esfuerzos. Con lo que da un indicio de tiempo límite para el almacenamiento, a partir del cual la célula puede sufrir daños peligrosos.

Por otro lado del estudio de la complejidad estadística **LMC**, figura 3, se lo puede asociar a los comportamientos no triviales buscados, como ser un incremento del valor en las constantes de acoplamiento en las no linealidades existentes entre la deformación y la tensión de corte. Las posibles consecuencias de esto en el almacenamiento del glóbulos rojos no son actualmente conocidas pues en la actualidad no existen modelos matemáticos no lineales de la **MGR** que den luz a la fenomenología observada.

3. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se estudió la viscoelasticidad no lineal de la **MGR** aplicando el **ACR** y la complejidad **LMC**. Se ha comprobado que desde el punto de vista de sistema dinámico la **MGR** no se ve afectada por el almacenamiento. Esto da la posibilidad de formular un modelo matemático único sobre dicho sistema donde los parámetros variables son las constantes del modelo. Se deja para estudios futuros el desarrollar un modelo matemático de su comportamiento viscoelástico no lineal para perfeccionar el ya existente modelo viscoelástico lineal. Por otro lado el comportamiento de los parámetros viscoelásticos no lineales propuestos ($C[P], H, S[P]$) muestran ser de utilidad para estudiar de forma más refinada las alteraciones de la **MGR** que ocurren durante el proceso de almacenado respecto a otros existentes.

REFERENCIAS

- Kolmogorov A. A new metric invariant of transitive dynamic system and automorphisms in lebesgue spaces. *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, 119:861–864, 1958.
- Riquelme B. and Rasia R. Un material viscoelástico de interés especial: el glóbulo rojo humano. *Anales AFA*, 9:255–259, 1997.
- Shannon C. A mathematical theory of communication. *Bell System Technical Journal*, 27: 379–423, 1948.
- James P. Crutchfield, David P. Feldman, and Cosma Rohilla Shalizi. Comment i on isimple measure for complexity. *Phys. Rev. E*, 62(2):2996–2997, Aug 2000.
- Andrew M. Fraser and Harry L. Swinney. Independent coordinates for strange attractors from mutual information. *Phys. Rev. A*, 33(2):1134–1140, Feb 1986.
- Cantellini H. and Romanelli L. Applications of recurrence quantified analysis to study the dynamics of chaotic chemical reaction. *Physica A*, 342:301–307, 2004.
- Lopez-Ruiz R Mamcini HL. and Calbert X. A statistical measure of complexity. *Physics Letters A*, 209:321–326, 1995.

- Broomhead D.S. J.P. Huke and M.R. Muldoon. Linear filters and nonlinear systems. *J. Roy. Stat. Soc.*, pages 373–382, 1992.
- Holyst J. and Zebrowska. Recurrence plots and husrt exponet for finalcial market and foreing exchange data. *Theoretical and Applied Finace*, 3:419, 2000.
- Lin J. Divergence measures based on the shannon entropy. *IEEE Trans. on Inform. Theory*, 37: 145–151, 1991.
- Riquelme B. Valverde J. and Rasia R. Complex viscoelasticity of normal and lectin treated erythrocytes using laser diffractometry. *Biorheology*, 35:325–334, 1998.
- Zbilut J. and Webber C. Embedding and delays as derived from quantification of recurrence plot. *Phys. Lett. A*, 171:199–203, 1992.
- Zbilut J. Zaldivar J. and Strozzi F. Recurrence quantification based lyapunov exponents for monitoring divergences in experimental datas. *Phys. Lett. A*, 297:173–181, 2002.
- Matthew B. Kennel, Reggie Brown, and Henry D. I. Abarbanel. Determining embedding dimension for phase-space reconstruction using a geometrical construction. *Phys. Rev. A*, 45 (6):3403–3411, Mar 1992.
- Riquelme B. Foresto P. D’Arrigo M. and Valverde J. Dynamic and starionary rheological study of erythrocytes incubaded in a glucose medium. *J. Bioch. and Biophs. Methods*, 62:131–141, 2005.
- Rustici M. Caravati C. Petretto E. Branca M. and Marchetti N. Transition scenario during the evolution of the beluzov-zabotisky reaction in an unstirred batch reactor. *J. Phys. Chem. A*, 103:6564–6570, 1999.
- Silver R. *Essay in Honor of Edwin T. Jaynes.*, volume I. Cambridge Univ. Press, 1993.
- Ekman J. Kamphorst S. and Ruelle D. Recurrence plot of dynamical systems. *Europhys. Lett.*, 4:973, 1987.
- Flannery W. Teukolsky S. and Vetterling W. *Numerical Recipes in FORTRAN: The Arte of Scientific Computing 2nd Edition.*, volume I. Cambridge Universal Press, 1992.
- Kullback S. and Leibler R. On information and sufficiency. *The Annals of Mathematical Statistics*, 22:79–86, 1951.
- Shiner J. S., Davison Matt, and Landsberg P. T. Simple measure for complexity. *Phys. Rev. E*, 59(2):1459–1464, Feb 1999.
- Cover T. and Thomas J. *Elements of Information Theory.*, volume I. Wiley, New York, 1991.
- James Theiler. Spurious dimension from correlation algorithms applied to limited time-series data. *Phys. Rev. A*, 34(3):2427–2432, Sep 1986.
- W. K. Wootters. Statistical distance and hilbert space. *Phys. Rev. D*, 23(2):357–362, Jan 1981.

	$S[P]$ bits/ut	$\log_2(1/H)$	$C[P]$ bits/ut
1	1.81	-6.59	0.27
8	1.95	-6.47	0.28
15	2.34	-6.02	0.31
22	2.09	-6.53	0.30
29	1.96	-7.44	0.29
36	1.73	-5.83	0.26
43	1.96	-7.21	0.28

Cuadro 1: Cumulante de primera especie, longitud periódica máxima y complejidad en función de los días de almacenamiento para una frecuencia de excitación de $f = 0,5$ Hz.

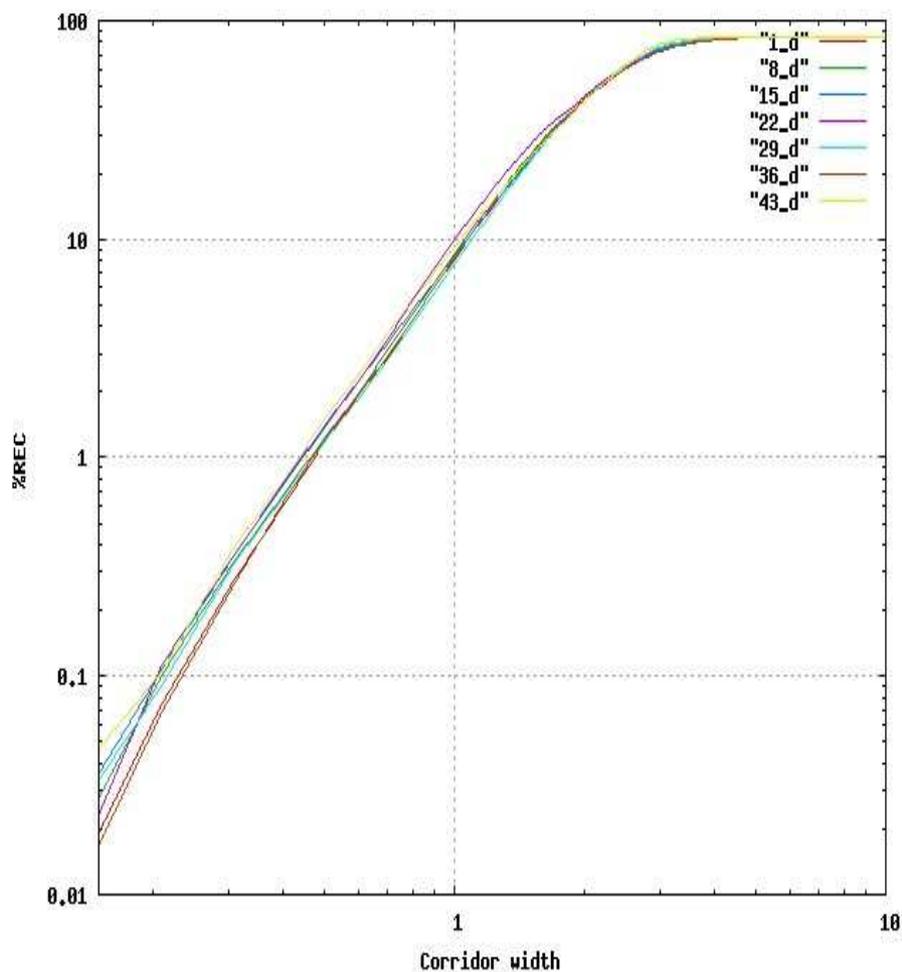


Figura 1: La pendiente de la zona recta de la gráfica %REC versus el ancho del corredor es la dimensión de correlación. Como se aprecia en la figura, esta pendiente cambia poco en función del tiempo de almacenado.

	$S[P]$ bits/ut	$\log_2(1/H)$	$C[P]$ bits/ut
1	2.43	-7.92	0.31
8	2.30	-7.59	0.30
15	1.99	-6.91	0.28
22	2.03	-6.80	0.29
29	2.50	-8.84	0.31
36	2.46	-7.75	0.32
43	2.81	-7.80	0.33

Cuadro 2: Cumulante de primera especie, longitud periódica máxima y complejidad en función de los días de almacenamiento para una frecuencia de excitación de $f = 1,0$ Hz.

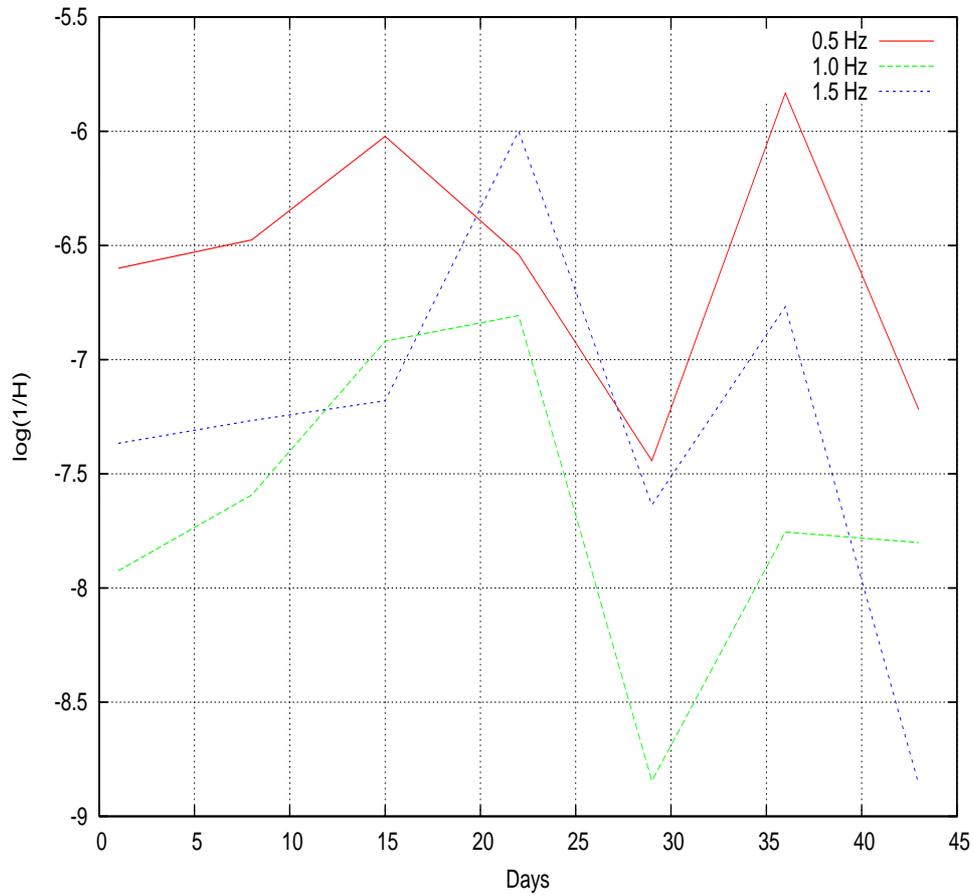


Figura 2: Logaritmo binario de la recíproca de la longitud de la línea periódica máxima H . Como se puede apreciar para el día 29 de almacenamiento ocurre un abrupto cambio en el comportamiento del sistema dinámico.

	$S[P]$ bits/ut	$\log_2(1/H)$	$C[P]$ bits/ut
1	2.06	-7.36	0.29
8	1.85	-7.26	0.28
15	1.70	-7.17	0.26
22	1.70	-6.00	0.26
29	2.44	-7.63	0.32
36	2.04	-6.76	0.29
43	2.60	-8.86	0.33

Cuadro 3: Cumulante de primera especie, longitud periódica máxima y complejidad en función de los días de almacenamiento para una frecuencia de excitación de $f = 1,5$ Hz.

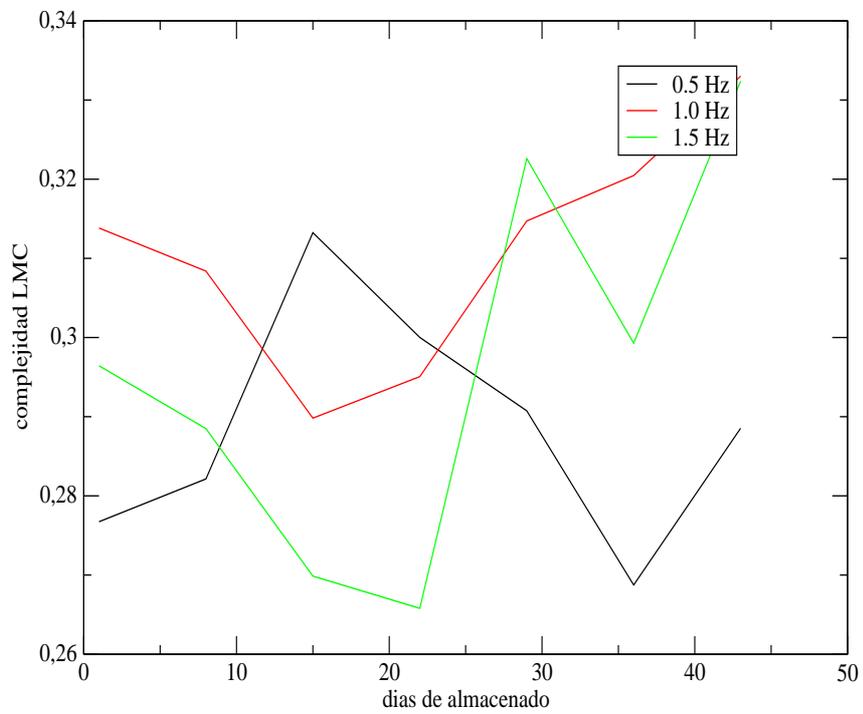


Figura 3: Complejidad estadística LMC en función de los días de almacenado para las distintas frecuencias fisiológicas.