

Evolución de la dimensión fractal y correlación temporal de agregados eritrocitarios producidos por *Ascaris lumbricoides*

Evolution of the fractal dimension and time correlation of erythrocyte aggregates produced by *Ascaris lumbricoides*

Dra. Ana Korol Etchegaray, Dra. Manuela Herrera Insaurrealde, Dra. Noelia Lamónaco Andres, Dra. Natalia Leiva Viú, Dr. Matías Cantalejo Ceccato, Bioq. Patricia Ponce de León Horianski

Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario, Argentina.

RESUMEN

Introducción: se ha demostrado que *Ascaris lumbricoides* capta ácido siálico eritrocitario.

Objetivo: estudiar la evolución de la dimensión fractal y la correlación temporal de los agregados eritrocitarios producidos por incubación con el helminto.

Métodos: se trabajó con extractos parasitarios y concentrados de larvas, que fueron incubados en partes iguales con eritrocitos grupo O, en medio salino y enzimático, durante 90 min (eritrocitos tratados). Las suspensiones de eritrocitos control se incubaron con igual volumen de *buffer* fosfato salino. Las muestras de eritrocitos fueron extraídas cada 10 min durante la incubación. Se aplicó análisis digital de imágenes para la toma de los datos, se calculó *a posteriori* el conteo de células aisladas utilizando la técnica de *box-counting* y se aplicó el método de May y Sugihara, realizando las comparaciones siguientes: control de sangre entera enfrentada a otra muestra control de igual característica; control enfrentado a eritrocitos tratados con concentrados de larvas y control enfrentado a eritrocitos tratados con extractos parasitarios.

Resultados: el análisis de la dimensión fractal para eritrocitos controles en ambos medios mostró una evolución de tipo movimiento browniano. Los eritrocitos tratados con extractos parasitarios presentaron un movimiento caótico determinista en medio salino y browniano fraccionario en medio enzimático. La cinética de agregación de los eritrocitos tratados con concentrados de larvas presentó un comportamiento intermedio entre ambos. La correlación temporal indicó que la conducta del control fue aleatoria en ambos medios y que los eritrocitos tratados con extractos parasitarios presentaron un comportamiento caótico determinista en medio salino y débilmente autosemejante en medio enzimático. El control enfrentado a muestras tratadas con concentrados de larvas en ambos medios, tuvo una conducta intermedia entre la que presentaron los otros dos procesos.

Conclusiones: los análisis matemáticos realizados han permitido caracterizar el proceso de agregación eritrocitaria producido por *Ascaris lumbricoides*.

Palabras clave: *Ascaris lumbricoides*, dimensión fractal, correlación temporal, agregados eritrocitarios.

ABSTRACT

Introduction: *Ascaris lumbricoides* has been shown to capture erythrocyte sialic acid.

Objective: study the evolution of the fractal dimension and the time correlation of erythrocyte aggregates produced by incubation with this helminth.

Methods: parasite extracts and larval concentrates were incubated in equal parts with group O erythrocytes in saline and enzymatic media for 90 minutes (treated erythrocytes). Control erythrocytes suspensions were incubated with an equal volume of saline phosphate buffer. Erythrocyte samples were extracted every 10 minutes during incubation. Digital image analysis was used for data collection. The count of isolated cells was estimated *a posteriori* using box-counting technique. The May & Sugihara method was used for the following comparisons: whole blood control vs. a control sample with the same characteristic; control vs. erythrocytes treated with larval concentrates, and control vs. erythrocytes treated with parasite extracts.

Results: fractal dimension analysis of control erythrocytes revealed Brownian motion evolution in both media. Erythrocytes treated with parasite extracts showed deterministic chaotic motion in the saline medium and fractional Brownian motion in the enzymatic medium. The behavior of aggregation kinetics for erythrocytes treated with larval concentrates was intermediate between the two. Time correlation revealed random behavior by the control in both media. It also showed that erythrocytes treated with parasite extracts had deterministic chaotic behavior in the saline medium and weakly self-similar behavior in the enzymatic medium. When compared with samples treated with larval concentrates in both media, the behavior of the control was intermediate between that of the other two processes.

Conclusions: the mathematical analyses conducted have allowed characterization of the process of erythrocyte aggregation performed by *Ascaris lumbricoides*.

Key words: *Ascaris lumbricoides*, fractal dimension, time correlation, erythrocyte aggregates.

INTRODUCCIÓN

Las larvas de *Ascaris lumbricoides* tienen contacto directo con los eritrocitos del hospedador durante la circulación por el torrente sanguíneo y el estado adulto, si bien posee localización intestinal, puede migrar y perforar la pared del intestino o penetrar en los canales venosos, teniendo eventualmente también contacto con los glóbulos rojos.¹⁻³ En experiencias previas se ha demostrado alteración de la carga eritrocitaria⁴⁻⁶ y de los parámetros hemorreológicos^{7,8} por este helminto, así como también que el fenómeno es más importante en eritrocitos desializados.^{9,10}

Los ácidos siálicos están involucrados en funciones biológicas, como son los procesos de reconocimiento celular, vida media de células y proteínas plasmáticas, modulación del sistema inmune, apoptosis, adhesión celular y transducción de señales. Los residuos de ácido siálico de las glicoproteínas de superficie son los principales responsables de la carga negativa del glóbulo rojo, y favorecen la interacción de los eritrocitos con el endotelio vascular, razones por las que el ácido siálico es un elemento fundamental del comportamiento hemorreológico y hemodinámico.¹¹ La agregación eritrocitaria desempeña un papel importante en la microcirculación y su estudio es particularmente relevante en diabetes, aterosclerosis, hipertensión arterial y otras vasculopatías.¹²⁻¹⁵

La glicobiología reveló un espectro nuevo de funciones biológicas de los hidratos de carbono. Los mecanismos celulares de muchos procesos infecciosos no se conocen con exactitud, pero hoy día se acepta que tanto los glucoconjugados de la superficie del parásito como los del hospedador, están íntimamente involucrados en las interacciones que se establecen entre ambos.¹⁶

Debido a la importancia biológica y patológica de la captación de ácido siálico por *A. lumbricoides*, los estudios matemáticos posibilitan el estudio de la interacción parásito-eritrocito. Este análisis no puede ser realizado utilizando la noción de longitud dentro de la geometría euclídea clásica, por lo cual se debe recurrir a conceptos matemáticos conocidos como fractales, que ya han sido aplicados en el estudio de procesos biológicos.¹⁷⁻¹⁹ La técnica de análisis digital de imágenes²⁰ permite la obtención de los datos de estos análisis.

El objetivo estuvo en estudiar la dimensión fractal temporal y la correlación temporal de eritrocitos en medio salino y enzimático, incubados *in vitro* con *A. lumbricoides*, a los fines de determinar la dinámica de la interacción eritrocito-parásito y caracterizar el proceso.

MÉTODOS

Muestras

Extractos de A. lumbricoides (EA): se trabajó con extractos parasitarios obtenidos a partir de la remoción de la cutícula de ejemplares adultos y ruptura mecánica refrigerada.²¹

Concentrados de larvas (CLAL): se utilizó un concentrado de larvas L1/ L2 de *A. lumbricoides* (5 100 ± 200 larvas/mL) obtenido de la embrionación y eclosión de huevos *in vitro*,^{22,23} y posterior recolección de larvas por el método de Baermann-Moraes.²⁴

Glóbulos rojos humanos (GR): se trabajó con muestras sanguíneas humanas frescas Grupo O, en medio salino y enzimático, anticoaguladas con EDTA. Se separó el plasma autólogo y se lavaron los GR 3 veces con *buffer* fosfato salino pH 7,4 y osmolaridad 295 mOsm/kg (PBS).

Procesos

Tratamiento de los glóbulos rojos: se incubaron 200 μ L del sedimento globular con igual volumen de EA/CLAL durante 90 min a 37 °C (GR tratados). Los eritrocitos utilizados como control, se incubaron de la misma manera con igual volumen de PBS. Cada 10 min, se extrajeron 40 μ L de las suspensiones de GR tratados y controles. Finalizado cada uno de los tiempos de incubación, los eritrocitos se lavaron 3 veces en PBS.

Distribución de agregados eritrocitarios por análisis digital de imágenes:^{20,25} los GR tratados y controles fueron suspendidos en plasma autólogo a 0,13 % y mantenidos en reposo durante 5 min para inducir la agregación. Para cada suspensión se examinaron las imágenes de las diferentes poblaciones de agregados de cada uno de los tiempos de incubación (0, 10, 20, 30, ...90 min) en un portaobjeto excavado ubicado sobre la platina de un microscopio óptico invertido (*Union Optical*, Japón). Las imágenes se obtuvieron por triplicado con un objetivo de 40x y una cámara fotográfica digital (*Canon Powershot A640*).

Análisis matemático no lineal:^{18,19,26,27} en cada muestra y para cada una de las imágenes obtenidas en los 10 tiempos de incubación, se calculó *a posteriori* el conteo de tipo *box-counting*, con el fin de obtener la dimensión fractal; la cual se obtiene de una imagen en 2 dimensiones, siendo sin duda el más extendido en la literatura científica. Este análisis puede aplicarse a distribución de puntos, curvas, superficies y volúmenes. Para la realización del método práctico, se utilizó una rejilla de celdas de lado r , cubriendo cada imagen obtenida a distintas escalas. La dimensión de la imagen en sentido de sitios ocupados está dada por:

$$\ln N(r) = D \cdot \ln (1/r) + C$$

Donde N es el número de cajas ocupadas, r el lado de las cajas, y D la dimensión fractal de la imagen.

Método de May & Sugihara:^{28,29} Con los datos obtenidos en forma de series temporales correspondientes al conteo de células libres de los sitios ocupados (*box-counting*), y el paso de acuerdo a los distintos tamaños de cajas en forma de series temporales, se calculó la correlación no lineal utilizando la fórmula propuesta por Feders:

$$C(H) = 2(2^{2H-1} - 1)$$

Para $C=0$ resulta $H=1/2$

$C \neq 0$ resulta $H \neq 1/2$

Donde $C(H)$ es la correlación dada por: Correlación (r)= covarianza (X,Y)/des.std.X.des.std.Y

Se hicieron las comparaciones siguientes: control de sangre entera enfrentada a otra muestra control de igual característica; control enfrentado a GR tratados con CLAL y control enfrentado a GR tratados con EA.

RESULTADOS

Análisis de la evolución de la dimensión fractal

Muestras de glóbulos rojos humanos incubadas con PBS (controles)

El cálculo de la dimensión fractal en cada una de las imágenes tomadas de las muestras control en medio salino (total: 150 imágenes) y en medio enzimático (total: 120 imágenes), indicó una evolución de tipo movimiento browniano ordinario sin patrón subyacente, tal como se esperaría de una muestra de eritrocitos normales.

La velocidad de agregación de los GR analizados en medio salino presentó una conducta aleatoria, de tipo ruido blanco y en medio enzimático los eritrocitos exhibieron un comportamiento tipo ruido 1/f. Se observó que la cinética de agregación tuvo un valor inicial bajo, que aumentó en el segundo paso en medio salino, mientras que en medio enzimático presentó un valor inicial alto; aunque en ambos medios terminaron oscilando alrededor del valor final.

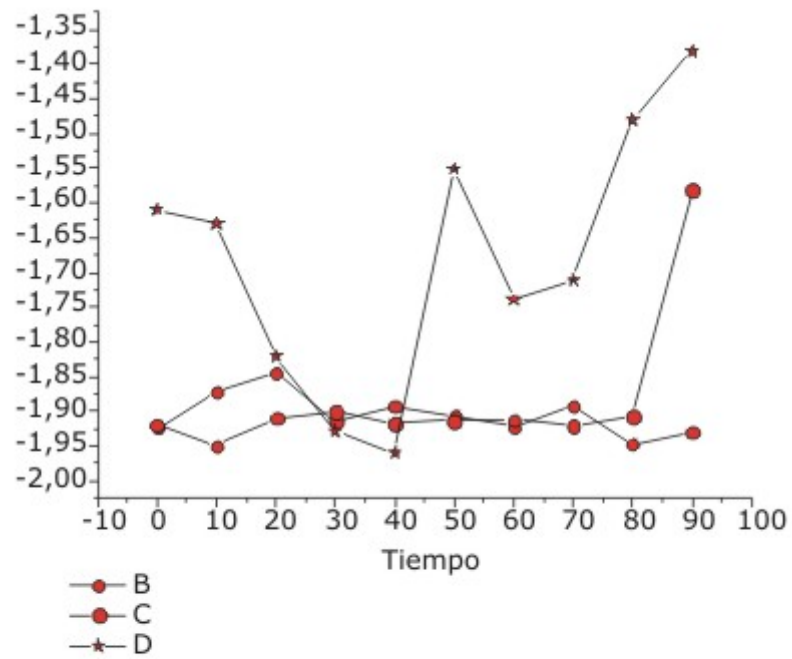
Muestras de glóbulos rojos humanos incubadas con extractos de Ascaris lumbricoides

En las muestras tratadas en medio salino (total: 150 imágenes), los valores correspondientes a la dimensión fractal se estabilizaron en una meseta, dando lugar a un proceso caótico fuertemente autosemejante. La cinética de agregación indicaría una conducta de tipo caótico determinista, que avala la obtención del exponente de Ljapunov del proceso, y posibilitaría predecir la conducta para los primeros tiempos de este, por lo que se estaría en condiciones de pronosticar la dinámica y evitar un proceso no deseado. El análisis de las muestras desializadas tratadas (total: 90 imágenes), mostró una amplia dispersión entre el número de células aisladas iniciales y finales, con una meseta de valor medio entre un mínimo y un máximo, entre los resultados obtenidos a los 20 y 80 min. La cinética de agregación en medio enzimático indicaría un proceso de tipo movimiento browniano fraccionario.

Muestras de glóbulos rojos humanos incubadas con concentrados de larvas (5 100 ± 200 larvas/mL)

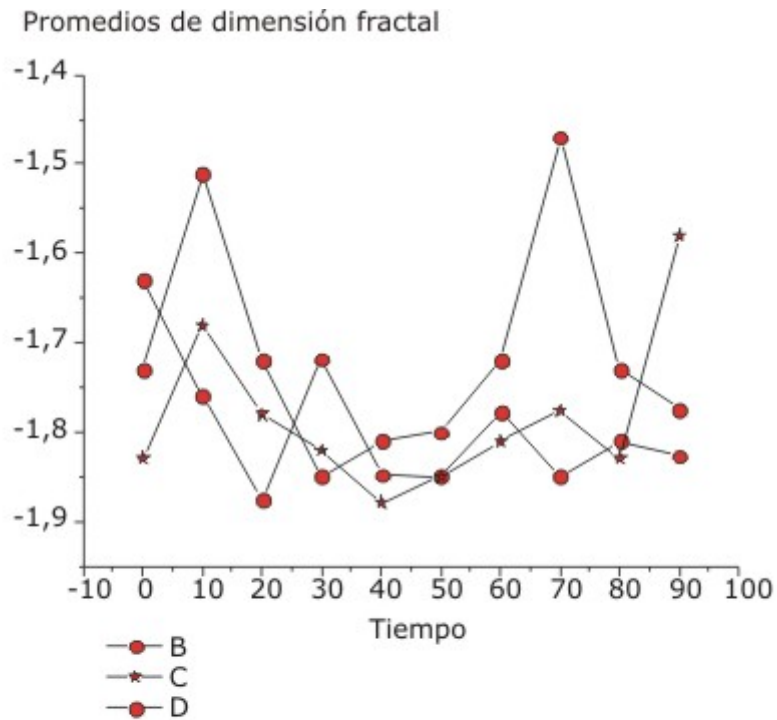
En las imágenes obtenidas de las suspensiones eritrocitarias incubadas, con los CLAL tanto en medio salino (total: 90 imágenes) como en medio enzimático (total: 90 imágenes), se observó que la cinética de agregación de los GR presentaba un comportamiento intermedio entre el de los controles y el de las muestras tratadas con EA. El análisis de la evolución de la dimensión fractal del total de las imágenes mostró un comportamiento de tipo ruido 1/f para los eritrocitos en medio salino, mientras que para los GR desializados se observaron solo 2 picos elevados en los valores. Los resultados del estudio de la evolución de la dimensión fractal de los agregados eritrocitarios se muestran en las figuras 1 y 2.

Promedios de dimensión fractal



B: muestras control, C: muestras tratadas con extractos de *Ascaris lumbricoides* y D: muestras tratadas con concentrados de larvas.

Fig. 1. Promedio de la evolución de la dimensión fractal en medio salino.



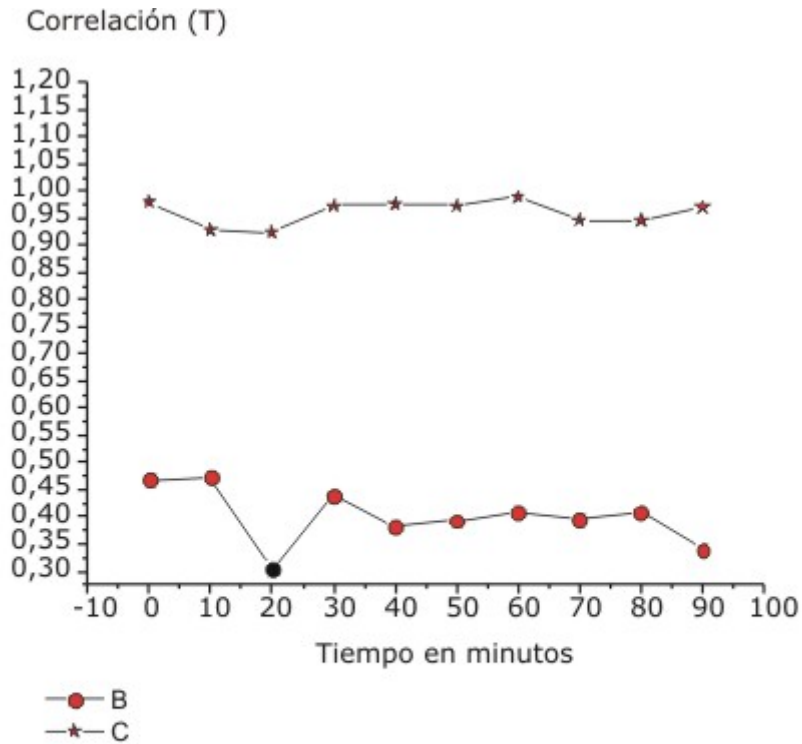
B: muestras control, C: muestras tratadas con extractos de *Ascaris lumbricoides*, D: muestras tratadas con concentrados de larvas.

Fig. 2. Promedio de la evolución de la dimensión fractal en medio enzimático.

Análisis de la correlación temporal

Comparación: control de sangre entera enfrentada a otra muestra control de igual característica

Los resultados para las imágenes tomadas en medio salino, a intervalos regulares de tiempo (total: 150 imágenes), fueron aleatorios de tipo ruido blanco, mientras que el análisis de las 120 imágenes correspondiente a las muestras controles en medio enzimático mostró que la correlación presentó una conducta $1/f$ (débilmente aleatoria), donde se sucedieron correlaciones de tipo persistente (Fig. 3).

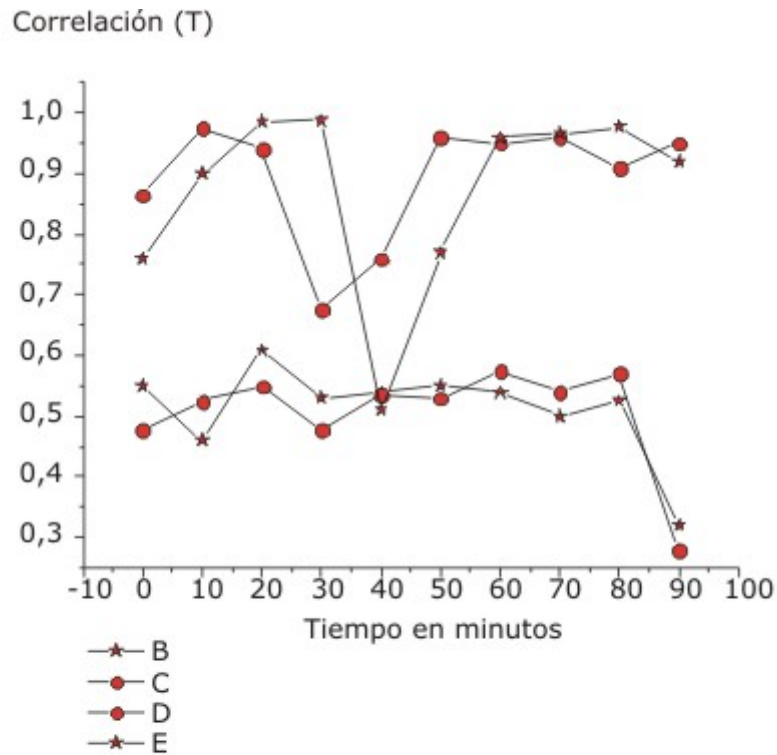


B: medio salino, C: medio enzimático.

Fig. 3. Correlación entre muestras control enfrentadas a muestras control.

Comparación: control enfrentado a muestras tratadas con extractos de Ascaris lumbricoides

Las muestras de GR tratadas en medio salino (total: 150 imágenes), correspondieron a procesos caóticos deterministas, mostrando la presencia de un patrón subyacente, por lo que se trataría de un proceso autoorganizado en lo que respecta a procesos fractales. Al analizar las 90 imágenes obtenidas de las muestras incubadas en medio enzimático, se observó que la correlación GR bromelinizados control enfrentado a GR bromelinizados tratados, presentaba un mínimo a lo largo de todo el proceso y una conducta que se estabilizó tornándose débilmente autosemejante (Fig. 4).

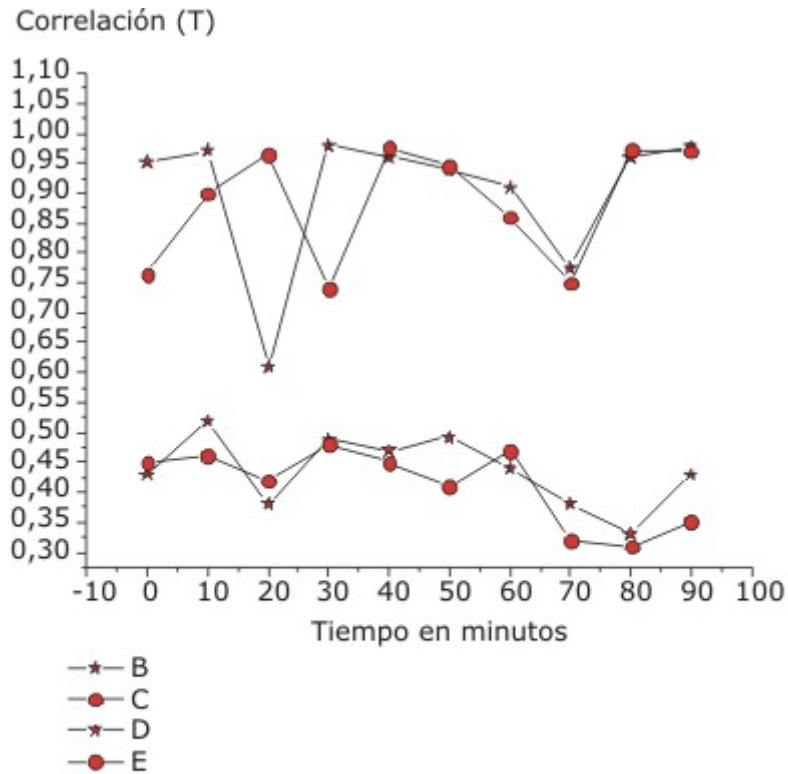


B y C: medio salino, C y D: medio enzimático.

Fig. 4. Correlación entre muestras control enfrentadas a muestras tratadas con extractos de *Ascaris lumbricoides*.

Comparación: control enfrentado a muestras tratadas con *concentrados de larvas*

Las imágenes obtenidas de las 3 suspensiones incubadas con CLAL en medio salino (total: 90 imágenes) y en medio enzimático (total: 90 imágenes), mostraron la conducta de un proceso intermedio entre el de los controles y las muestras eritrocitarias tratadas con EA (Fig. 5).



B y C: medio salino, C y D: medio enzimático.

Fig. 5. Correlación entre muestras control enfrentadas a muestras tratadas con concentrados de larvas.

DISCUSIÓN

En el contexto de los estudios multidisciplinarios de los procesos biológicos, los modelos matemáticos y los análisis no lineales han permitido la interpretación de las interacciones entre células y moléculas, y han sido aplicados para estudiar propiedades de los eritrocitos en distintas enfermedades.^{18,19,26-31}

Ascaris lumbricoides produce la geohelmintiasis más común de los países subdesarrollados.^{7,25} En experiencias previas, utilizando métodos que evalúan de manera indirecta el contenido de ácido siálico eritrocitario, se ha demostrado que existe alteración de la carga aniónica por contacto de los glóbulos rojos con este nematodo,⁴⁻¹⁰ y que este efecto es más significativo cuando los glóbulos están previamente desializados.^{9,10} Estas investigaciones indicarían que los pacientes diabéticos o hipertensos con ascariosis pueden presentar una deficiencia de ácido siálico globular, que favorecería las complicaciones de la infección. Por otro lado, también se ha comunicado que la alteración de la carga eritrocitaria producida por el parásito, conlleva a alteraciones hemorreológicas, sin embargo, esta alteración no había podido hasta el momento ser caracterizada en forma teórica.

Los resultados del análisis realizado de la evolución de la dimensión fractal y de la correlación temporal, no solo caracterizan la alteración que los GR sufren en contacto con EA y CLAL, sino también la cuantifican. El análisis de la evolución de la dimensión fractal mostró que las muestras control, en medio salino presentan la conducta aleatoria esperada para muestras de GR normales,^{18,19,29} indicando que

los glóbulos no modificaron su carga aniónica a lo largo de la incubación con PBS: Cuando los GR control fueron desializados de manera parcial por la bromelina presentaron un patrón débilmente aleatorio, tal como se esperaría para muestras deficitarias en ácido siálico.³¹ Estas experiencias concluirían que las muestras controles conservan su carga durante la incubación con PBS y que la cinética de agregación en medio salino es la esperada para una suspensión de eritrocitos normales (evolución de tipo movimiento browniano);^{18,19,29} mientras que en medio enzimático presentan una conducta aleatoria de tipo ruido 1/f, con pérdida leve de aleatoriedad, debido a la disminución de carga ocurrida por la bromelina.

En los GR incubados con el parásito, tanto en medio salino como enzimático, se produjo una disminución de carga aniónica, que originó el aumento de la agregación, en concordancia con las comunicaciones previas realizadas.⁴⁻¹⁰ El tratamiento de las muestras, al alterar la carga aniónica, modificó la conducta del control, convirtiéndose en un proceso caótico en medio salino y caótico determinista en medio enzimático. Los procesos caóticos en ambos medios, fueron más intensos en el contacto de los GR con los EA en relación con CLAL, lo cual sugiere que los primeros produjeron la mayor alteración de carga eritrocitaria, quizá debido a su contenido proteico. Por otro lado, el aumento de la agregación producido por el contacto con el parásito en medio salino produjo la pérdida de aleatoriedad del proceso observado en los controles, mientras que en el medio enzimático, la modificación de la cinética de agregación del control fue mayor, resultando en una conducta débilmente aleatoria con una amplia dispersión entre los valores obtenidos de células aisladas.

Estas observaciones que han sido detectadas en los trabajos previos mencionados,⁴⁻¹⁰ han podido ser caracterizadas en este trabajo a través del cuantificador matemático no lineal, la correlación temporal, la cual en las muestras de sangre control enfrentadas a muestras de sangre control, tanto en medio salino como en medio enzimático (Fig. 3), mostró en ambos casos y para todo tiempo de evaluación, que se mantuvo constante, sin variaciones; por lo que fue independiente del tiempo en el cual se evaluó el parámetro matemático, que se mantuvo constante y en forma más marcada en medio enzimático, presentando un comportamiento de tipo ruido 1/f. En ambos casos la serie temporal exhibió una conducta caracterizada por un movimiento browniano ordinario, donde la correlación fue independiente del paso del proceso. Este evaluador no lineal, para muestras control enfrentadas a muestras control en medio salino, osciló $C(T) = 0,40$ con una correlación de tipo anti-persistente, mientras que en medio enzimático $C(T) = 0,95$, los valores fueron claramente diferentes y consistentes para todas las muestras.

Para la correlación temporal, de las muestras de sangre control enfrentadas a muestras tratadas con EA (Fig. 4), los resultados en medio salino correspondieron a una conducta débilmente caótica, mientras que en medio enzimático fueron muy caóticas deterministas, mostrando en todos los casos un mínimo en el valor de la correlación.

Para la correlación temporal, de las muestras de sangre control enfrentadas a muestras tratadas con CLAL (Fig. 5), en ambos medios, la conducta desde el punto de vista no lineal resultó caótica, en forma débil en medio salino y fuerte en medio enzimático. Es importante destacar, que todos los resultados por poblaciones resultan consistentes y que los cuantificadores han podido caracterizar todas las muestras.

Los ácidos siálicos muestran una inmensa diversidad de estructuras que reflejan su participación en importantes procesos biológicos de crecimiento y desarrollo, tanto

normal como patológico.^{32,33} Adicionalmente, los diferentes tipos de ácidos siálicos son importantes en la carga neta de la superficie celular de los mamíferos y protistas parásitos, siendo relativamente abundantes en el glucocálix de enterocitos, eritrocitos y células calciformes maduras del intestino delgado, así como en el moco de las mucosas.^{16,32,33} Su disminución tiene consecuencias hemorreológicas y hemodinámicas fundamentales en el desarrollo de distintas enfermedades humanas.¹⁶

La disminución del ácido siálico del glóbulo rojo es importante en la interacción parásito-hospedador, y su estudio podría colaborar en la explicación de algunos aspectos de la enfermedad producida en ascariosis.³⁴⁻³⁶ Por otro lado, si se considera que el comportamiento de los eritrocitos bromelinizados puede compararse al de los glóbulos de pacientes diabéticos, hipertensos¹² o con alguna enfermedad con déficit de ácido siálico eritrocitario, así como también que la ascariosis es una parasitosis cosmopolita muy frecuente, el análisis de los agregados eritrocitarios producidos por *A. lumbricoides* en medio enzimático, es aplicable al estudio de la infección parasitaria en pacientes con esas enfermedades.

Esta experiencia, que combina herramientas matemáticas complejas con el análisis digital de imágenes, ha permitido englobar y corroborar todas las comunicaciones antes citadas⁴⁻¹⁰ y, por primera vez, caracterizar realmente el proceso de agregación que se produce desde un punto de vista dinámico, permitiendo la mejor comprensión de la interacción biológica entre los eritrocitos y *A. lumbricoides*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agudelo-Lopez S, Gómez-Rodríguez L, Coronado X, Orozco A, Valencia-Gutierrez CA, Restrepo-Betancur LF, et al. Prevalencia de parasitosis intestinales y factores asociados en un corregimiento de la Costa Atlántica colombiana. Rev Salud Pública 2008;10(4):633-42.
2. Romero Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana. 3ª ed. Buenos Aires: Editorial Panamericana; 2007. p. 1553-62.
3. Scott M. *Ascaris lumbricoides*: Una revisión de su epidemiología y su relación con otras infecciones. Annales Nestlé. 2008;66(1):7-22.
4. Ponce de León P, Biondi C, Valverde J. Efecto producido por *Ascaris lumbricoides* sobre la carga superficial eritrocitaria utilizando el método de Polibrene. Acta Bioq Clín latinoamer. 2010;44(4):689-96.
5. Ponce de León P, Di Vita S, Racca L, Biondi C, Valverde J. Extractos de *Ascaris lumbricoides*: alteración de la carga eritrocitaria utilizando el método de azul Alcian. Rev Cubana Med Trop. 2011;63(3):263-7.
6. Ponce de León P, Lebensohn N, Foresto P, Valverde J. *Ascaris lumbricoides*: Alteration of the erythrocyte superficial charge using the Partition Method in aqueous two- phase system. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2009;51(4):219-21.
7. Ponce de León P, Del Balzo G, Riquelme B. Biorheological action of *Ascaris lumbricoides* larvae on human erythrocytes. Cell Biochemistry Biophysics. 2013;65(2):237-42.

8. Ponce de León P, Valverde J, Riquelme B. Acción biorreológica de extractos de *Ascaris lumbricoides* en eritrocitos humanos. Rev Soc Venez. 2012;32:62-9.
9. Ponce de León P, Juárez Matamoros K, Biondi C, Valverde J. Alteración de la carga aniónica superficial de glóbulos rojos y glóbulos rojos desializados por *Ascaris lumbricoides*. Rev Cubana Med Trop. 2011;63(1):87-90.
10. Ponce de León P, Racca L, Menendez M, Biondi C, Valverde J. Acción de *Ascaris lumbricoides* sobre la carga aniónica de eritrocitos y eritrocitos desializados. Acta Bioq Clín latinoamer. 2012;46(2):247-56.
11. Saraví F. ETAS-Hemodinámica. En: Reología de la Sangre; 2007 [citado 2 Ene 2013]. Disponible en: <http://www.buenastareas.com/ensayos/Reologia/655748.html>
12. Foresto PG, D'Arrigo M, Filipini F, Gallo R, Rasia R, Valverde JR. Estudio de parámetros hemorreológicos en hipertensión esencial. Rev Fed Arg Cardiol. 2002;31:69-73.
13. Filipini F, Foresto PG, Gallo R, D'Arrigo M, Barberena S, Valverde J. Consideraciones hemorreológicas de la hipertensión arterial. Boletín CAHTA. 2006;7:30-7.
14. Carrera Fernández LI, Etchepare R, Foresto PG, D' Ottavio Cattani AE, D'Arrigo M, Valverde J. La agregación eritrocitaria en la fisiopatogenia de las lesiones cutáneas microangiopáticas diabéticas. Endocrinol Nutr. 2006;53(4):242-5.
15. Licea Puig M. Alteraciones hemorreológicas en la diabetes mellitus: revisión bibliográfica. Rev Cubana Med. 1987;26(12):1321-8.
16. Previato JO, Andrade AF, Pessolani MC, Mendonça-Previato L. Incorporation of sialic acid into *Trypanosoma cruzi* macromolecules. A proposal for a new metabolic route. Mol Biochem Parasitol. 1985;16:85-96.
17. Aguirre C, Korol A, Aremdaroz M. Fractal description of the shapes of Nature. Biocell. 1996;1:22.
18. Korol A, Rasia R. Correlated random walk: a fractal approach to erythrocyte viscoelastic properties. Clin Hemorr Microc-Blood Flow Vessels.1999;20:97-103.
19. Korol A, Valverde J, Rasia R. Nonlinear Analysis: K2 Entropy on RBC under shear stress. Biocell. 2001;25(2):206.
20. Riquelme B, Dumas D, Relancio F, Fontana A, Alessi A, Foresto P, et al. Study of polycation effects on erythrocyte agglutination mediated by anti-glycophorins using microscopic image. Applications to RBC under shear stress. Biocell. 2002;26(2):128.
21. Ponce de León P, Valverde J, Zdero M. Preliminary studies on antigenic mimicry of *Ascaris lumbricoides*. Rev Inst Med Trop S Paulo. 2000;42(5):295-6.
22. Fairbairn D. The *in vitro* hatching of *Ascaris lumbricoides* eggs. Canad J Zool. 1961;39:153-62.

23. Geenen PL, Bresciani JB, Pedersen A, Eirksen H, Fagerholm PN. The morphogenesis of ascaris suum to the infective third-stage larvae within the egg. *J Parasitol.* 1999;85(4):616-22.
24. Fabián Beltrán de Estrada M, Tello Casanova R, Náquira Velarde CI. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre. Lima: Edición Instituto Nacional de Salud; 2003. p. 29-31.
25. Danieli V, Fontana AB, Alessi AC, Foresto PG, Valverde JR, Grandfils C, et al. Tratamiento de eritrocitos humanos con copolímeros sintéticos: optimización del tiempo de incubación. *Acta bioquím clín Latinoam.* 2009;43(1):43-8.
26. Korol A, D'Arrigo M, Foresto P, Pérez S, Martín M, Rosso O. Preliminary characterization of erythrocytes deformability on the entropy-complexity plane. *Open Med Inform J.* 2010;4:164-70.
27. Korol A, Valverde J, Rasia RJ. Viscoelasticity: Fractal parameters studied on mammalian erythrocytes under shear stress. *Exp Mech.* 2002;42(2):172-7.
28. Korol A, Rasia R. Correlated random walk: a fractal approach to erythrocyte viscoelastic properties *Clin Hemorheol Microcirc.* 1999;20(2):97-103.
29. Gonzalez J, Korol A. Mathematical Model for PCR: determination of kinetic parameters. *Biocell.* 2002;26(2):112.
30. Riquelme B, Pérez S, Rosso O, Valverde J. Phase Space correlation on the analysis of the erythrocytes viscoelasticity. *Biocell.* 2005;29(1):115.
31. Korol AM, Foresto P, Rosso OA. Diabetic erythrocytes test by correlation coefficient. *Open Med Inform J.* 2008;2:105-11.
32. Lehmann F, Tiralongo E, Tiralongo J. Sialic acid-specific lectins: occurrence, specificity and function. *Cell Mol Life Sci.* 2006;63(12):1331-54.
33. Martínez Y. Carbohidratos y salud humana. *Inventio.* 2000;49-51 [citado 2 Ene 2013]. Disponible en: http://www.dialnet.unirioja.es/servlet/fichero_articulo?codigo=25409090
34. Bardenwerper HE. *Ascaris lumbricoides* infestation with extreme anemia. *J Am Med Assoc.* 1928;91(14):1037.
35. García-Leiva J, Barreto-Zuñiga R, Estradas J, Torre A. *Ascaris lumbricoides* and Iron Deficiency Anemia. *Am J Gastroenterol.* 2008;103:1051-2.
36. Amuga GA, Onwuliri COE, Oniye SJ. Relative contribution of hookworm and *Ascaris lumbricoides* to iron deficiency anemia among school pupils in Nasarawa area, Nigeria. *JONAS.* 2006;2(3):205-9.

Recibido: 27 de diciembre de 2012.

Aprobado: 7 de mayo de 2013.

Patricia Ponce de León. Área Parasitología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario, Argentina. Suipacha 531-2000. Rosario, Argentina. Teléf.: 0341-4804592/ 93/ 98 Interno 219. Correo electrónico: tefu1958@hotmail.com
