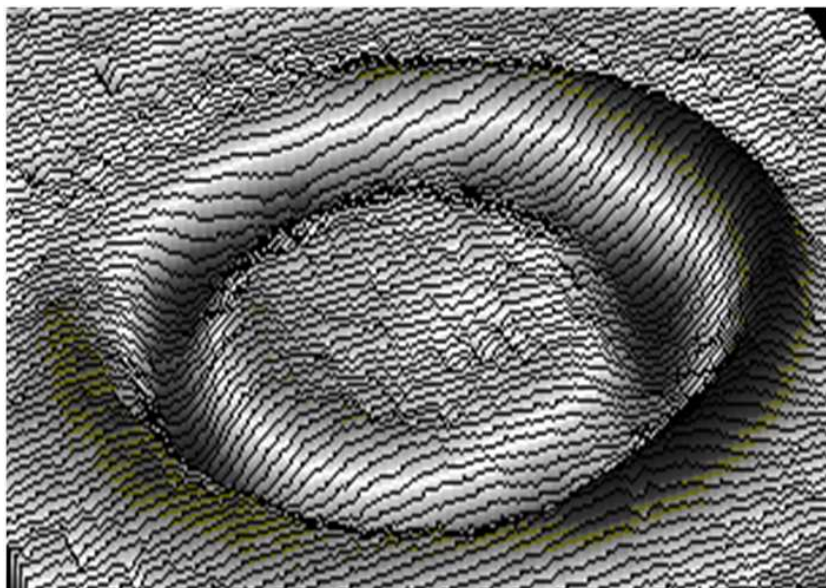


UNIVERSITATEA BABEȘ BOLYAI, CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE FIZICĂ
CATEDRA DE FIZICĂ BIOMEDICALĂ

Rezumatul tezei de doctorat
Analiza fluctuațiilor celulare

Doctorand: **Luiza Buimagă-Iarinca**

Conducător Științific: **CS I Dr. Vasile V. Morariu**



Cuvinte cheie

- Analiza fluctuațiilor detrendate, Serie temporală de date, Modelare autoregresivă, Spectru de putere, Trend, Factor de interacțiune, Exponent spectral de corelare;
- Eritrocit, Membrană eritrocitară, Fluctuații membranare, Flickering eritrocitar, Mediu de suspensie.

Mulțumesc

Aș dori să mulțumesc în mod deosebit d-lui Prof. Dr. Vasile V. Morariu pentru grija și răbdarea cu care a supervizat acest studiu, precum și pentru colaborarea științifică pe care am avut-o cu dânsul în ultimii ani.

Mulțumesc d-lui Dr. Calin Vamoș și colaboratorilor dânsului, de la Institutul de Calcul *Tiberiu Popoviciu* al Academiei Române și d-lui Dr. Alexandru Pop, de la Institutul Astromomic din Cluj-Napoca al Academiei Române pentru colaborarea în cadrul unor proiecte de cercetare precum și a unor studii care fac parte din prezenta lucrare. Stabilirea metodologiei în cazul modelului autoregresiv, codurile informatice utilizate în modelarea matematică dar și o parte din lucrările științifice publicate sunt rezultatul acestei colaborări.

Mulțumesc conducerii Institutului Național de Cercetare Dezvoltare pentru Tehnologii Izotopice și Moleculare din Cluj Napoca, unde imi desfășor activitatea, pentru bunavoință și pentru că au suportat integral taxele de scolarizare pentru Scoala Doctorală. De asemenea, mulțumesc colegilor din cadrul Departamentului de Fizică Moleculară și Biomoleculară pentru că au fost lângă mine cu un sfat pertinent atunci când a fost nevoie.

Nu în ultimul rând mulțumesc familiei pentru dragostea și răbdarea cu care m-au înconjurat pe toată durata realizării acestui studiu.

Activitatea de cercetare

Articole publicate în reviste indexate ISI

1. Vasile V. Morariu, **Luiza Buimaga-Iarinca**, Calin Vamos, Stefan M. Soltuz, Detrended Fluctuation Analysis of autoregressive processes, *Fluctuations and Noise Letters* 7(3), L249-L255 (2007).

2. **Luiza Buimaga-Iarinca**, V Morariu, Short range correlation of the erythrocyte membrane fluctuations, Journal of Physics: Conference Series 182 (2009) 012005 doi:10.1088/1742-6596/182/1/012005.
3. Vasile Morariu, Calin Vamos, Alexandru Pop, Stefan Soltuz, **Luiza Buimaga-Iarinca**, Autoregressive modeling of the variability of an active galaxy, Romanian Journal of Physics, 55 (7-8) 2010.
4. Vasile Morariu, **Luiza Buimaga-Iarinca**, Autoregressive modelilg of coding sequence lengths in bacterial genome, Fluctuation and Noise Letters, 9(1), L47-L59 (2010).
5. Vasile Morariu, Calin Vamos, Alexandru Pop, Stefan Soltuz, **Luiza Buimaga-Iarinca**, Oana Zainea, Autoregressive modeling of biological phenomena, Biophysical Review and Letters, 5(3), 109-128, 2010.

Articole publicate în reviste indexate BDI

1. V. V. Morariu, C. Craciun, Silvia Neamtu, **Luiza Iarinca**, and C. Mihali A fractal and long-range correlation analysis of plant nucleus ultrastructure, Rom. J. Biophys. 16(4), 243-252 (2006).
2. **Luiza Buimaga-Iarinca**, Autoregressive analysis of the erythrocyte flickering, Rom. J. Biophys 18(1), 67-72 (2008).
3. **Luiza Buimaga-Iarinca**, V.V. Morariu, Phosphate Buffered Saline-induced changes in red blood cells membrane fluctuations, Studia UBB, Physica, LIII(2)(2008).
4. **Luiza Buimaga-Iarinca**, Silvia Neamtu, Mihaela Mic, Ioan Turcu, Comparative analysis of Bacillus subtilis and Escherichia coli sakai genomes. The high order autoregressive method, Rom. J. Biophys., 20(3), 203-211 (2010).

Cuprins

1 Introducere	5
---------------	---

I Metode și modele matematice utilizate în investigarea fluctuațiilor	5
---	---

2	Analiza spectrului de putere - Transformata Fourier Rapidă	5
3	Analiza fluctuațiilor detrendate	6
3.1	Ce este DFA?	6
3.2	Legătura între exponentul spectral de corelare și coeficientul de scalare . . .	6
3.3	Efectele zgomotelor și trendurilor asupra DFA	7
4	Modele autoregresive	7
4.1	Procesul AR1	7
4.2	Procesul AR_p	7
4.3	Caracteristica spectrală a modelului AR . Lungime infinită și lungime finită .	7
4.4	Efectele zgomotelor și trendurilor asupra AR	10
5	Relația dintre DFA și AR	11
5.1	Relația dintre DFA și AR_1	11
5.2	Relația dintre DFA și AR de ordin superior	12
 II Validarea modelelor AR și a procedurilor de calcul pentru serii aparținând unor fenomene reale		13
6	Analiza seriei de date a curbelor luminoase de raze X ale galaxiei active NGC5506	14
6.1	Seria de date	14
6.2	Procedura de fitare cu AR_1 pentru emisiile de raze X ale galaxiei NGC5506 .	15
6.3	Discuții	16
7	Analiza autoregresivă a unor genomuri bacteriene	16
7.1	Genomul bacterian	16
7.2	Strategia de analiză	17
7.3	Analiza autoregresivă a corelării lungimilor CDS din genomul bacterian . . .	17
7.4	Semnificația biologică a modelului autoregresiv	17
 III Fluctuațiile membranei eritrocitare		18
8	Biofizica și biochimia dinamicii membranei eritrocitare	18

8.1	Eritrocitul uman	18
8.2	Flickering-ul eritrocitar	19
9	Investigarea fluctuațiilor membranare	20
9.1	Montajul experimental	21
9.2	Procedura de delimitare a marginilor eritrocitelor	21
9.3	Prepararea probelor biologice	21
9.3.1	Medii de suspensie	21
9.3.2	Substanțe chimice investigate	22
9.3.3	Tipuri de experimente	22
9.4	Înregistrarea imaginilor	24
9.5	Modelarea matematică	24
10	Rezultate și discuții	25
10.1	Celule normale suspendate în plasmă și PBS	25
10.2	Efectul substanțelor chimice asupra fluctuațiilor membranare	27
10.3	Efectul îmbătrânirii <i>in vitro</i>	29
11	Concluzii generale	31
	Index	38

1 Introducere

Prezentul studiu a fost conceput pe două planuri. Din punct de vedere matematic am propus un model autoregresiv simplu și robust care returnează valori similare unui model matematic complex. Procedura noastră de calcul, mai simplă, conduce la rezultate similare cu acelea obținute în urma unor calcule mult mai elaborate. Parametrul φ s-a dovedit a fi principalul indicator cantitativ al corelațiilor existente în seriile de date abordate, astfel că poate fi exploatat în investigarea proceselor fluctuante din cele mai diferite domenii. Modelul a fost validat prin aplicarea comparativă asupra unor date existente în literatură, apoi prin utilizarea sa în investigarea corelării existente în genom la nivel de secvențe coding. Din punct de vedere biofizic, prin aplicarea simultană a metodelor și modelelor matematice în discuție am pus în evidență diferențele de fluctuație ale membranelor eritrocitelor suspendate în diferite medii.

Lucrarea este structurată în trei părți. Prima parte oferă o privire de ansamblu asupra metodelor și modelelor matematice utilizate. Este necesară o înțelegere prealabilă a câtorva metode matematice cu care putem investiga corelarea din seriile temporale formate din valorile succesive pentru diametrele mari ale celulelor roșii într-un anumit interval de timp. Partea a doua a lucrării este axată pe validarea modelelor matematice utilizate prin analiza unor cazuri reale concrete. Partea a treia prezintă o analiză detaliată a modului în care fluctuează membrana eritrocitară.

Partea I

Metode și modele matematice utilizate în investigarea fluctuațiilor

2 Analiza spectrului de putere - Transformata Fourier Rapidă

Primul pas în evaluarea unei legi de putere constă din calcularea spectrului de putere. Aceste calcule au la baza FFT (Fast Fourier Transform). FFT este o metodă de calcul eficientă în investigarea Transformatei Fourier Discrete (DFT) și a inversei acesteia pentru serii de

date secvențiale. În principiu, FFT descompune o secvență de valori în componente cu frecvențe diferite. Exponentul spectral de corelare descrie însă numai serii staționare. O serie temporală poate fi considerată staționară dacă valoarea medie, deviația standard și funcția de corelare sunt invariante în timp. Seriile de date aparținând fenomenelor reale, însă, prezintă zgomote și trenduri care apar fie datorită modului de achiziție a datelor, fie fluctuației în timp a unuia sau mai multor parametri ai sistemului de investigat. Acestea pot aduce corelări suplimentare, false, astfel că este necesară aplicarea unei metode matematice care să le elimine.

3 Analiza fluctuațiilor detrendate

3.1 Ce este DFA?

Metoda de analiză cea mai folosită pentru investigarea seriilor reale, care în general conțin zgomote și trenduri, este Analiza Fluctuațiilor Detrendate, DFA - *Detrended Fluctuation Analysis* [7]. Este o metodă de analiză de scalare, din care rezultă parametrul α , *exponentul de scalare*. Acesta descrie proprietățile de corelare ale seriei de date. Avantajul DFA asupra altor metode de calcul este că permite detecția corelării de distanță lungă dintr-o serie de date aparent zgomotoasă și evitarea detecției eronate a unor corelări de distanța lungă aparente, care sunt un artifact al nestationarității. Mai mult, DFA permite identificarea diferitelor stări ale aceluiași sistem în funcție de comportamentul la scalare al acestuia [8]. De reținut faptul că algoritmul DFA lucrează mai bine cu anumite tipuri de nestationarități, în special pentru seriile cu trenduri fără variații bruște. Oricum, există cazuri în care această metodă nu poate extrage în întregime trendurile aparținând fenomenelor reale [9].

3.2 Legătura între exponentul spectral de corelare și coeficientul de scalare

Între α , exponentul de scalare, calculat prin DFA și β , exponentul spectral de corelare, calculat prin FFT din serii nedetrendate există relația $\beta = 2\alpha - 1$ [12]. Această relație este valabilă numai pentru serii staționare.

3.3 Efectele zgomotelor și trendurilor asupra DFA

Infuența trendurilor de diferite naturi [17] arată că singurul caz în care DFA se dovedește a fi ineficientă este cel în care în serie apar salturi bruște (peack-uri pronunțate).

Considerăm că metoda DFA poate fi folosită în cazul seriilor nestaționare ca simplu instrument de investigare a tipului de corelare existent în serie. Informații complexe privind legile de putere care guvernează fenomenul investigat pot fi obținute prin aplicarea altor metode de analiză.

4 Modele autoregresive

4.1 Procesul AR1

Un proces AR1 este dat de:

$$X_t = c + \varphi X_{t-1} + v_t \quad (1)$$

unde v_t este un proces zgomot alb cu media zero și varianța σ^2 , X_t sunt termenii seriei iar c este o constantă [19]. Procesul este staționar dacă $|\varphi| < 1$. Dacă $|\varphi| = 1$ atunci X_t prezintă o rădăcină unitate și poate fi considerat random walk sau proces aleator.

4.2 Procesul AR_p

În acest caz, ecuația caracteristică are forma:

$$X_t = \sum_{i=1}^p \varphi_i X_{t-i} + v_t. \quad (2)$$

La bază are parametrii φ_i unde $i = 1, \dots, p$ (factori de interacțiune). Procesul este staționar dacă suma tuturor $|\varphi| < 1$.

4.3 Caracteristica spectrală a modelului AR . Lungime infinită și lungime finită

Un proces stochastic discret $X_n, n = 0, 1, 2, \dots$ se numește proces autoregresiv de ordin p [22], notat $AR(p)$, dacă X_n este staționar pentru orice n :

$$X_n - \varphi_1 X_{n-1} - \dots - \varphi_p X_{n-p} = Z_n \quad (3)$$

unde Z_n este zgomot alb gaussian cu media zero și variația σ^2 . X_t sunt termenii seriei iar c este o constantă.

Parametrul real φ_i , $i = 1, \dots, p$ poate fi interpretat ca o măsură a influenței unui termen din procesul stochastic asupra vecinului său de ordin i . Proprietățile proceselor $AR(p)$ au fost studiate în detaliu în [22].

Ecuția 3 are soluție singulară dacă polinomul $\Phi(z) = 1 - \varphi_1 z - \dots - \varphi_p z^p$ nu are rădăcini z cu $|z| = 1$ [23].

Dacă, în plus, $\Phi(z) \neq 1$ pentru toți $|z| < 1$, atunci procesul este cauzal, *i.e.* variabilele aleatoare X_n pot fi exprimate numai în funcție de valorile zgomotului în momentele anterioare. Studiul este detaliat de Vamoș și colaboratorii săi în [27].

Prin definiție, densitatea spectrală a unui proces $AR(p)$ este:

$$f(v) = \frac{\sigma^2}{2\pi} \frac{1}{|\Phi(e^{-2\pi i v})|^2}, -0.5 < v < 0.5 \quad (4)$$

unde v este frecvența. Pentru un proces $AR1$, densitatea spectrală în ecuația 4 devine:

$$f(v) = \frac{\sigma^2}{2\pi} \frac{1}{1 + \varphi^2 - 2\varphi \cos 2\pi v}, -0.5 < v < 0.5 \quad (5)$$

unde φ este unicul factor de interacțiune în acest caz. Formula menționată mai sus este corectă pentru procese stocastice reale, de lungime finită.

Seriile de timp existente în practică au o lungime finită și pot fi considerate segmente dintr-un proces stochastic de lungime infinită. Astfel, putem înlocui termenii din ecuațiile 4 și 5 astfel încât să fie analizat un eșantion de lungime finită $X_n, n = 1, 2, \dots, N$, extras dintr-o serie de lungime infinită $X_n, n = 0, \pm 1, \pm 2, \dots$

O analiză detaliată a spectrului de putere a unui proces $AR1$ și influența lungimii finite este făcută în [24], [25], [26].

Estimatorul densității spectrale pentru serie este periodograma:

$$I_N(v) = |A_N(v)|^2 \quad (6)$$

unde $A_N(v)$ este transformata Fourier discretă a seriei:

$$A_N(v) = \frac{1}{\sqrt{N}} \sum_{n=1}^N X_n e^{2\pi i n v} \quad (7)$$

Din moment ce seria este finită, atunci vom avea numai N valori independente pentru $A_N(v)$ și $I_N(v)$. În general aceste valori sunt calculate pentru frecvențele Fourier $v_j = j/N$, unde j este un întreg care satisface condiția $-0.5 < v_j < 0.5$.

Periodograma unui proces $AR(p)$ este un estimator al densității spectrale, astfel:

$$\lim_{N \rightarrow \infty} \langle I_N(v_j) \rangle = 2\pi f(v) \quad (8)$$

unde $(v_j - 0.5N) < v \leq (v_j + 0.5N)$. Astfel, cu cât crește lungimea seriei, N , câtă vreme distanța este păstrată constantă, periodograma mediată devine o aproximare mai bună a densității spectrale. În orice caz, o singură periodogramă nu este un estimator constant deoarece nu converge în probabilitate cu densitatea spectrală, *i.e.* deviația standard $I_N(v_j)$ nu tinde spre zero iar două valori distincte ale periodogramei nu sunt corelate, indiferent cât de apropiate sunt valorile calculate pentru frecvență. În general densitatea spectrală și periodograma sunt reprezentate în coordonate dublu-logaritmice. Coordonatele logaritmice distorsionează puternic forma graficului iar vecinătatea originii este transformată într-un interval infinit și valoarea lui $f(0)$ nu poate fi reprezentată grafic. Pentru o serie cu n termeni prima valoare a densității spectrale este obținută pentru frecvența minimă $v_{min} = 1/N$. Figura 1 prezintă densitatea spectrală pentru $N = 1024$ și $\sigma = 1$, cu valori diferite ale lui φ . Pentru $\varphi = 0.90$ și mai ales pentru $\varphi = 0.99$ o mare parte a spectrului de putere este aproape liniară, cu o pantă egală cu -2, care corespunde lui $\beta = 2$.

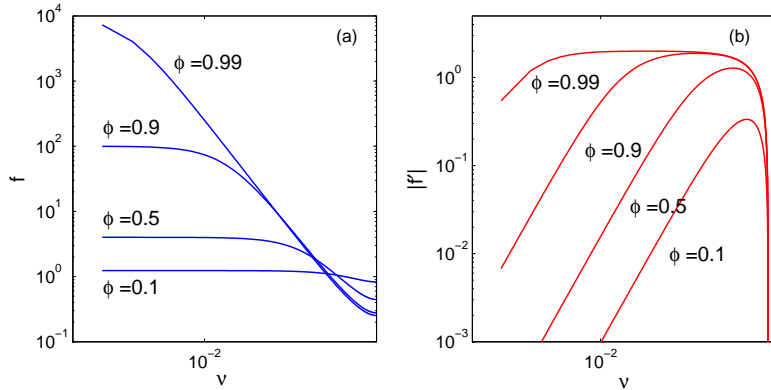


Figura 1: Densitatea spectrală și valoarea absolută a derivatei sale pentru un proces $AR1$ cu $N = 1024$, $\sigma = 1$ și valori diferite ale factorului de interacțiune φ .

Pentru a verifica comportamentul spectrului $AR1$, figura 1 prezintă derivata densității spectrale în coordonate dublu-logaritmice:

$$f^l(v) = -v \frac{d}{dv} \ln(f(v)) \quad (9)$$

Se poate observa că pentru $\varphi = 0.9$ există o regiune unde $f^l \cong 2$. Există o singură valoare maximă f^l pentru $\varphi < 0.9$ care corespunde zonei centrale (fractale) a spectrului de putere. Pentru frecvențe mici, densitatea spectrală a unui proces $AR1$ este puternic aplatizată în coordonate dublu-logaritmice astfel că apare un platou (vezi imaginea 1) cu valoarea:

$$f(0) = \frac{\sigma^2}{2\pi(1 - \varphi)^2} \quad (10)$$

Din ecuația 7 rezultă că platoul corespunde regiunilor cu valori mici ale v unde termenul variabil de la numitor poate fi neglijat în comparație cu termenul constant. Utilizând aproximația pătratică a funcției cosinus, condiția ca reprezentarea grafică a spectrului de putere pentru *AR1* să aibă un platou este $v < (1 - \varphi)/2\pi\sqrt{\varphi}$. Dacă φ tinde la 1, platoul apare la valori mai mici ale frecvenței. Pe de altă parte, dacă N este suficient de mare, periodograma unei serii *AR1* are platou la valori mici ale frecvenței (dacă N este suficient de mare, atunci $v_{min} \rightarrow 0$).

Considerăm o serie de timp $x_n, n = 1, 2, \dots, N$ obținută cu procesul autoregresiv *AR1*, cu $X_n, n = 1, 2, \dots, N$. Dacă aplicăm transformata Fourier discretă pe seria de timp x_n și calculăm periodograma, atunci obținem valori distribuite aleator în jurul densității spectrale pentru procesul *AR1*. Periodograma nu este un estimator consistent, astfel că fluctuațiile periodogramei în jurul valorii teoretice a densității spectrale nu sunt reduse prin creșterea lungimii N a seriei. O estimare consistentă a densității spectrale poate fi obținută prin medierea periodogramei pe intervale cu lungimea ordinului de mărime a lui \sqrt{N} . Alegerea mărimii optime a funcției de mediere e destul de dificilă deoarece, dacă periodograma este mediată prea mult, atunci deviația de la spectrul teoretic poate să fie mare. Pot fi utilizate diferite funcții de mediere dar cea mai simplă este medierea cu intervale simetrice de dimensiuni egale conținând M frecvențe Fourier cu $M = 1, 3, 5, \dots, 21$. Atunci periodograma mediată conține $N - M + 1$ valori deoarece pentru prima și ultima valoare $(M - 1)/2$ a periodogramei medierea simetrică nu se poate realiza.

4.4 Efectele zgomotelor și trendurilor asupra *AR*

Am efectuat un studiu în care am generat serii de numere cu $\varphi \in [0.3, \dots, 0.9]$ și dispersia $\sigma = 0.5$. Acestea au fost generate cu un soft dezvoltat de noi în MATLAB R2008a [28]. Am adăugat zgomot alb generat în OriginPro8, cu intensități ce variază între 10^{-2} și 10^2 . În plus, am adăugat două trenduri, unul polinomial $p = 2x^2 + 3x + 4$ și unul sinusoidal, atât peste seriile care conțineau zgomote cât și peste seriile inițiale.

Am remarcat că zgomotele și trendurile pot să ascundă seria reală iar algoritmul autoregresiv va returna valori eronate. Drept urmare, la analiza unor serii de date aparținând fenomenelor reale, primul lucru pe care îl recomandăm este îndepărtarea trendului. Seriile rezultante, libere de zgomote și trenduri, sunt cele care pot fi subiectul analizei autoregresive.

5 Relația dintre DFA și AR

5.1 Relația dintre DFA și $AR1$

Se pune problema identificării tipului de corelare dintr-o serie și a legăturii dintre modelele în discuție.

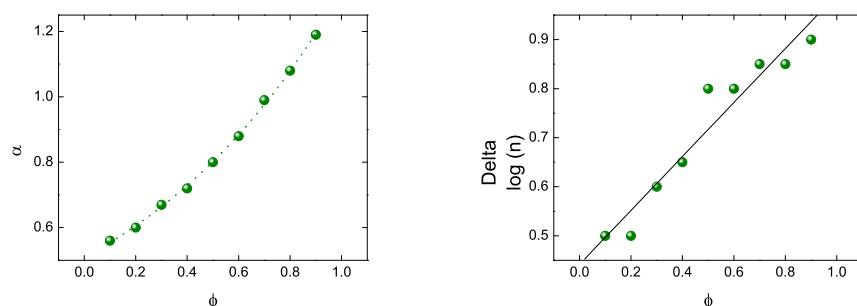


Figura 2: (a) Dependența factorului de interacțiune de exponentul de scalare pentru primul segment de corelare. Se observă că forma acesteia este exponențială; (b) Dependența factorului de interacțiune de lungimea primului segment de corelare. Forma acestei dependențe este liniară.

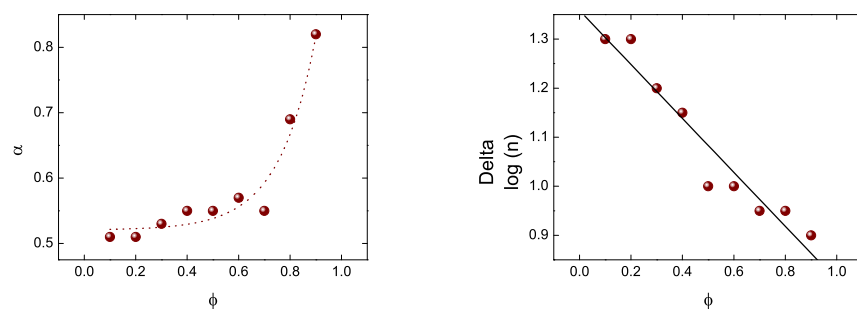


Figura 3: (a) Dependența factorului de interacțiune de exponentul de scalare pentru al doilea segment de corelare. Remarcăm că este de asemenea exponențială; (b) Dependența factorului de interacțiune de lungimea celui de-al doilea segment de corelare. Și în acest caz este liniară cu panta inversă față de panta primului segment de corelare.

În vederea analizei, am generat serii de 1000 date cu un factor de interacțiune cunoscut [11]. Pentru toate seriile generate, dispersia a avut valoarea $\sigma = 1$. Seriile generate în Matlab, deși au aceleași caracteristici de interacțiune între termeni, pot arăta diferit. Analiza

fluctuațiilor detrendate a acestor serii prezintă forme diferite la reprezentarea în coordonate dublu-logaritmice. Din acest motiv am lucrat cu media aritmetica a acestora.

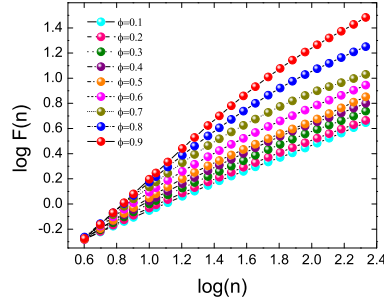


Figura 4: Analiza fluctuațiilor detrendate pentru serii generate cu AR1 cu $\varphi \in [0.1, \dots, 0.9]$.

Fiecare dintre reprezentările *DFA* în coordonate dublu-logaritmice pentru mediile aritmetice a câte 10 serii cu caracteristici autoregresive ($\varphi \in [1, \dots, 9]$) este neliniară (vezi imaginea 4). Se observă, de asemenea, că panta graficului (exponentul de corelare) descrește o dată cu φ .

Pentru fiecare $\varphi \in [1, \dots, 9]$ reprezentarea *DFA* prezintă câte două segmente de corelare. Primul segment corespunde corelării între termenii apropiați, iar cel de-al doilea aparține corelării la distanță. De asemenea, lungimile acestor segmente variază pentru fiecare caz. În figura 2 se observă dependența exponențială a factorului de interacțiune de exponentul de scalare pentru primul segment de corelare. Lungimea segmentului de corelare depinde liniar de valoarea factorului de interacțiune (vezi imaginea 2). Și în cazul corelării la distanță lungă există o dependență exponențială între factorul de interacțiune și exponentul de scalare (vezi figura 3). Dependența lungimii domeniului de corelare pentru acest al doilea segment de factorul de interacțiune este liniar descrescătoare.

5.2 Relația dintre *DFA* și *AR* de ordin superior

În cazul în care seriile sunt generate pe baza algoritmului unui *AR* de ordin superior, analiza devine mai complicată. Și în acest caz, datorită împrăștierii ce survine în reprezentarea în coordonate dublu-logaritmice pentru spectrul *DFA*, am fost nevoiți să generăm câte 10 serii pentru fiecare model și am lucrat cu media acestora.

În figura 5 am arătat cum variază forma reprezentării *DFA* pentru un *AR2* cu $\varphi_1 = 0.6$ și $\varphi_2 = 0.3$, comparativ cu *AR1* cu $\varphi = 0.6$. Se observă că atât α_1 cât și α_2 diferă

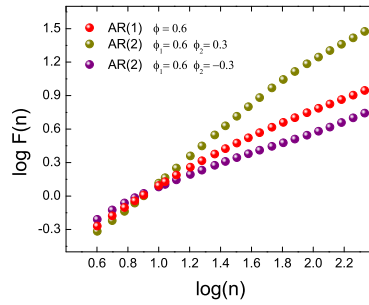


Figura 5: Compararea unui $AR1$ cu $\varphi = 0.6$ cu $AR2$ cu $\varphi_1 = 0.6$ și $\varphi_2 = 0.3$ respectiv cu $AR2$ cu $\varphi_1 = 0.6$ și $\varphi_2 = -0.3$.

puternic, atât între ele (ne referim la exponenții de scalare aparținând aceluiași $AR2$ cu doi parametri φ diferiți) cât și față de φ aparținând $AR1$. Corelarea la distanță lungă diferă mai puternic (vezi figura 6).

S-a încercat analiza modului de comportare a unui $AR(2)$ cu același $\varphi_1 > 0$ și $\varphi_2 > 0$ respectiv $\varphi_2 < 0$. În cazul în care $\varphi_2 > 0$ se observă o dependență liniară a valorii pantei pentru corelarea la distanță lungă (α_2) de creșterea valorilor factorului de interacțiune secundar. Pentru $\varphi_2 < 0$ însă, acest lucru nu se mai poate urmări. Modelele autoregresive de ordin superior au o corelare complexă, și nu pot fi descrise într-un mod simplu.

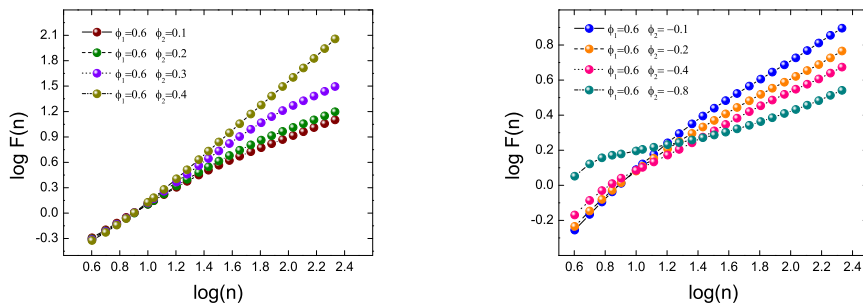


Figura 6: (a) DFA pentru $AR2$ cu $\varphi_1 = 0.6$ și $\varphi_2 > 0$.; (b) DFA pentru $AR2$ cu $\varphi_1 = 0.6$ și $\varphi_2 < 0$. Pentru $\varphi_2 > 0$ se observă o dependență liniară a valorii pantei pentru corelarea la distanță lungă (α_2) de creșterea valorilor factorului de interacțiune secundar. Pentru $\varphi_2 < 0$ legea procesului este mult mai complexă.

Partea II

Validarea modelelor AR și a procedurilor de calcul pentru serii aparținând unor fenomene reale

6 Analiza seriei de date a curbelor luminoase de raze X ale galaxiei active NGC5506

Pentru a testa metodologia prezentată anterior am investigat câteva fenomene reale, din care exemplificăm în cele ce urmează curbele luminoase de raze X ale galaxiei active NGC5506 (astrofizică) și organizarea succesiunii de secvențe de codare din genomul bacterian (genomică).

Analiza autoregresivă complexă a fost efectuată pentru curbele luminoase de raze X ale galaxiei active NGC5506 de către König și Timmer [39]. Am comparat rezultatele obținute prin această analiză cu metoda propusă de noi în vederea validării acesteia, folosind aceleași date. Acestea au fost extrase din arhiva *Herc Exosat ME* pentru galaxia Seyfert NGC5506.

6.1 Seria de date

Sucesiunea de operații poate fi sumarizată după cum urmează:

1. Se detrezează seria de date prin extragerea diferitelor fitări polinomiale;
2. Se efectuează transformata FFT a seriei;
3. Se mediază periodograma cu 1-21 termeni;
4. Se fitează spectrul cu un model $AR1$. Parametrii rezultați sunt factorul de interacțiune φ și dispersia σ . Valorile lor depind de gradul polinomului utilizat în procedura de detrendare.
5. Se aleg valorile pentru φ și σ din analiza graficelor pentru φ și σ funcție de numărul de termeni mediați și de gradul polinomului de detrendare.

6.2 Procedura de fitare cu $AR1$ pentru emisiile de raze X ale galaxiei NGC5506

În analiza noastră, primul lucru pe care l-am avut în vedere a fost îndepărtarea trendului deterministic care rezultă din examinarea formei semnalului. Acesta nu a fost extras de Timmer și König în analiza lor.

Se pot obține trei trenduri diferite la fitarea cu patru polinoame de grade diferite (vezi figura 7).

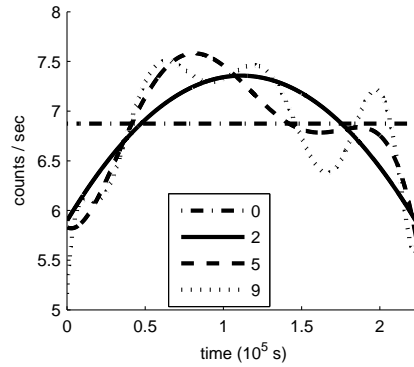


Figura 7: Seria de timp a emisiilor de raze X a galaxiei active NGC5506; Trendurile seriei temporale obținute cu patru fitări polinomiale diferite (0, 2, 5 și 9). Trendul se reduce la o constantă când $q = 0$. Pentru $q = 2$, trendul polinomial descrie forma globală a semnalului. Pentru $q = 5$, trendul polinomial descrie comportările diferite pentru prima și a doua parte a semnalului. Trendul polinomial poate urmări detaliile semnalului când $q = 9$.

Gradul acestor polinoame este gradul minim al unei clase de trenduri polinomiale, q , care au forme foarte apropiate. Forma trendului nu se schimbă însă monoton la creșterea gradului trendului polinomial. La o anumită valoare a gradului polinomului, trendul se modifică semnificativ, în vreme ce la gradele cu valori superioare forma trendului ramane practic neschimbată. Trendul este redus la o constantă egală cu media seriei temporale atunci când $q = 0$.

Procedura de mediere conduce la pierderea datelor la frecvențe mici (acestea formează un platou în modelarea autoregresivă). La frecvențe mai înalte decât frecvența de tăiere $\nu_0 = 0.02$ forma periodogramei se transformă în spectru de zgomot alb. Numai regiunea spectrului cu $\nu > \nu_0$ poate fi modelată cu un proces $AR1$. Valorile $\varphi=0.991$, $\sigma=0.757$ și $\varphi=0.985$, $\sigma=0.744$ sunt obținute din fitarea acelei regiuni a spectrului ce corespunde frecvențelor joase pentru procesul $AR1$ nemediat respectiv mediat și sunt foarte apropiate

de cele raportate de König și Timmer.

Și intervalul de mediere al periodogramei are o influență puternică asupra parametrilor modelului *AR1*. Aceasta dependența este prezentată ca funcție de M pentru diferite grade ale trendului polinomial. Pentru valori mici ale lui M , valorile parametrilor φ și σ sunt destul de diferite. Variabilitatea lor este redusă semnificativ pentru $M > 9$ unde procedura de mediere elimină o parte din fluctuațiile periodogramei. Acesta este motivul pentru care în acest studiu am folosit $M = 11$.

Un alt parametru care a fost analizat este frecvența de tăiere ν_0 . Notăm faptul că la frecvențe mai mici de 0.02 periodograma prezintă oscilații care pot fi cauzate de zgomotul alb cu frecvențe mai mari. Cum König și Timmer nu au îndepărtat trendurile deterministe din semnal, pentru compararea cu rezultatele lor vom folosi $q = 0$. Eroarea relativă este de 0.2 % pentru φ și de 5 % pentru σ și confirmă valabilitatea metodei de modelare spectrală autoregresivă propusă de noi.

6.3 Discuții

Am propus un model autoregresiv pentru descrierea emisiilor de raze X ale unei galaxii. Procedura noastră de calcul, mai simplă, conduce la rezultate similare cu acelea obținute în urma unor calcule mult mai elaborate. Parametrul φ s-a dovedit a fi sensibil, astfel că poate fi exploatat în investigarea diferitelor efecte ale sistemelor fluctuante.

7 Analiza autoregresivă a unor genomuri bacteriene

Cromozomul bacterian are o structură relativ simplă și constă dintr-o succesiune de secvențe coding (CDS) și noncoding. Fiecare secvență constă dintr-o serie specifică de baze. Secvențele coding reprezintă genele și domină conținutul total de baze din cromozomul bacterian.

Analiza fluctuațiilor detrendate asupra lungimilor *CDS* arată că genomul bacterian are o corelare de distanță scurtă [47].

7.1 Genomul bacterian

Am analizat următoarele tipuri de serii de date din genomul bacterian:

1. Seria integrală, constând din succesiunea naturală a secvențelor de codare din genom, $l(+/-)$;

2. Seria lungimilor secvențelor de codare pe firul *plus* din genom, $l(+)$, respectiv
3. Seria lungimilor secvențelor de codare pe firul *minus* din genom, $l(-)$.

Datele au fost extrase de pe site-ul *European Molecular Biology Laboratory (EMBL)*.

7.2 Strategia de analiză

Sucesiunea de operații efectuate în vederea analizei poate fi rezumată după cum urmează:

1. Detrendăm seria de date prin extragerea diferitelor trenduri polinomiale;
2. Aplicăm Transformata Fourier Discretă;
3. Mediem periodograma între $M=1$ și 21 termeni;
4. Fităm spectrul cu modelul *AR1*. Dacă datele pot fi descrise cu modelul *AR1* alegem valorile finale pentru φ și σ , prin analizarea reprezentărilor φ și σ vs gradul polinomului și a numărului de termeni mediați.
5. Această procedură este aplicată pentru $l(+/-)$, $l(+)$ și $l(-)$.

7.3 Analiza autoregresivă a corelării lungimilor CDS din genomul bacterian

În general, valorile parametrului modelului autoregresiv pot varia între $0 < \varphi < 1$. În cazul bacteriilor și archaea acesata variaza între 0.52 pentru *Bacillus subtilis* și aproape zero pentru câteva linii de *Haemophilus influenzae* și *Helicobacter pilori*. Aceasta înseamnă că tăria interacțiunii între termenii dați de lungimile secvențelor *CDS* variază într-un spectru larg, de la o valoare medie a interacțiunii la o interacțiune aproape nulă. Mai mult, această interacțiune este sensibilă la helixul *plus* sau *minus* și la diferențele dintre specii.

7.4 Semnificația biologică a modelului autoregresiv

Propunem ca explicație plauzibilă a validității modelului *AR* structura organizată în *operoni*¹ din cadrul genomului. Se știe că genele cu aceeași funcționalitate sunt organizate în operoni

¹Teorie elaborată în 1961, pornește de la premiza existenței mai multor tipuri de gene grupate într-un cluster numit operon.

[98]. Întrucât aceștia au lungimi comparabile, ne așteptăm ca și lungimile CDS să prezinte corelări locale.

Partea III

Fluctuațiile membranei eritrocitare

8 Biofizica și biochimia dinamicii membranei eritrocitare

Celulele au funcții specializate ce depind de rolul pe care îl îndeplinesc în organism [55]. Toate celulele, fie procariote sau eucariote, au o membrană care le învelește, le separă de mediul extern și mediază intrările și ieșirile de materie și energie.

Membrana celulară este un strat bilipidic cu permeabilitate selectivă. Poate conține o largă varietate de molecule biologice, în special proteine și lipide, care sunt implicate în multe procese biologice, cum ar fi adeziunea celulară, conductivitatea canalelor ionice sau emiterea semnalelor celulare. Modelul cel mai general de reprezentare a structurii membranei eritrocitare este modelul mozaicului fluid² [59].

8.1 Eritrocitul uman

Un eritrocit uman tipic are un diametru de $68 \mu\text{m}$ și o grosime de aproximativ $2 \mu\text{m}$, fiind mult mai subțire decât multe alte celule umane. Aceste celule au un volum de aproximativ 90 fL și o suprafață de aproximativ $136 \mu\text{m}^2$, putând să se transforme într-o sferă cu un volum de 150 fL fără extensia membranei.

Unei celule roșii îi ia aproximativ 20 secunde pentru un ciclu complet de circulație [63], [64], [66]. Aceste celule sunt anucleate, astfel că biosinteza proteinelor nu se produce pentru eritrocite. Există totuși un studiu recent care indică prezența întregului aparat biochimic necesar pentru biosinteza proteinelor și la nivelul celulelor roșii [65].

Eritrocitele umane sunt produse printr-un proces numit *eritropoeză* și devin în 7 zile celule mature din celule stem. Când ajung la maturitate rămân în ciclul sangvin pe o

²Propus de către S. J. Singer și Garth Nicolson, presupune că membranele biologice pot fi considerate un fluid bidimensional în care toate moleculele de lipide și proteine se pot mișca mai mult sau mai puțin liber.

perioada de 100-120 zile. La sfârșitul perioadei de viață celulară se transformă în sferocite și sunt îndepărtate din circulație de către splină, care acționează ca un filtru mecanic.

8.2 Flickering-ul eritrocitar

Fluctuații spontane la nivelul eritrocitelor au fost observate încă de la sfârșitul secolului trecut [70]. Acestea pot fi observate prin examinare la microscopul optic cu un obiectiv de calitate. Fenomenul se datorează ondulațiilor de suprafață ale celulei (ondulațiilor membranei celulare), fiind denumit *flickering eritrocitar*. Fenomenul de flickering eritrocitar presupune deplasări la nivel de membrană, cu o frecvență între 0.3 și 30 Hz.

Ipotezele privind modul de fluctuație sunt foarte variate. Zeman [71], analizând datele prin funcția de autocorelare, ajunge la concluzia ca eritrocitul necesita ATP pentru a asigura un regim de deformare liberă. Și Tuvia [72], în 1992, arată ca producerea de MgATP este direct legată de amplitudinea fluctuațiilor celulare. În plus, el arată că și ciclul de oxigenare-deoxigenare celulară are un rol important în modularea fluctuațiilor membranare, deoxigenarea implicând reducerea amplitudinii de fluctuație [73].

Metodologia de investigare a fost dezvoltată ulterior prin monitorizarea fluctuațiilor marginii celulei [74] prin *spectroscopia de flickering* care oferă posibilitatea unei determinări foarte precise a proprietăților elastice ale membranei celulare. S-a arătat că variația vâscozității mediului induce modificarea caracteristicilor de fluctuație. Pe măsură ce cresc concentrațiile de macromolecule (dextran 70, dextran 500, dextran 2000, celuloză, etc) din soluție, amplitudinea fluctuațiilor scade. Metoda de achiziție de date folosită este Point Dark Field Microscopy, și presupune înregistrarea variației cantității de lumină care străbate membrana. Celula este însă fixată pe substrat, ceea ce înseamnă că membrana nu fluctuează liber.

Fluctuațiile membranare depind de vâscozitatea mediului de suspensie a celulei [75]. Pe de alta parte, un rol fundamental în stimularea fluctuațiilor îl are ATP-aza legată de actina F, componentă a citoscheletului [76]. Ca urmare fluctuațiile membranei sunt implicit legate atât de vâscozitatea mediului de suspensie cât și de fluctuațiile citoscheletului.

În ceea ce privește domeniul spectral, se consideră că fenomenul de flickering apare în limitele 0,3-30 Hz [77]. Gaczinska și colab semnalează existența unor oscilații foarte lente având perioade mai mari de 1,5 ore [78]. Aceste domenii de frecvență, numite ritmuri lungi ultradiene au fost identificate până la un interval de 13-18 ore [79]. Spre deosebire de studiile precedente, analiza datelor în cauză nu a reușit să pună în evidență oscilații propriu-zise, ci doar zgomot de tip 1/f.

Dezvoltarea accelerată a microscopiei din ultimii ani a condus la investigarea tot mai complexă a fluctuațiilor celulare. Prin imagistica de interferență s-au pus în evidență și alte fenomene care influențează fluctuațiile membranare, cum ar fi reorganizarea citoscheletului eritocitar și inhomogenitățile în distribuția hemoglobinei.

S-a constatat că variațiile de frecvență joasă ale membranei eritocitare (0.1-0.6 Hz) se datorează interacțiunii membrană - plasmă, în timp ce fluctuațiile cu frecvențe mai ridicate (20-26 Hz) sunt corelate cu deplasările veziculelor membranare [80].

Ulterior, au fost puse la punct diferite tehnici de investigare optică a fluctuațiilor membranare: FPM (Fourier Phase Microscopy) [81], HPM (Hilbert Phase Microscopy) [82], DPM (Diffraction Phase Microscopy) [83] and FFTM (Fast Fourier Phase Microscopy) [84].

Un progres semnificativ în modelarea fenomenului de flickering și corelarea proprietăților mecanice ale celulei cu proprietățile statistice ale fluctuațiilor membranare a fost făcut prin dezvoltarea AFM (Atomic Force Microscopy) care a condus la posibilitatea investigării fluctuațiilor pentru celule care nu mai sunt fixate pe substrat. Prin aceste studii a fost pusă în evidență existența unor subdomenii dinamice independente în celulă, care fluctuează la domenii de frecvență diferite [85]. Aceste tehnici de interferometrie optică foarte precise (nanoscară și milisecunde) au condus, de asemenea, la identificarea corelărilor între proprietățile membranare la nivel spațial și temporal cu proprietățile vâscoelastice ale membranei celulare [85].

9 Investigarea fluctuațiilor membranare

S-a urmărit fluctuația membranei eritocitare prin analiza celor doi parametri, exponentul spectral de corelare (α) [95], calculat prin analiza fluctuațiilor detrendate și factorul de interacțiune (φ) [94], obținut prin analiză spectrală și modelarea cu modelul autoregresiv. O altă caracterizare a fluctuațiilor membranei celulare în medii diferite s-a făcut prin analiza amplitudinii de fluctuație.

Analiza fluctuațiilor membranei celulare a fost efectuată pentru:

- celule sănătoase aflate în mediul lor natural de suspensie (plasma sangvină) precum și într-un mediu artificial, PBS (Phosphat buffered saline) ³;

³PBS se folosește în mod curent în cazul investigării în laborator a diferitelor proprietăți ale celulelor. Utilizându-se acest mediu de suspensie se evită variabilitatea experimentală ce poate fi indusă de utilizarea plasmei sangvine. Anticipând rezultatele, prin acest studiu am demonstrat că, în ce privește caracteristicile de fluctuație membranară, PBS-ul nu este un mediu optim.

- celule sănătoase suspendate în cele două medii în care au fost adăugate medicamente (factori chimici);
- celule îmbătrânite *in vitro*.

9.1 Montajul experimental

Instalația este alcătuită din următoarele componente principale:

- Microscop optic de cercetare.
- Celulă de numărare.
- Cameră CCD.
- Calculator

Microscopul utilizat este un microscop inversat, de tip Optika XDS-2 iar camera CCD este Opticam PRO3.

9.2 Procedura de delimitare a marginilor eritrocitelor

Programul informatic utilizat pentru delimitarea marginilor celulei de mediul de suspensie este Image J [89], [90] cu plug-ins-ul Shape descriptor [91]. Acesta are la bază algoritmul propus de Russ [92]. Calculul suprafeței particulei se realizează prin numărarea efectivă a pixelilor din imagine.

9.3 Prepararea probelor biologice

9.3.1 Medii de suspensie

Fluctuațiile membranei eritrocitare au fost urmărite pe suspensii eritrocitare, preparate din sânge uman recoltat pe anticoagulant (citrat de sodiu 3,8) provenit de la donatori sănătoși. Sângele integral a fost centrifugat 8 min la 3000 rot/min și s-au separat celulele de plasmă.

Celulele albe și plachetele au fost îndepărtate. Sedimentul eritrocitar rămas a fost ultracentrifugat 3 min la 4500 rot/min pentru a obține un concentrat eritrocitar de 99,9%.

Plasma a fost de asemenea ultracentrifugată 5 min la 7000 rot/min pentru a obține o plasmă cât mai curată.

Din acest sediment eritrocitar au fost preparate suspensii celulare prin resuspendarea eritrocitelor în plasmă, la diluții suficient de mari pentru a evita agregarea celulară.

Mediul de suspensie alternativ a fost o soluție de tampon fosfat (PBS) conținând 20 ml de tampon fosfat la 100 mM, NaCl (0.76 g), BSA (100mg) și glucoză (0.18 g) pentru 100 ml soluție⁴.

9.3.2 Substanțe chimice investigate

Epinefrina sau adrenalina, sub formă de soluție 1mg/ml. Este un hormon care joacă un rol central în reacțiile de stress pe termen scurt din organism. Reacțiile sale sunt mediate de receptorii adrenergici care se află pe suprafața mai multor tipuri de celule. Acțiunea acestui hormon este reversibilă și limitată, disparând cu totul în aproximativ o oră de la administrare.

Lidocaina sau xilina, tot sub formă de soluție, 100mg/10ml. Este un anestezic local de tip amino-amidă, cu durata efectului de aproximativ 1.5-2 ore pentru cei mai mulți pacienți. Acționează prin blocarea canalelor rapide de sodiu (Na^+) din membrana celulară.

9.3.3 Tipuri de experimente

În vederea analizei modului de fluctuație a membranei eritrocitare, am conceput un set de experimente pentru diferite medii de suspensie.

1. **Celule sănătoase resuspendate în plasmă:** sângele uman e recoltat pe anticoagulant (citrat de sodiu 3,8) și provine de la donatori sănătoși. Acesta a fost centrifugat 8 min la 3000 rot/min și s-a separat stratul de plasmă; celulele albe și plachetele au fost îndepărtate; sedimentul eritrocitar rămas a fost ultracentrifugat 3 min la 4500 rot/min; plasma a fost ultracentrifugată 5 min la 7000 rot/min; din acest sediment eritrocitar au fost preparate suspensii celulare prin resuspendarea eritrocitelor în plasmă, la diluții suficient de mari pentru a evita agregarea celulară.
2. **Celule sănătoase suspendate în PBS:** eritrocitele provenind de la donatori sănătoși au fost separate de plasmă prin centrifugare, 5 min la 4000 rot/min apoi spălate de 3

⁴1 litru de Phosphate-buffered saline (PBS buffer) poate fi preparat din 8 g de NaCl, 0.2 g de KCl, 1.44 g de Na_2HPO_4 și 0.24 g of KH_2PO_4 dizolvat în 800 ml de H_2O distilată. Am ajustat pH-ul la 7.4 cu HCl și am adăugat H_2O pâna la 1 litru.

ori cu soluție de tampon fosfat care a fost îndepărtat prin centrifugare 5 min la 4000 rot/min. Ultima centrifugare a durat 10 min; un număr redus de eritrocite au fost resuspendate în PBS.

3. **Celule resuspendate în plasmă cu substanțe chimice:** sângele integral a fost centrifugat 5 min la 4000 rot/min pentru a se separa plasma de sedimentul eritrocitar; celulele albe și plachetele au fost îndepărtate; plasma a fost ultracentrifugată timp de 5 min la 7000 rot/min; a fost calculată doza de medicamente pentru a obține un efect maxim pentru epinefrină și lidocaină (0.5 μ l epinefrină pentru 250 μ l plasmă și 5 μ l lidocaină pentru 250 μ l plasmă); eritrocitele introduse în mediul de suspensie au fost incubate timp de 20 min la o temperatură de 37 grade C.
4. **Celule resuspendate în PBS cu substanțe chimice:** eritrocitele provenind de la donatori sănătoși au fost separate de plasmă prin centrifugare, 5 min la 4000 rot/min apoi spălate de 3 ori cu soluție de tampon fosfat, îndepărtat prin centrifugare 5 min la 4000 rot/min. Eritrocitele spălate au fost resuspendate în PBS cu epinefrină (0.5 μ l epinefrină la 250 μ l PBS) și în PBS cu lidocaină (5 μ l lidocaină la 250 μ l PBS). Suspensia a fost incubată timp de 20 min la o temperatură de 37 grade C.
5. **Sânge îmbătrânit *in vitro*:** sângele a fost prelevat pe anticoagulant (citrat de sodiu) de la persoane presupus sănătoase. Pentru a evidenția efectele îmbătrânirii, experimentele au fost realizate în mai multe etape:
 - (a) Imediat după prelevare: eritrocitele au fost separate de plasmă prin centrifugare (5 min la 4000 rot/min); plasma a fost ultracentrifugată (5 min la 7000 rot/min); eritrocitele au fost resuspendate în plasmă, într-o diluție foarte mare, pentru a evita fenomenul de agregare.
 - (b) Sânge îmbătrânit 6 ore: prelucrarea sângelui s-a realizat la 6 ore de la recoltare, timp în care proba de sânge a fost păstrată la temperatura camerei (aprox 21 grade C); modul de prelucrare a probei este identic cu cel pentru sânge proaspăt.
 - (c) Sânge îmbătrânit 24 ore: prelucrarea sângelui s-a realizat la 24 ore de la recoltare, timp în care proba de sânge a fost păstrată la temperatura camerei; modul de prelucrare a probei este identic cu cel pentru probele precedente.
 - (d) Sânge îmbătrânit 48 ore: prelucrarea sângelui s-a realizat la 48 ore de la recoltare, timp în care proba de sânge a fost păstrată la temperatura camerei.

9.4 Înregistrarea imaginilor

Pentru analiza dinamicii membranei eritrocitare s-au efectuat următorii pași:

1. S-au înregistrat serii de 1000 de imagini secvențiale pentru fiecare eritrocit. Rata de eșantionare este de 5 fps. Rezoluția este de 2048 x 1536 pixeli pentru imaginea maximă, care a surprins un număr mediu de 10 eritrocite. Aceasta serie de imagini a fost transformată în stack-uri de 1000 imagini cu ajutorul ImageJ.
2. Stack-urile au fost prelucrate în vederea analizei utilizând comanda `threshold` care transformă în imagine alb-negru imaginea color și pune în evidență aria celulei.
3. Cu ajutorul comenzii `Analyze Particle` am delimitat perimetrul celulei de imaginea de fond (pentru toate cele 1000 imagini).
4. Figura geometrică simplă, obținută, poate fi analizată atât cu plug-ins-ul `Analyze Particle`, cât și cu `Shape Descriptor`⁵.

9.5 Modelarea matematică

Seriile de date sunt formate din valoarea diametrului mare a fiecărei celule, extras din 1000 de imagini secvențiale. Intervalul dintre frame-uri este de 5 fps. S-au achiziționat date pentru aproximativ 60 celule în fiecare mediu de suspensie. Analiza datelor s-a făcut după cum urmează:

1. S-a aplicat transformata FFT pe seriile de date și a fost calculat exponentul spectral de corelare.
2. S-a efectuat analiza DFA și s-a calculat exponentul de scalare.
3. Pe spectrul de putere al seriilor obținut cu transformata FFT discretă s-a aplicat modelarea autoregresivă cu modele autoregresive de ordin 1 și ordine superioare.

⁵Aceste plug-ins-uri nu fac parte din pachetul standard al Image J, dar pot fi găsite pe site-ul oficial al programului.

10 Rezultate și discuții

10.1 Celule normale suspendate în plasmă și PBS

Pe seriile de date s-a efectuat analiza spectrală de corelare prin DFA. După detrendare, datele au fost transferate în Origin și reprezentate grafic.

Pentru celulele suspendate în plasmă se observă o corelare foarte puternică în primul segment cu $\alpha_1 = 0.96 + / - 0.01$ pentru arie, $\alpha_1 = 0.98 + / - 0.02$ pentru D mare și $\alpha_1 = 0.85 + / - 0.01$ pentru D mic (vezi figura 8).

În cazul corelării termenilor îndepărtați, corelarea rămâne puternică, dar încetează a fi de tip $1/f$. $\alpha_2 = 1.32 + / - 0.02$ pentru arie, $\alpha_2 = 1.14 + / - 0.01$ pentru d mare și $\alpha_1 = 1.21 + / - 0.01$ pentru d mic (vezi figura 9).

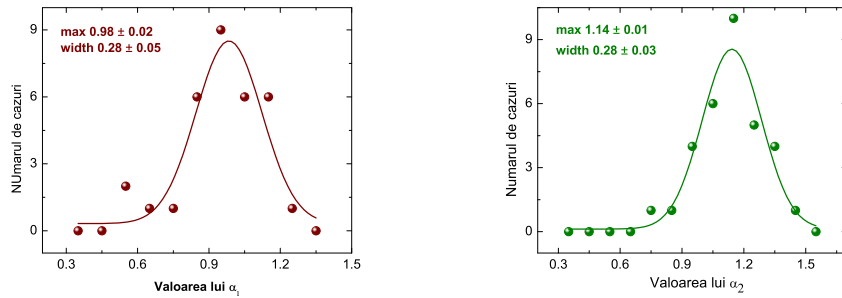


Figura 8: Distribuția gaussiană a corelării între termenii apropiați și a corelării între termenii îndepărtați. Eritrocitele sunt suspendate în plasmă.

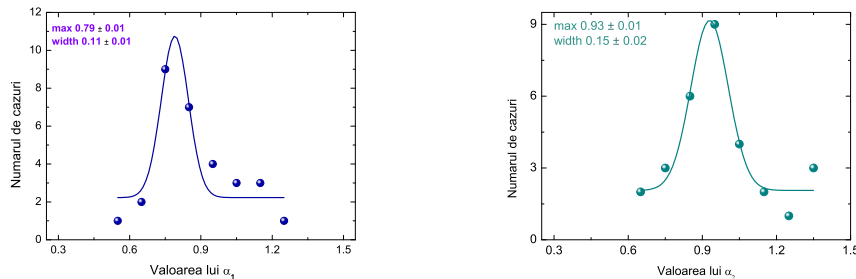


Figura 9: Distribuția gaussiană a corelării între termenii apropiați și a corelării între termenii îndepărtați. Eritrocitele sunt suspendate în PBS.

Am calculat distribuțiile gaussiene pentru loturi de 60 celule imersate în plasmă respectiv PBS. Corelarea între termenii apropiați relevă o diferență statistic semnificativă,

valoarea testului *Two Sample Independent t-Test* fiind $P=0.00896$. Valorile mediane pentru $\alpha_{1plasma} = 1.00 + / - 0.00$ iar pentru, $\alpha_{1PBS} = 0.96 + / - 0.01$. Rezultatele sunt prezentate in figura 11.

Diferențele între valorile exponentului de corelare pentru cele două medii de suspensie indică faptul că modul de fluctuație al membranei celulare este puternic afectat de introducerea celulei într-un mediu artificial. Gradul de eterogenitate a populației celulare scade rapid, lărgimea gaussienei fiind $0.28+/-0.02$ pentru plasmă și scade la $0.12+/-0.02$ în cazul PBS.

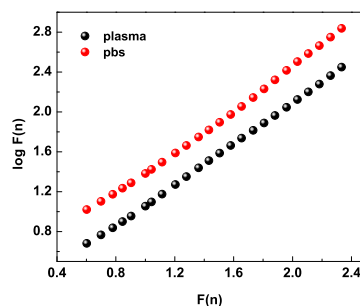


Figura 10: Valoarea medie a DFA în fiecare punct pentru toate celulele suspendate în plasmă (negru) și PBS (roșu). În PBS amplitudinea fluctuațiilor, descrisă de funcția $\log F(n)$ este mai mare datorită densității mai mici a PBS decât a plasmiei.

În cazul reprezentării DFA ca medie a valorilor pentru întreg lotul de 50 de celule (atât pentru celulele în plasmă cât și pentru cele suspendate în PBS) se observă că amplitudinea fluctuațiilor variază de la plasmă la PBS (vezi figura 10). În PBS, celula fluctuează mai larg având în vedere densitatea scăzută a acestui mediu de suspensie. În plasmă, densitatea lichidului este mai mare astfel că forța acestuia limitează lărgimea fluctuațiilor membranare.

În vederea efectuării modelării autoregresive am aplicat transformata Fourier discretă pe seriile din care în prealabil am extras trendul. Acesta a fost aproximat cu un polinom de gradul 10. Spectrul de putere a fost mediat la 21 termeni pentru a se evidenția forma. Prima observație care se poate face în urma medierii este că spectrul prezintă deviații de la legea de putere de tip $1/f$. Nici în cazul celulelor suspendate în plasmă, nici a celor suspendate în PBS spectrul nu poate fi fitat linear. Fitarea optimă este cu un model autoregresiv de ordin 1.

Gaussiană (figura 11) factorilor de interacțiune rezultați din modelarea AR1 confirmă

rezultatele obținute cu DFA. Mediana pentru φ_{plasma} este 0.78 ± 0.00 iar pentru φ_{PBS} este 0.73 ± 0.01 . Valoarea parametrului de relevanță statistică este $P=0.056$.

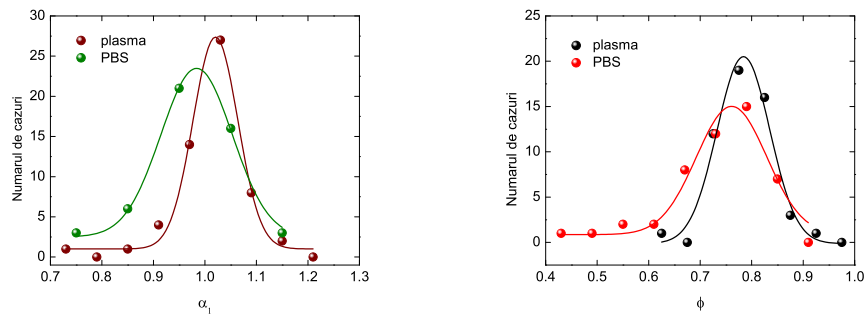


Figura 11: (a) Distribuția gaussiană comparată între valorile exponentului de corelare pentru celule suspendate în plasmă (negru) și în PBS (roșu); (b) Distribuția gaussiană comparată între valorile factorului de interacțiune pentru celule suspendate în plasmă (negru) și în PBS (roșu).

Mediul de suspensie artificial influențează caracteristicile de fluctuație ale membranei eritrocitare. Atât analiza DFA cât și modelarea autoregresivă evidențiază stresul la care este supusă celula prin îndepărtarea din mediul său natural de viață (plasma) și resuspendarea într-un mediu artificial (PBS), deși acesta întrunește în mare parte calitățile mediului natural. Lărgimea distribuțiilor gaussiene indică o mai mare omogenitate a populației celulare în cazul PBS-ului ca mediu de suspensie, în vreme ce în mediul natural modul de fluctuație este similar pentru majoritatea celulelor. Putem presupune că omogenitatea populației celulare în cazul PBS se datorează și unei îmbătrâniri accelerate a celulelor în mediu artificial.

10.2 Efectul substanțelor chimice asupra fluctuațiilor membranare

Analiza DFA indică existența unei legi de putere aparent de tip $1/f$ pentru cazurile de celule suspendate în plasmă precum și pentru celulele aflate sub efectele medicamentelor. Cum am arătat mai sus, cazul celulelor suspendate în PBS este singurul unde corelarea de distanță scurtă este evidentă și în analiza DFA.

Medierea spectrelor de putere calculate cu Transformata Fourier discretă relevă pentru toate cazurile studiate o formă neliniară ce se pretează la modelarea cu AR1. Niciunul dintre aceste spectre mediate nu poate fi fitat liniar.

Comportamentul exponentului spectral de corelare (α) denotă o delimitare netă a

comportamentului fluctuațiilor pentru celulele suspendate în plasmă față de cele spălate și suspendate în mediu artificial (vezi imaginea 13 și imaginea 12). În cazul celulelor suspendate în PBS se observă o omogenizare a populațiilor celulare (micșorarea lărgimii distribuției Gaussiene). Se pare că stresul datorat spălării celulelor și suspendării acestora într-un mediu artificial este mult mai puternic decât introducerea adrenalinei sau a xilinei în mediul de suspensie. Din punct de vedere al stresului aplicat celulei, nu sunt deosebiri fundamentale între adrenalină și xilină. În PBS, toate celulele îmbătrânesc mai repede, iar cei doi parametri (α și φ) au același comportament. În cazul celulelor suspendate în plasmă, factorul de interacțiune scade de la sânge integral spre sânge integral cu xilină, crescând în același timp gradul de heterogenitate al populațiilor celulare.

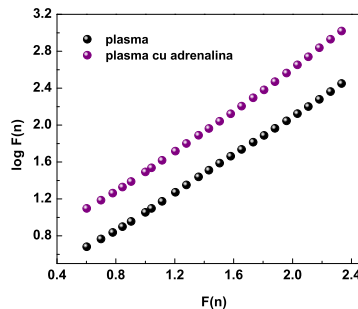


Figura 12: Reprezentarea mediei DFA în fiecare punct pentru câte 50 de celule suspendate în plasmă (negru) și plasmă cu adrenalină (lila). Lărgimea fluctuațiilor este potențată de existența adrenalinei în mediul de suspensie.

Prin adăugarea de substanțe chimice, un hormon (epinefrina) și un anestezic (lidocaina), am arătat că membrana eritocitară este supusă unui stres suplimentar. Parametrii de fluctuație pentru plasmă (lidocaină $\alpha = 0.97 + / - 0.02$, $\varphi = 0.53 + / - 0.03$, epinefrină $\alpha = 1.09 + / - 0.02$, $\varphi = 0.66 + / - 0.03$) și PBS (lidocaină $\alpha = 1.02 + / - 0.01$, $\varphi = 0.63 + / - 0.02$, epinefrină $\alpha = 0.91 + / - 0.02$, $\varphi = 0.49 + / - 0.02$) sugerează faptul că stresul asupra membranei este mai puternic în cazul epinefrinei decât al lidocainei, fiind similar cu cel indus de un mediu artificial de suspensie.

Analiza distribuției factorilor de interacțiune pentru diversele medii de suspensie caracterizează modul de fluctuație a membranei eritocitare în cazul fiecărui mediu de suspensie (vezi imaginea 13). Comportamentul cel mai omogen îl au celulele suspendate în plasmă (lărgimea distribuției este mult mai mică decât în celălalte cazuri). Celulele suspendate în PBS au comportamentul cel mai eterogen. Adrenalina și xilina adăugate în mediul de sus-

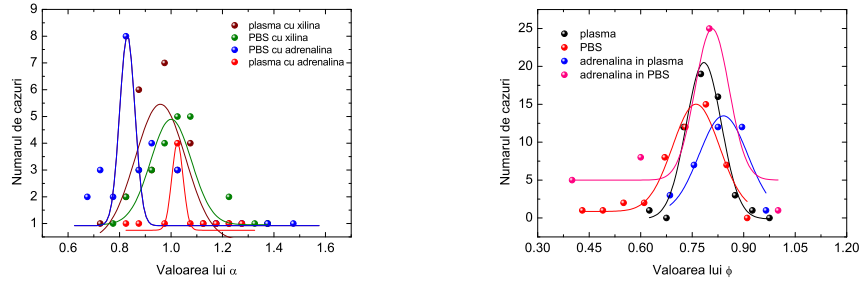


Figura 13: Fitarea Gaussiană a distribuției exponenților spectrali de corelare (α) pentru fiecare mediu de suspensie respectiv fitarea Gaussiană a distribuției factorii de interacțiune (φ) pentru fiecare mediu de suspensie.

pensie au un efect mult mai puțin evident decât PBS-ul. Cu alte cuvinte putem spune că stresul aplicat membranei celulare prin scoaterea celulei din mediul ei natural este mult mai puternic decât administrarea de medicamente.

10.3 Efectul îmbătrânirii *in vitro*

Comportamentul de fluctuație al membranei în cazul îmbătrânirii celulare *in vitro* a fost investigat atât prin DFA cât și prin analiza spectrală și modelare cu AR1.

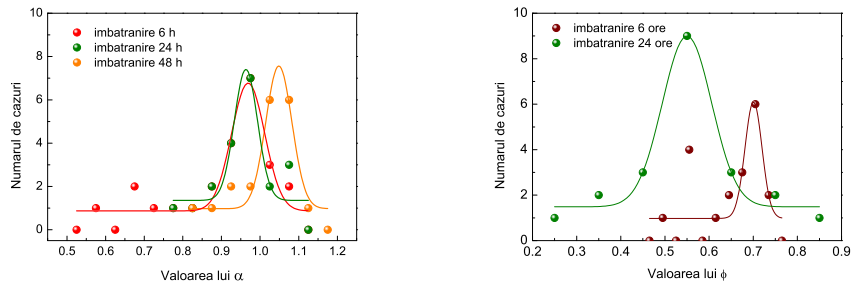


Figura 14: (a) Distribuția Gaussiană a exponentului de corelare pentru celule îmbătrânite *in vitro* 6 h, 24 h, respectiv 48 h; (b) Distribuția gaussiană a factorului de interacțiune pentru celule îmbătrânite *in vitro* 6 h respectiv 24 h. Seriele celulelor îmbătrânite 48 ore nu pot fi fitate cu un simplu AR1, modelul care le descrie comportamentul de fluctuație membranară fiind un $AR_{superior}$.

Analiza fluctuațiilor detrendate arată că nu există diferențe semnificative de fluctuație între celulele investigate la un interval de 6 ore față de cele investigate după 24 ore (vezi

imaginea 14). $\alpha_{6h}=0.97\pm 0.01$ iar $\alpha_{24h}=0.95\pm 0.01$. Aria distribuției este 5.59 ± 0.76 pentru celulele investigate la 6 ore, 6.05 ± 0.47 pentru cele investigate la 24 ore și 6.59 ± 1.13 pentru cele investigate la 48 ore. Forma distribuției Gaussiene indică o omogenitate crescută pentru celulele investigate la 6 ore, cele investigate la 24 ore având un comportament eterogen. Celulele investigate la 24 ore au de asemenea un comportament eterogen, dar legea care descrie fluctuațiile de membrană pentru acest caz încetează să mai fie de tip $1/f$. O explicație pentru modul de fluctuație întâlnit în cazul celulelor investigate după 48 ore este epuizarea cantității de glucoză din mediul de suspensie.

Rezultatele sunt confirmate și de analiza cu modelul autoregresiv (vezi imaginea 14). Trebuie menționat că analiza celulelor îmbătrânite 48 ore nu a putut fi efectuată prin modelarea cu AR1, spectrele de fluctuație a acestor celule având o formă mult mai complicată, care se pretează mai degrabă la analiza cu $AR_{superior}$. Acesta este un model complex ce returnează o suită de parametri φ care descriu împreună caracteristicile de fluctuație. Având în vedere complexitatea acestui model și numărul mare de parametri returnați, am preferat să investigăm cu AR1 numai seriile de date pentru cazurile de îmbătrânire la 6 ore și la 24 ore.

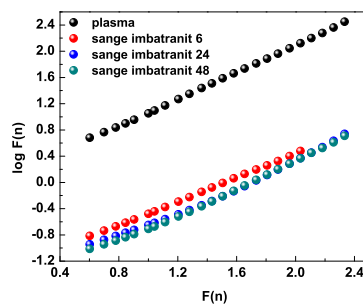


Figura 15: Reprezentarea mediei DFA pentru toate punctele în cazul celulelor îmbătrânite *in vitro*. S-a lucrat cu loturi de câte 50 celule. Glucoza necesară unei fluctuații normale este epuizată în cazul celulelor îmbătrânite. Amplitudinea fluctuațiilor este normală pentru sângele proaspăt (negru) și scade în cazul sângelui îmbătrânit 6 ore (roșu), 24 ore (albastru) și respectiv 48 ore (verde).

La 6 ore valoarea medianei distribuției Gaussiene este 0.70 ± 0.00 pentru interacțiunea între termenii seriei (parametrul este φ) în vreme ce la 24 ore acesta scade la 0.55 ± 0.01 . Aria Gaussiene indică și ea o omogenitate crescută la 6 ore, cu valoarea de 5.12 ± 1.56 . La 24 ore heterogenitatea populației celulare a crescut, cu o arie de 7.50 ± 0.63 .

La reprezentarea mediei DFA pentru toate punctele în cazul celulelor îmbătrânite *in vitro* se observă delimitarea netă a amplitudinii de fluctuație. Celulele fluctuează normal în cazul analizei imediat după recoltare. După 6 ore, deja glucoza necesară unei fluctuații membranare corecte este epuizată aproape în totalitate. Practic nu există diferențe în ce privește amplitudinea de fluctuație între celulele îmbătrânite 6, 24 sau 48 ore.

11 Concluzii generale

Metodele matematice utilizate în investigarea fluctuațiilor de membrană sunt complementare și returnează informații referitoare la cât de puternică este interacțiunea dintre termenii seriei de date și despre legea matematică care guvernează acest tip de fenomen.

Analiza fenomenului de flickering al celulelor roșii indică existența a două segmente de corelare de distanță scurtă. Din analiza maximelor distribuțiilor gaussiene se observă o corelare foarte puternică între termenii apropiați. Corelarea se păstrează și pentru termenii aflați la distanță, deși încetează a mai fi de tip $1/f$.

Proprietățile mobilității membranei celulare sunt izotrope; celula se deformează relativ identic de-a lungul diametrului mare și a diametrului mic, fapt confirmat și de corespondența între valorile exponentului de corelare între arie și diametre (vezi corelarea între termenii apropiați).

Eritrocitele îmbătrânesc foarte repede în absența mediului natural de viață, fapt dovedit de scăderea rapidă a exponentului spectral de corelare în cazul împărțirii unei serii de date în mai multe segmente egale.

Mediul de suspensie influențează modul în care se produce fenomenul de fluctuație membranară eritocitară. Celulele își pastrează caracteristicile de fluctuație câtă vreme se află în mediul lor natural de suspensie, și anume plasma sangvină. Scufundarea lor într-un mediu artificial, cum ar fi PBS (phosphate buffered saline) sau serul fiziologic tamponat, modifică substanțial caracteristicile de fluctuație.

Prin adăugarea de substanțe chimice, un hormon (epinefrina) și un anestezic (lidocaina), am arătat că membrana eritocitară este supusă unui stres suplimentar la administrarea de medicamente. Parametrii de fluctuație pentru plasmă sugerează faptul că stresul asupra membranei este mai puternic în cazul epinefrinei decât al lidocainei, fiind similar cu cel indus de un mediu artificial de suspensie.

Îmbătrânirea celulară a fost pusă în evidență atât prin analiza fluctuațiilor detrendate cât și prin modelarea autoregresivă a spectrelor de putere. Metodele sunt atât de sensibile,

încât se pot observa diferențe chiar și pentru câteva minute.

Rezultatele experimentale au confirmat modelarea autoregresivă teoretică. Deși aparent fluctuațiile de membrană ale eritrocitelor sunt de tip $1/f$, prin analiza complementara FFT și modelarea autoregresivă am arătat că tipul de corelare existent în aceste serii este de distanță scurtă. Legea care le definește cel mai bine este modelul autoregresiv de ordin 1.

Modelele matematice utilizate în investigarea fluctuațiilor de membrana eritocitară au fost validate și prin investigarea altor fenomene naturale. Am arătat că tot un model autoregresiv de ordin 1 descrie și fluxul de radiație luminoasă emisă de un quasar, și corelarea care există în seriile de lungimi ale secvențelor de codare din genomul bacterian.

Analiza fluctuațiilor detrendate utilizată împreună cu analiza spectrală și modelarea autoregresivă sunt un instrument puternic de investigare a fenomenelor naturale. DFA indică tipul de corelare existent în serie, iar în cazul unei corelări de distanță scurtă, așa cum este cazul celor mai multe fenomene naturale, modelarea autoregresivă descrie legea care le guvernează.

Referințe

- [1] Jacco Van Uden, Kurt A Richardson, Paul Cilliers, *Postmodernism Revisited? Complexity Science and the Study of Organizations*, Journal of Critical Postmodern Organization Science, Vol 1 (3) 2001.
- [2] Cooley, James W., and John W. Tukey, *An algorithm for the machine calculation of complex Fourier series*, Math. Comput. 19: 297-301, 1965.
- [3] Thomas H. Cormen, Charles E. Leiserson, Ronald L. Rivest, and Clifford Stein, *Introduction to Algorithms*, 2nd. ed. MIT Press and McGraw-Hill. Especially chapter 30, Polynomials and the FFT, 2001.
- [4] Georg Bruun, *z-Transform DFT filters and FFTs*, IEEE Trans. on Acoustics, Speech and Signal Processing (ASSP) 26 (1), 56-63, 1978.
- [5] C. M. Rader, *Discrete Fourier transforms when the number of data samples is prime*, Proc. IEEE 56, 1107-1108, 1968.
- [6] Leo I. Bluestein, *A linear filtering approach to the computation of the discrete Fourier transform*, Northeast Electronics Research and Engineering Meeting Record 10, 218-219 (1968).
- [7] Peng, C.K. et al. *Mosaic organization of DNA nucleotides*, Phys Rev E, 49 (2) 1685-1689, 1994.
- [8] Kantelhardt J.W. et al. *Detecting long-range correlations with detrended fluctuation analysis*, Phys A, 295 (3-4) 441-454, 2001.

- [9] Zhi Chen, Plamen Ch. Ivanov, Kun Hu, and H. Eugene Stanley, *Effect of nonstationarities on detrended fluctuation analysis*, Phys. Rev. E ,(65) 4, 041107, 2002.
- [10] <http://en.wikipedia.org/wiki/Detrended-fluctuation-analysis>
- [11] Vasile V. Morariu, Luiza Buimaga-Iarinca, Calin Vamos, Stefan M. Soltuz, *Detrended Fluctuation Analysis of autoregressive processes*, Fluctuations and Noise Letters 7(3), L249-L255, 2007.
- [12] Bunde A. and Havlin S., Eds., *Fractals and Disordered Systems*, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1996.
- [13] Heneghan et al. *Establishing the relation between detrended fluctuation analysis and power spectral density analysis for stochastic processes*, Phys Rev E, 62 (5) 6103-6110, 2000.
- [14] A.N. Shiryaev, *Probability*, 2nd ed., Springer, pages 405 and 409, 1996.
- [15] Priestley, M.B. *Spectral Analysis and Time Series*, Academic Press, 1981.
- [16] Priestley, M.B. *Non-linear and Non-stationary Time Series Analysis*, Academic Press and Physical Review E, vol. 64, 011114, 2001(1988).
- [17] Kun Hu, Plamen Ch. Ivanov, Zhi Chen, Pedro Carpena, and H. Eugene Stanley, *Effect of Trends on Detrended Fluctuation Analysis*, Physical Review E, vol. 64, 011114, 2001.
- [18] Mills, Terence C. *Time Series Techniques for Economists*. Cambridge University Press, 1990.
- [19] Percival, Donald B. and Andrew T. Walden, *Spectral Analysis for Physical Applications*, Cambridge University Press, 1993.
- [20] Pandit, Sudhakar M. and Wu, Shien-Ming, *Time Series and System Analysis with Applications*, John Wiley and Sons, Inc., 1983.
- [21] G. Udny Yule *On a Method of Investigating Periodicities in Disturbed Series*, with Special Reference to Wolfers' Sunspot Numbers, Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Ser. A, Vol. 226, 267-298, 1927.
- [22] G. E. P. Box and G. M. Jenkins, *Time Series Analysis: Forecasting and Control*, 2nd ed. Holden-Day, San Francisco, 1976.
- [23] P.J. Brockwell and R. Davis, *Time Series: Theory and Methods*, Springer-Verlag, New York, 1991.
- [24] P.J. Brockwell and R. Davis, *Introduction to Time Series and Forecasting*, Springer-Verlag, New York, 1996.
- [25] J.D. Hamilton, *Time Series Analysis*, Princeton University Press, 1994.
- [26] P. Stoica and R. L. Moses, *Introduction to Spectral Analysis*, Prentice-Hall, New Jersey, 1997.

- [27] Calin Vamos, Stefan M. Soltuz, Maria Craciun, *Order 1 autoregressive process of finite length*, arXiv:0709.2963v1 [physics.data-an]
- [28] MATLAB R2008a, <http://www.mathworks.com/>
- [29] W. Li, *A Bibliography on 1/f Noise (1996 - present)* <http://www.nslj-genetics.org/wli/1fnoise/>
- [30] A. Coza and V.V. Morariu, *Generating 1/f noise with a low dimensional attractor characteristic: its significance for atomic vibrations in proteins and cognitive data*, Physica A 320, 449-460, 2001.
- [31] Th. L. Thornton and D. L. Gilden, *Provenance of correlations in psychological data*, Psychonomic Bul. Rev. 12, 409-441, 2005.
- [32] Elsworth, Y.P., James, J.F. *The flicker spectrum of AE Aquarii*, Mon. Not. R. Astr. Soc., 198, 889-896, 1982.
- [33] Lochner, J.C., Swank, J.H., Szymkowiak, A.E. *Shot model parameters for Cygnus X-1 through phase portrait fitting*, Astrophys. J., 376, 295-311, 1991.
- [34] Smith, M.A., Robinson, R.D. *Interplay of periodic, cyclic and stochastic variability in selected areas of the H-R diagram*, ASP Conf. Ser., 292, 263-274, 2003.
- [35] Gaskell, C.M., Klimek, E.S. *Variability of active galactic nuclei from the optical X-ray regions*, Astron. Astrophys. Trans., 22, 661-679 2003.
- [36] Uttley, P., McHardy, I.M. *The Flux-dependent amplitude of broadband noise variability in X-ray binaries and active galaxies*, Mon. Not. R. Astr. Soc., 323, L26L30, 2001.
- [37] Papadakis, I.E., Lawrence, A. *A detailed X-ray variability study of the Seyfert galaxy NGC 4051*, Mon. Not. R. Astr. Soc. 272, 161-183, 1995.
- [38] McHardy, I.M., Papadakis, I.E., Uttley, P., Page, M.J., Mason, K.O. *Combined long and short time-scale X-ray variability of NGC 4051 with RXTE and XMM-Newton*, Mon. Not. R. Astr. Soc., 348, 783-801, 2004.
- [39] Konig, M., Timmer, J. *Analyzing X-ray variability by linear state space models*, Suppl. Ser., 124, 589-596, 1997.
- [40] Vamos, C. *Automatic algorithm for monotone trend removal*, Phys. Rev. E, 75, 036705, 2007.
- [41] D. J. Li, S. Zhang, *The C-value enigma and timing of the Cambrian explosion*, arXiv Preprint Archive [on line], <http://arxiv.org/abs/0806.0108>, 2008.
- [42] D. J. Li, S. Zhang, *Prediction of genomic properties and classification of life by protein length distributions*, arXiv Preprint Archive [on line], <http://arxiv.org/abs/0806.0205>, 2008.
- [43] D. J. Li, S. Zhang, *Classification of life by the mechanism of genome size evolution*, arXiv Preprint Archive [on line], <http://arxiv.org/abs/0811.3164>, 2008.

- [44] Y. Zhuang, F. Ma, J. Li-Ling, X. Xu, Y. Li, *Comparative analysis of amino acid usage and protein length distribution between alternatively and non-alternatively spliced genes across six eukarotic genomes*, Mol.Biol. Evol. 20 (12) 1978-1985, 2003.
- [45] A. L. Berman, E. Kolker, E. N. Trifonov, *Underlying order in protein sequence organization*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91 4044-4047, 1994.
- [46] B. Rost, *Did evolution leap to create the protein universe?*, Curr.Opin.Stru, Biol 12 409-416, 2002.
- [47] O. Zainea, V. V. Morariu, *The length of coding sequences in a bacterial genome: evidence for short-range correlation*, Fluct. Noise Lett. 7 501-508, 2007.
- [48] B. B. Mandelbrot, *Multifractals and 1/f noise*, Springer, New York 1998.
- [49] V. V. Morariu, C. Vamos, A. Pop, S. M. Soltuz, L. Buimaga-Iarinca, O. Zainea, *Autoregressive description of biological phenomena* arXiv Preprint Archive, <http://arxiv.org/abs/0808.1021>, 2008.
- [50] O. Zainea, V. V. Morariu, *A correlation investigation of bacterial DNA coding sequences*, Romanian J. Biophys. 18 19-28, 2008.
- [51] E. P. C. Rocha, *The replication-related organization of bacterial genomes*, Microbiology 150, 1609-1627, 2004.
- [52] F. Kunst, N. Ogasawara, I. Moszer and 148 other authors. *The complete genome sequence of the Gram-positive bacterium Bacillus subtilis*, Nature 390, 249-256, 1997.
- [53] F. R. Blattner, G. Plunkett, I. C. A. Bloch and 14 other authors, *The complete genome sequence of Escherichia coli K-12*, Science 2 77, 1453-1461, 1997.
- [54] E. P. C. Rocha, A. Danchin *Competition for scarce resources might bias bacterial genome composition*, Trends Genet 18, 291-294, 2002.
- [55] Kuchel, Philip W., Ralston, Gregory B., Berstein, Audrey M., Easterbrook-Smith, Simon B, *Schaum's Outline of Theory and Problems of Biochemistry* 2nd ed, McGraw Hill, New York, 1997.
- [56] R.H.Garrett C.M.Grisham, *Biochemistry*, 2nd ed, Harcourt, Florida, 1999.
- [57] Peter Mulquiney, Philip W. Kuchel, *Modelling Metabolism with Mathematica: Analysis of Human Erythrocyte*, CRC Press, Boca Raton, 2003.
- [58] [http://images.google.ro /imgres?imgurl=http :// kentsimmons.uwinnipeg.ca/ cm1504/ Image127.gif](http://images.google.ro/imgres?imgurl=http://kentsimmons.uwinnipeg.ca/cm1504/Image127.gif)
- [59] Singer S.J., Nicolson G.L., *The fluid mosaic model of the structure of cell membranes*, Science 175 (23): 72031, 1972.
- [60] Alberts B., Johnson A., Lewis J., et al., *Molecular Biology of the Cell* (4th ed.), New York: Garland Science, 2002.

- [61] David Szekely, *Chemical and physical dynamics of cells: the calcium oscillator in hek-293 cells and erythrocyte rapid membrane transport and flickering*, Phd Thesis, University of Sydney, Australia, 2009.
- [62] <http://www.itg.uiuc.edu/exhibits/iotw/2008-11-18/>
- [63] Laura Dean *Blood Groups and Red Cell Antigens*, <http://onlinebooks.library.upenn.edu/webbin/book/lookupid?key=olbp36833>
- [64] Pierig F, Serafini S, Rossi L, Magnani M, *Cell-based drug delivery*, *Advanced Drug Delivery Reviews* 60 (2): 28695, 2008.
- [65] Kabanova S, Kleinbongard P, Volkmer J, Andre B, Kelm M, Jax TW, *Gene expression analysis of human red blood cells*, *International Journal of Medical Sciences* 6 (4): 1569, 2009.
- [66] Hillman, Robert S., Ault, Kenneth A., Rinder, Henry M., *Hematology in Clinical Practice: A Guide to Diagnosis and Management* (4 ed.), McGraw-Hill Professional. p. 1, 2005.
- [67] University of Virginia Pathology, *Iron Metabolism* Accessed 22 September 2009.
- [68] Kenneth R. Bridges, *Iron Transport and Cellular Uptake*, Information Center for Sickle Cell and Thalassemic Disorders. Accessed 22 sept 2009.
- [69] Filler M, Huber SM, Lang F, *Erythrocyte programmed cell death*, *IUBMB Life* 60 (10): 6618, 2008.
- [70] Elgsaeter A., Mikkelsen A., *Shapes and shape change in vitro in normal red blood cells*, *Biochim.Biophys.Acta*, 1071, 273-290, 1991.
- [71] Zeman K., Engelhard H., Sackmann E. *Bending undulations and elasticity of the membrane: effects of cell shape and membrane organization*, *Eur.Biophys. J.*, 1990.
- [72] Tuvia S. Levin, S. Korenstein R. *Correlation between local membrane displacements and filterability of human red blood cells* *FEBS Lett.* 304, 32-36, 1992.
- [73] Tuvia S. Levin S. Korenstein R., *Oxygenation-deoxygenation cycle of erythrocytes modulates submicron cell membrane fluctuations*, *Biophys. J.* 63, 599-602, 1992.
- [74] Strey H. Peterson, M. Sackmann E. *Measurement of erythrocyte membrane elasticity by flicker eigenmode decomposition* *Biophys. J.* 69, 478-488, 1995.
- [75] Tuvia S. Almagor A. Bittler A. Levin S. Korenstein R. Yedgar S, *Cell membrane fluctuations are regulated by medium macroviscosity evidence for a metabolite driving force* *Proc.Nat.Acad.Sci USA* 94, 5045-5049, 1997.
- [76] Tuvia S. Levin S. Bitles A. Korenstein R., *Mechanical fluctuations of the membrane -skeleton are dependent on F-actin ATPase in human erythrocytes* *J.Cell Biol.* 141 1551-1561, 1998.
- [77] Alster Y. Loewenstein A. Levin S. Lazar M. Korenstein R., *Low-frequency submicron fluctuations of red blood cells in diabetic retinopathy*, *Arch.Ophtalmol.* 116 1321-1325, 1998.

- [78] Gaczinska M., Barotsz G., *Oscillations in erythrocyte membrane preparations*, Cytobios, 52 93-98, 1987.
- [79] Peleg L. Dotan A. Luzato P. Ashkenazi I.E., *Long ultradian rhythms in red blood cells and ghost suspensions; possible involvement of cell membrane* In Vitro Cell Dev. Biol. 26, 978-982, 1990.
- [80] Popescu G., Deflores L. P., Vaughan J. C., *Fourier phase microscopy for investigation of biological structure and dynamics*, Optic Letters, Vol 29., No 21, 2004.
- [81] Popescu G., Ikeda T., Best C. A., Badizadegan K., Dasari R.R., Feld M., *Erythrocyte structure and dynamics quantified by Hilbert Phase Microscopy*, JBO Letters, Vol 10(6), 2005.
- [82] Popescu G., Ikeda T., Dasari R. R., Feld M., *Diffraction phase microscopy for quantifying cell structure and dynamics*, Optic Letters, Vol 31 No 6, 2006.
- [83] Lue N., Choi W., Popescu G., Ikeda T., Dasari R., Badizadegan K., Feld M., *Quantitative phase microscopy of live cells using Fast Fourier Phase Microscopy*, Applied Optics Vol 46 No 10, 2007.
- [84] Popescu G., Badizadegan R., Dasari R., Feld M., *Observation of dynamic subdomains in red blood cells*, Journal of Biomedical Optics, Vol 11(4), 2006.
- [85] Popescu G., Park Y., Dasari R., Badizadegan K., Feld M., *Coherence properties of red blood cell membrane motions*, Phys Rev. E, Vol 76(3), 2007.
- [86] [http://en.wikipedia.org/wiki/File:Erythrocyte Membrane lipids.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Erythrocyte_Membrane_lipids.jpg)
- [87] <http://www.optikamicroscopes.com/prod/XDS2.asp>
- [88] <http://www.optikamicroscopes.com/prod/TECH/OPTIKAM-TECH-PRO.asp>
- [89] Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 1997-2006.
- [90] Abramoff, M.D., Magelhaes, P.J., Ram, S.J. *Image Processing with ImageJ*, Biophotonics International, volume 11, issue 7, pp. 36-42, 2004.
- [91] Syverud, K., Chinga, G., Johnssen, P.O., Leirset, I. and Wiik, K. *Analysis of lint particles from full-scale printing trials*. Appita J. 60(4): 286-290, 2007.
- [92] Russ, J.C., *The image processing handbook*, CRC Press, USA (1999).
- [93] Foley, James D.; Andries van Dam, John F. Hughes, Steven K. Feiner, *Spatial-partitioning representations; Surface detail. Computer Graphics Principles and Practice*, The Systems Programming Series, Addison-Wesley, 1990.
- [94] L Buimaga-Iarinca, V.V. Morariu, *Phosphate Buffered Saline-induced changes in red blood cells membrane fluctuations*, Studia UBB, Physica LIII(2), 2008.

- [95] L Buimaga-Iarinca, *Autoregressive analysis of the erythrocyte flickering*, Rom. J. Biophys 18(1), 67-72, 2008.
- [96] L Buimaga-Iarinca, V Morariu, *Short range correlation of the erythrocyte membrane fluctuations*, Journal of Physics: Conference Series 182, 012005 doi:10.1088/1742-6596/182/1/012005, 2009.
- [97] Erika Check Hayden, *Age research: A new angle on old*, Nature 450, 603-605, doi:10.1038/450603, 2007.
- [98] Jacob, F., Perrin, D., Sanchez, C. and Monod, J., *Operon: a group of genes with the expression coordinated by an operator*, C. R. Hebd. Seances Acad. Sci., Vol. 250, pp. 17271729, 1960.

Index

Corelare, 11

Detrended Fluctuation Analysis, 6

Discrete Fourier Transform, 5

Dispersie, 7

Eritrocitul uman, 18

Exponentul de scalare, 6

Exponentul spectral de corelare, 6

Factorul de interacțiune, 8

Fast Fourier Transform, 5

Flickeringul eritrocitar, 19

Membrana celulară, 18

Operon, 17

Periodogramă, 8

Proces cauzal, 8

Proces staționar, 7

Proces *AR1*, 7

Secvență coding, 16

Spectru de putere, 5

Staționaritate, 6

Trend, 7