

# Revista de Ciencia y Tecnología

INGENIERÍA, TECNOLOGÍA E INFORMÁTICA, SALUD, BIOLOGÍA Y  
GENÉTICA, EDUCACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA

AÑO 19 / Nº 27 / 2017

## ÍNDICE

- 4 Epidemiología y factores de riesgo de enfermedad invasiva neumocócica en pediatría. Estudio descriptivo, postvacunal / Jesica D. Benitez, Mónica E. Martínez, Martha H. Von Specht, Érica Gerlach, Cristina A. González, Sandra L. Grenón.
- 11 Diseño de péptidos inhibidores de interacciones de la subunidad glun2b del receptor nmda en isquemia / Edwin Alfredo Reyes Guzmán, Nohora Angélica Vega Castro, Edgar Antonio Reyes Montano.
- 23 Aplicación de la lógica difusa en el proceso de evaluación en matemática / Graciela C. Lombardo, Ricardo Chrobak.
- 31 La interrelación entre lo disciplinar y lo pedagógico-didáctico en la enseñanza universitaria de las matemáticas / Lorena Cruz.
- 39 Rendimiento académico en química general en las ciencias naturales. Universidad nacional de Tucumán / María Laura Muruaga, María Gabriela Muruaga, María Benita Vece, María Cristina Galindo.
- 46 Descripción de un caso de leucemia mieloide crónica con un cromosoma *Philadelphia* variante / Leandro G. Gutiérrez, Patricia C. Dos Santos, Amada Rolón, Ana M. Melnichuk, Carina F. Argüelles; Alberto S. Fenocchio.
- 51 Estudio de la flora microbiana de la yerba mate durante las etapas de su elaboración / Luis A. Cañete, Beatriz del V. Argüello, Amada B. Pucciarelli Román.
- 58 Desarrollo de un prototipo sensor de biomasa basado en algoritmos de procesamiento de imagen / Carolina S. Díaz, Jorge H. Barón.
- 63 Experimentando prácticas de enseñanza. El abp, sus implicancias para el desempeño del rol del tutor / Miriam G. Acuña, Nora M. Sosa.
- 69 Niveles de actividad física y su asociación con factores de riesgo cardiometabólico en empleados hospitalarios / Gabriela C. Gauvry, María S. Castillo Rascón, Williams R. Pedrozo, C. Castro Olivera, Alicia C. Guzmán, Ramón A. Sánchez, Elba C. Malarczuk, Graciela A. Bonneau.
- 75 Instrucciones a los autores.
- 78 Instructions to authors.
- 81 Instruções aos autores.
- 84 Confirmación de Autoría y Derechos de Publicación. / Confirmation of Authorship and Publication Regulations. / Confirmação de Autoria e Direitos de Publicação.

• **SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO. FCEQyN-UNaM**

**Secretaria:** Mgter. Celina Vedoya.

• **REVISTA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA**

**COMITÉ EDITORIAL**

**Editor principal:** Dra. Alicia E. Ares. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. UNaM. Misiones. Argentina.

**Editor adjunto:** Dr. Miguel E. Schmalko. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. UNaM. Misiones. Argentina.

**CONSEJO DE EDICIÓN**

**Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. UNaM. Argentina**

Dr. Alberto S. Fenocchio.

Dr. Dardo A. Martí.

Dra. Laura A. Ramallo.

Dra. Marina Quiroga.

Dra. Laura L. Villalba.

Dr. Pedro D. Zapata.

Dra. Ana María Zoppi.

Dr. Horacio Kuna (Invitado).

Dr. Marcelo Marinelli (invitado).

Mgter. Patricia Morawicki (Invitada).

Dra Graciela Gavazzo (Invitada).

**Instituciones de la Argentina**

Mgter. Nilda Josefa Corral. Facultad de Humanidades. UNNE. Resistencia. Chaco.

Dra. Silvia Di Genaro. Universidad Nacional de San Luis. San Luis. Argentina.

Dr. Roque Hours. Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

Dr. Rodolfo Mascheroni. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos. La Plata. Argentina.

Dr. Jorge E. Monzón. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. UNNE. Corrientes. Argentina.

Dra. Silvia Resnik. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

Dr. José G. Seijo. Facultad de Ciencias Exactas Naturales y Agrimensura. UNNE, Corrientes. Argentina.

**Instituciones del Exterior**

Dra. María Sol Brassesco Annichini. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP, Brasil.

Dr. Rafael A. Auras. Michigan State University, Michigan, Estados Unidos.

Dra. Marusia Stefanova. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV).

Dr. Andre Luiz Ferraz. Departamento Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Brasil.

Mgter. Mirtha Lucía Abraham Nazif. Univ. Academia de Humanismo Cristiano. Providencia, Santiago de Chile.

Dra. Pilar López Ruiz. Universidad de Alcalá de Henares. Madrid. España.

Dr. José Ignacio Paláez Sánchez. Universidad de Málaga. España.

Revista de Ciencia y Tecnología on line: [www.fceqyn.unam.edu.ar/recyt](http://www.fceqyn.unam.edu.ar/recyt). Hecho el depósito de la Ley 11723. Impreso en Argentina. ISSN de la revista impresa: 0329-8922. ISSN de la revista electrónica: 1851-7587.

Esta Revista es un servicio de la SECIP. Está prohibida su venta a terceros como también la reproducción total o parcial con fines comerciales. Los trabajos presentados han sido aceptados para su publicación por el Consejo de Dirección y el Consejo de Edición. La Revista no se hace responsable de las opiniones contenidas en los artículos, siendo de responsabilidad exclusiva de los autores de los mismos. La edición de la Revista cuenta con el apoyo económico de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales y de la Fundación Fac. Cs. Ex. Qcas. y Naturales.

Toda correspondencia relacionada a la Revista debe ser dirigida a: Revista de Ciencia y Tecnología. Félix de Azara 1552, 3300, Posadas, Misiones, Rep. Argentina. Teléfono: 54-376-4422186, Fax: 54-376-4425414, E-mail: [recyt@fceqyn.unam.edu.ar](mailto:recyt@fceqyn.unam.edu.ar). Revista de periodicidad semestral.

## **EQUIPO EDITORIAL**

**Armado de interior y tapa:** D.G. Javier B. Giménez.

**Revisión de texto:** Lic. Julia E. Renaut.

**Revisión de texto en inglés:** Responsable: Lic. María C. Benassi; Docentes: Prof. María E. Sobrero, Lic. Silvia Flores, Lic. Martha S. Godoy, Prof. María L. Stefañuk, Prof. María F. Picasso.

**Revisión de texto en portugués:** Prof. Cristina S. Pastori.

**Colaboradores técnicos:** ASC. Mónica R. Mounier, ASC. Víctor R. Narvaez.

## **COMITÉ DE REVISIÓN EXTERNO INGENIERÍA, TECNOLOGÍA E INFORMÁTICA, SALUD, BIOLOGÍA Y GENÉTICA, EDUCACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA**

**Dr. Horacio Lopardo.** Universidad Nacional de la Plata. Argentina.

**Dr. Luis Merino.** Instituto de Medicina Regional. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.

**Dra. Alicia Mon.** Universidad Nacional de La Matanza. Argentina.

**Dr. Juan Toloza.** Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Argentina.

**Dr. Nelson Acosta.** Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Argentina.

**Dra. Graciela Lombardo.** Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Argentina.

**Mgter. Irma Saiz.** Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.

**Dra. Lydia GalagovskY.** Universidad Nacional de Buenos Aires. Argentina.

**Dra. Beatriz Argüello.** Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Argentina.

**Esp. Susana Celman.** Universidad Nacional de Entre Ríos. Argentina.

RECYT

Año 19 / N° 27 / 2017 / 4–10

## Epidemiología y factores de riesgo de enfermedad invasiva neumocócica en pediatría. Estudio descriptivo, postvacunal

### Epidemiology and risk factors for invasive pneumococcal disease in pediatrics. Descriptive, postvaccinal study

Jesica D. Benitez<sup>1,\*</sup>; Mónica E. Martínez<sup>1,2</sup>; Martha H. Von Specht<sup>1,2</sup>;  
Érica Gerlach<sup>3</sup>; Cristina A. González<sup>3</sup>; Sandra L. Grenón<sup>1</sup>

1- Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.

2- Hospital Pediátrico Provincial "Dr. Fernando Barreyro". 3- Hospital SAMIC, Oberá.

\* E-mail: jesbqcaunam@gmail.com

#### Resumen

En 2011 se incorporó la vacuna 13-valente al Calendario Nacional de Inmunización, con aplicación efectiva desde 2012. El objetivo fue describir la epidemiología de la enfermedad y los factores de riesgo observados en pacientes con diagnóstico de enfermedad invasiva neumocócica en la población pediátrica que se atiende en el Hospital "Dr. F. Barreyro" y en el Hospital SAMIC-Oberá entre mayo de 2013 y abril de 2014. Se obtuvieron datos clínicos y epidemiológicos de los pacientes con diagnóstico confirmado y se realizaron técnicas de biología molecular para descartar y/o confirmar casos sospechosos. Se diagnosticaron 23 casos, con picos en invierno y primavera. Predominaron los pacientes mayores de 2 años (82%), los varones (65%) y las neumonías (69,6%). Los neumococos sensibles a penicilina preponderaron en todo el estudio. Se distinguieron dos serotipos (1 y 12F). No observamos prevalencia de factores de riesgo considerados. Es necesario continuar con la vigilancia activa.

Palabras clave: Vigilancia; Enfermedad invasiva; *Streptococcus pneumoniae*; Vacuna conjugada; Factores de riesgo.

#### Abstract

The 13-valent pneumococcal conjugate vaccine was added to the National Immunization Program in 2011, and effectively administered since 2012. The aim of this study was to describe the post-vaccine epidemiology of pneumococcal invasive disease, in the pediatric population who come for consultation at the "Dr. F. Barreyro" and "SAMIC-Oberá" Hospitals, between May-2013 and April-2014. Clinical and epidemiological data were obtained and the suspected cases were confirmed by polymerase chain reaction. Twenty three cases were diagnosed, a seasonal pattern was observed with peaks in winter and spring. Patients older than 2 years old (82%), the masculine gender (65%), and who were diagnosed with pneumonia (69,6%) prevailed. Penicillin-sensitive pneumococci predominated throughout the study. Two serotypes (1 and 12F) were mainly distinguished. We did not observe any prevalence in the factors considered. It is necessary to continue active surveillance.

Keywords: Surveillance; Invasive disease; *Streptococcus pneumoniae*; Conjugate vaccine; Risk factors.

#### Introducción

*Streptococcus pneumoniae* (Spn) tiene un rol preponderante la causalidad de las infecciones respiratorias prevalentes de la comunidad. Es el patógeno aislado con mayor frecuencia en infecciones locales, como otitis media aguda y sinusitis y el más relacionado con las infecciones invasivas en la infancia. Se aísla en el 50% de las neumonías bacterianas y es el primer agente de las bacteriemias y de meningitis bacterianas en países con elevada cobertura para *Haemophilus influenzae* serotipo b, incluyendo la Argentina, excepto cuando se presentan brotes epidémicos por *Neisseria meningitidis* [1, 2, 3].

El mayor número de óbitos se concentra en los países en desarrollo, donde las tasas son 4 a 100 veces más elevadas que en países desarrollados, como Canadá o Estados Unidos [4]. Estas diferencias entre países en desarrollo y países industrializados, obedecen a múltiples causas, que fueron señaladas por OPS como factores de riesgo: bajo peso al nacer, desnutrición severa, falta de lactancia materna, polución ambiental, hacinamiento en el hogar o la escuela, falta de vacunaciones específicas y déficit de vitamina A en algunas zonas [5]. Existen comorbilidades asociados al aumento de riesgo de enfermedad invasiva neumocócica (EISpn) como síndrome nefrótico, anemia drepanocítica, esplenectomía, déficit del complemento y

otras inmunodeficiencias, y defectos anatómicos con fístula de líquido cefalorraquídeo (LCR) [6, 7, 8, 9, 10].

Desde 1993, la importancia de las neumonías y meningitis bacterianas impulsó a la Organización Panamericana de la Salud a implementar un programa regional de vigilancia basado en una red de hospitales y laboratorios centinelas, SIREVA y SIREVA II, para proveer información prospectiva sobre los datos de distribución de serotipos y sensibilida los antibióticos de *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseriameningitidis*, así como también información epidemiológica para la estimación de la carga de estas enfermedades y para la formulación de vacunas cada vez más eficientes [11].

El último informe anual, en el que participaron 104 hospitales distribuidos en toda la Argentina, demostró que durante el año 2012, de un total de 371 aislamientos de *S. pneumoniae*, el 93% fue recuperado de la población pediátrica, y de ese valor, el 72,8% correspondió a aislamientos en menores de 5 años de edad. Fueron neumonías 51,5%; meningitis 22,1% y sepsis 11,9%. En los aislamientos de niños menores a 5 años, se halló sensibilidad disminuida a penicilina, en casos relacionados a meningitis. Los serotipos prevalentes fueron: 14 (15,6%), 1 (14,4%), 5 (14,4%), 7F (7,8%), 19A (5,6%), 18C (4,4%), 3 (4,1%), 6A/6B (3,7%/2,2%), 22F (3,3%), 12F (3,3%) [12].

En la provincia de Misiones, se realizaron dos estudios de vigilancia de EISpn [13, 14] llevados a cabo en el Hospital Provincial de Pediatría. Los mismos han revelado que en el periodo 1998 a 2001, se recuperaron 101 aislamientos de Spn, y durante el período 2004 a 2008, 129 casos. En ambos períodos predominaron las neumonías, el grupo etario más afectado fue el de los menores de 2 años de edad y el serotipo 14 fue el más frecuente, seguido por los serotipos 5, 1, 6B/6A, 9N y 19F, entre otros [13]. Sin embargo, observamos un descenso en la frecuencia de casos anuales y un aumento de los niveles de sensibilidad a penicilina hacia 2008 [14].

El Ministerio de Salud Pública, posterior a un estudio de costo y efectividad [15], bajo la Resolución 502/2011 incorporó al Programa Nacional de Control de Enfermedades Inmunoprevenibles, con carácter gratuito y obligatorio, la inmunización con la vacuna conjugada para neumococo aplicable a niños nacidos desde el año 2010 en adelante [16, 17].

A las dificultades que implica el desarrollo de una vacuna [17, 18], se deben añadir los obstáculos que se presentan en la implementación de la misma. La provincia de Misiones presenta un notable desarrollo de fronteras internacionales acusando 34 pasos fronterizos habilitados [18]. Mucha gente concurre a nuestra provincia por razones sanitarias, comerciales y familiares, haciendo que el flujo de personas sea elevado, por lo que la variabilidad de serotipos circulantes debe ser vigilada. Existen además muchas familias que residen en zonas rurales, alejadas de los centros de atención de la salud, y de bajos recursos que

frecuentemente asisten a éstos cuando la situación clínica es crítica o difícil de controlar [19, 20, 21].

El grupo de trabajo, llevó a cabo el presente estudio, con el objetivo de describir la epidemiología y los factores de riesgo asociados a la enfermedad invasiva neumocócica en la población pediátrica atendida en el Hospital Pediátrico Provincial “Dr. F. Barreyro” (HPP) y en el Hospital de Servicio de Atención Médica Integral para la Comunidad (SAMIC) Oberá, durante el período mayo 2013 – abril 2014.

## Materiales y Métodos

Se realizó un estudio de tipo descriptivo de corte transversal, prospectivo. El mismo consistió en evaluar la epidemiología de la enfermedad invasiva neumocócica y la frecuencia de factores de riesgo intrínsecos y extrínsecos en pacientes pediátricos (>1 mes a < 15 años) con diagnóstico de EISpn, durante el período mayo 2013 – abril 2014.

Los hospitales considerados para el presente estudio representan los principales centros de derivación de salud pública pediátrica de la zona centro y sur de la provincia: Hospital SAMIC Oberá y el Hospital de Pediatría “Dr. Fernando Barreyro” (HPP) de Posadas. El HPP es el único hospital monoclínico pediátrico de la Provincia; realiza actividades de atención médica correspondientes a un establecimiento de complejidad nivel II y III (Res. Ministerial N° 171/03). Atiende a la población de este grupo etario (>1 mes a < 15 años) del departamento capital que se acerca por demanda espontánea y a los pacientes derivados de la red de atención provincial de los 17 departamentos de Misiones, de localidades del norte correntino y del este de Paraguay. El Hospital de SAMIC Oberá, corresponde a un establecimiento de complejidad nivel II (Res. Ministerial N° 171/03) y atiende a la población de su Departamento que se acerca por demanda espontánea y los pacientes derivados de la red de atención provincial de los departamentos de la zona centro de Misiones.

Se incluyeron a todos los pacientes pediátricos que concurren a ambos centros pediátricos de Salud con diagnóstico de EISpn, durante el período anteriormente citado, cuyos padres autorizaron el uso de los datos para el presente estudio.

Se definió como enfermedad invasiva por *S. pneumoniae*, a toda infección en la cual éste se haya recuperado como agente etiológico desde un sitio normalmente estéril [líquido cefalorraquídeo (LCR), líquido de punción pleural (LPP), sangre].

Los aislamientos se caracterizaron y tipificaron en los laboratorios de microbiología de los hospitales intervinientes mediante técnicas convencionales [22, 23, 24, 25]. Se realizaron pruebas de sensibilidad a agentes antimicrobianos por técnicas de difusión [26], se emplearon discos de oxacilina, tetraciclina (TET) trimetoprimasulfametoxazol (TMS), eritromicina (ERI), clindamicina (CLI), van-

comicina (VAN), rifampicina (RIF), levofloxacina (LEV). También se utilizó concentración inhibitoria mínima (CIM) parapenicilina (PEN) y cefotaxima (CTX), según recomendaciones del CLSI 2013[27]. Se definió como multirresistente a todo aquel aislamiento con resistencia a 3 o más familias de antimicrobianos [28].

A todos los casos sospechosos, con y sin aislamiento del microorganismo se los caracterizó genotípicamente, a través de la detección del gen *lytA* [29] en el laboratorio de la Especialidad de Microbiología Clínica de la FCEQyN-UNaM.

Se consideró “caso” a todo episodio en el cual se identificó la presencia de *Streptococcus pneumoniae* en algún líquido de punción obtenido; y el paciente constituyó la unidad analítica. En aquellos casos en que se aisló *S. pneumoniae* desde más de un tipo de muestra, en un mismo paciente, se consideró solo una de éstas para su análisis.

Las variables recogidas a través de las fichas epidemiológicas fueron:

- Estación del año de ocurrencia del caso: otoño (S.E. 2013: 12 a 25), invierno (S.E.- 2013: 26 - 38), primavera (S.E. 39-51) y verano (S.E. 51 - 11).
  - Grupo etario: lactantes ( $\leq 2$  años), preescolares ( $> 2$  años  $< 5$  años) y escolares ( $\geq 5$  años  $< 15$  años).
  - Género: masculino, femenino.
  - Cumplimiento con el esquema de inmunización: para los fines del trabajo sólo se tuvo en cuenta la vacuna antineumocócica y se consideró: a- Correctamente vacunado: número de dosis aplicada en concordancia al esquema de inmunización, según la edad. b- Incorrectamente vacunado: esquema incompleto para la edad; c- No vacunados: pacientes que no recibieron ninguna dosis, sin carnet sin documentación que certifique la vacunación recibida.
  - Lactancia materna (considerada en  $< 1$  año): ausencia, insuficiente ( $< 6$  meses), suficiente ( $\geq 6$  meses).
  - Comorbilidad: pacientes con enfermedad pulmonar, enfermedad cardiovascular, enfermedad renal, hematológica, código 70 y otras inmunodeficiencias.
  - Estado nutricional actual: eutrófico, bajo peso (incluye bajo peso, desnutridos de grado I y II), en función de la clasificación de la Sociedad Argentina de Pediatría (SAP) [30].
  - Hacinamiento: convivencia en una misma habitación de 3 o más personas por más de 4 horas, ya sea en el hogar o asistencia a guarderías.
  - Nivel de Instrucción del padre y madre: sin estudios, estudios primarios incompletos, estudios primarios completos, estudios secundarios incompletos, estudios secundarios completos, estudios terciarios/universitarios completos.
  - Tratamiento previo (48 h previas a la toma del material clínico): presencia o ausencia.
- En todos los casos se consideró la categoría “sin datos”. Se confeccionó una base de datos en Microsoft Excel,

con las variables recolectadas de cada paciente, la cual se codificó para permitir su ingreso y posterior análisis de media y frecuencia absoluta, con el programa Epi-info versión 7 (CDC).

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética del HPPy cada ficha epidemiológica se completó después de la lectura y firma del consentimiento informado. Además, se cumplió con la Ley 25.326 de protección de los datos personales.

## Resultados

Durante el período de estudio se diagnosticaron y documentaron 23 casos de EISpn: 18 en el HPP y 5 en el SAMIC Oberá. Los casos ocurrieron durante todo el año, 4,4% (1) en otoño, 30,4% (7) en invierno, 47,8% (11) en primavera y 17,4% (4) durante el verano.

La media de edad de los pacientes fue de 65,5 meses, distribuidos en los siguientes rangos etarios: lactantes 18,4% (n = 4), preescolares 43,5% (n = 10) y escolares 39,1% (n = 9). Se observó una relación varón: mujer de 1,87: 1.

Tres niños (13%) habían recibido tratamiento antibiótico previo a la internación.

Se diagnosticaron 16 casos de neumonía (69,6%), de las cuales 6 cursaron con derrame, 5 casos de meningitis (21,7%) y 2 casos de sepsis (8,7%). Las neumonías predominaron en los pacientes mayores de 2 años (Tabla N°1).

**Tabla N° 1:** Distribución de los diagnósticos en función de los grupos etarios.

Grupo etario	Diagnóstico		
	Neumonía	Meningitis	Sepsis
Lactantes	1 (4,3%)	2 (8,6%)	1 (4,3%)
Preescolares	9 (39,2%)	-	1 (4,3%)
Escolares	6 (26,2%)	3 (13,1%)	-

La recuperación del microorganismo se efectuó en 21 casos; en 9 de ellos a partir de hemocultivos (42,8%), 7 (33,3%) de LPP y 2 (9,6%) de LCR. En 3 (14,3%) casos el aislamiento se efectuó simultáneamente en hemocultivos y en líquidos de punción (LPP2, LCR 1). En dos pacientes el diagnóstico se realizó mediante serología (látex) y biología molecular, sin aislamiento del microorganismo.

De los 21 aislamientos que se enviaron a serotipar, cuatro de ellos correspondieron al serotipo 1 y uno al serotipo 12F, 16 aislamientos están pendientes de respuesta.

Cinco aislamientos no estuvieron disponibles, por pérdida de viabilidad, al momento de efectuar los estudios de sensibilidad a los antimicrobianos (Tabla N° 2). Se obtuvieron resultados de concentración inhibitoria mínima para penicilina (CIMpen)  $\leq 0,06$   $\mu\text{g/ml}$  en 10 (64,5%) aislamientos, CIMpen de 0,12 a 1  $\mu\text{g/ml}$  en seis (35,5%) cepas. No se registraron Spn con CIMpen  $\geq 2$   $\mu\text{g/ml}$ . Todos los neumococos presentaron CIM de cefotaximamenuores de 0,5  $\mu\text{g/ml}$ .

**Tabla N° 2:** Perfiles de resistencia de *Streptococcus pneumoniae* aislados de infecciones invasivas, (n=17).

Clasificación	Antimicrobianos						
	TET*	TMS†	ERY‡	CLIN§	VAN	RIF¶	LEVO**
Sensible	10 (58,9%)	8 (47%)	13 (76,5%)	13 (76,5%)	14 (82,4%)	14 (82,4%)	15 (88,25%)
Intermedio	1 (5,9%)	-	-	-	-	-	-
Resistente	3 (17,6%)	6 (35,4%)	2 (11,75%)	1 (5,9%)	-	-	-
Sin datos	3 (17,6%)	3 (17,6%)	2 (11,75%)	3 (17,6%)	3 (17,6%)	3 (17,6%)	2 (11,75%)
N° de casos	17 (100%)	17 (100%)	17 (100%)	17 (100%)	17 (100%)	17 (100%)	17 (100%)

\*tetraciclina, †trimetoprima-sulfametoxazol, ‡eritromicina, §clindamicina, ||vancomicina, ¶rifampicina, \*\* levofloxacina.

De los seis aislamientos con CIM pen mayor de 0,06 ug/ml, cuatro se recuperaron de pacientes con diagnóstico de neumonía y los dos restantes se asociaron a meningitis. Los casos se distribuyeron uniformemente en todos los grupos etarios.

Se establecieron cinco perfiles de resistencia en siete aislamientos: TMS (2), ERY (1), TMS + PEN (1), TMS+TET (2), TMS+TET+ERY+CLIN+PEN (1). El aislamiento con multiresistencia correspondió a un lactante con diagnóstico de meningitis.

En lo que respecta a la presencia de factores de riesgo intrínsecos y extrínsecos no observamos predominio en la frecuencia de ninguno de ellos (Tablas N° 3 y N° 4).

Un porcentaje importante de pacientes ingresó a los centros de salud sin carnet de vacunación (34,8%). Constatamos ausencia de inmunización activa en diez pacientes (43,48%) mayores de 2 años (Tabla N° 3).

**Tabla N° 3:** Factores de riesgo intrínsecos, en pacientes internados con diagnóstico de EISpn.

Factores de riesgo intrínsecos al paciente, n = 23		
	Categorías	Porcentaje de resencia (n)
Género	Femenino	34,8% (8)
	Masculino	65,2% (15)
Inmunización activa (vacunación)	Correctamente vacunado	13% (3)
	Incorrectamente vacunado	8,7% (2)
	No vacunados	43,5% (10)
	Sin carnet	34,8% (8)
Comorbilidad	Presencia	17,4% (4)
	Ausencia	82,6% (19)
Estado Nutricional	Eutrófico	82,6% (19)
	Bajo peso	17,4% (4)

**Tabla N° 4:** Factores de riesgo extrínsecos, en pacientes internados con diagnóstico de EISpn.

Factores de riesgos extrínsecos al paciente, n = 23		
	Categorías	Porcentaje de presencia (n)
Hacinamiento	Si	21,8% (5)
	No	39,1% (9)
	Sin datos	39,1% (9)
Nivel de instrucción de la madre	Primaria incompleta	21,7% (5)
	Primaria completa	17,4% (4)
	Secundaria incompleta	13,1% (3)
	Secundaria completa	17,4% (4)
	Terciario/univers. completo	8,7% (2)
	Sin datos	21,7% (5)
Nivel de instrucción del padre	Primaria incompleta	17,4% (4)
	Primaria completa	21,6% (5)
	Secundaria incompleta	4,4% (1)
	Secundaria completa	8,7% (2)
	Terciario/univers. completo	4,4% (1)
	Sin datos	43,5% (10)
Polución (fuma y/o quema)	Presencia	17,4% (4)
	Ausencia	47,8% (11)
	Sin datos	34,8% (8)

El 17,4% (4) de los pacientes presentaron bajo peso al momento de internación. De los tres pacientes menores de un año, dos niños recibieron lactancia materna insuficiente.

Dos de los tres pacientes correctamente vacunados, eran preescolares con diagnóstico de neumonía que vivían en condiciones de hacinamiento; el tercero era un lactante, con diagnóstico de meningitis, quien recibió la primer dosis de la vacuna, pero presentaba bajo peso.

Al analizar las características de los pacientes en los que se aisló Spn serotipo 1 observamos que tres niños no estaban vacunados, todos eran mayores de 2 años de edad, y dos de ellos se caracterizaban por vivir hacinados. El cuarto neumococo serotipo 1 se aisló en el lactante correctamente vacunado mencionado anteriormente.

Del total de pacientes, 15 (65,2%) fueron dados de alta sin secuelas, uno (4,4%) con secuelas neurológicas, tres (13%) pacientes fallecieron, dos (8,7%) se fugaron, y dos (8,7%) fueron derivados a otros centros de salud.

**Discusión**

La vigilancia en este período detectó 18 casos de EISpn, atendidos en el Hospital Provincial de Pediatría, valor inferior a los 34 casos anuales registrado entre 1998 y 2001[13] y a los 26 casos de EISpn/año, presentes en el período de 2004 – 2008[14], en el mismo nosocomio. Si bien se recuperó el microorganismo a lo largo de todo el año, el mayor porcentaje ocurrió en invierno y primavera, lo que concuerda con lo representado por otros trabajos[3, 13, 14, 18].

El predominio del género masculino observado fuereportado por otros autores[3], [14], [31], [32], [33], [34]

y fue destacado en informes SIREVA Argentina 2011 y 2012, en una relación 1,16:1 y 1,26:1, respectivamente [35, 12].

A pesar de que la documentación bacteriológica por hemocultivos se logra en bajo porcentaje, éstas muestras, en nuestro estudio y otros similares, son las que más aportan a la recuperación de *Spn* en enfermedades invasivas [13, 14].

La edad fue considerada como un factor de riesgo modificable tras la vacunación antineumocócica [31]. Mientras que estudios de vigilancia prevacunales [3, 13, 14, 34] detectaron la mayor frecuencia de EISpn en lactantes menores de 2 años, en el presente trabajo los más afectados fueron los niños mayores de 2 años (83%), cifras similares a las informadas por SIREVA Argentina 2012, que registró el mayor número de aislamientos invasores en niños con edades entre 2 y 5 años [12].

Al igual que los registros del grupo SIREVA Argentina 2011 [35] y 2012 [12] y otros estudios [13, 14, 31, 34], las infecciones invasivas que predominaron en todos los grupos etarios son las neumonías, con y sin derrame.

Los niveles de sensibilidad hallados a los diversos antimicrobianos no  $\beta$ -lactámicos ensayados y los perfiles de resistencia revelados, son similares a los reportados en nuestra región en años anteriores [13].

En concordancia con informes locales [14, 36] y regionales [35, 12] se observa el predominio de la sensibilidad a penicilina, tanto para infecciones meningéas como para las no meningéas.

Si bien, a partir de los años 90 en el HPP, [13, 30, 38], se registró un aumento de cepas con sensibilidad disminuida a cefotaxima, actualmente, al igual que en otros informes de vigilancia [12, 14, 35], éstas no fueron detectadas, lo que indica que el uso de cefalosporinas de tercera generación constituye una alternativa útil para el tratamiento empírico inicial en casos sospechosos de meningitis bacterianas por este agente.

Estudios prevacunales realizados en Misiones [12] y en Argentina [13, 36], señalan a los serotipos 14, 5 y 1 como los más frecuentes en infecciones invasivas, no así el 12F cuya frecuencia, varía entre un 1,1% y un 3,3% [12, 35, 42]. Como se esperaba los neumococos del serotipo 1, se aislaron en pacientes sin inmunización activa y en un lactante con una dosis de vacuna, insuficiente para asegurar una respuesta inmunológica adecuada<sup>17, 41</sup>, mientras que el serotipo 12F, no incluido en la formulación vacunal, se recuperó de un paciente con esquema de inmunización completo [17].

La mayor susceptibilidad a infecciones se explica parcialmente por la presencia de antecedentes clínicos, genéticos y socioeconómicos entre otros, conocidos como factores de riesgo intrínsecos y extrínsecos al paciente [9, 10].

En este trabajo se observó la presencia de todos los factores o variables evaluadas, con diferentes frecuencias y sin predominio absoluto de alguno de ellos, como las condiciones de hacinamiento en las que vivían pacientes correctamente vacunados [42, 44].

## Conclusión

Los datos obtenidos son la primera medición documentada, en nuestra región, de la epidemiología y los factores de riesgo asociados a la adquisición de EISpn después de la introducción de la vacuna conjugada antineumocócica al calendario nacional de inmunizaciones.

A partir de los resultados obtenidos, consideramos necesario continuar con la vigilancia activa de enfermedades invasivas en pediatría.

## Bibliografía

1. **American Academy of Pediatrics.** *Pneumococcal infections.* En: Pickering L, editor. Red Book: 2003. Report of the committee on infectious diseases. 26th ed. Elk Grove Village, IL: Am. Ac Pediatr; 2003: 490 – 500.
2. **Organización Panamericana de la Salud.** *Manual para la vigilancia de Streptococcus pneumoniae y Haemophilus influenzae.* Colombia: Instituto Nacional de la Salud. 2001, 78: 111 – 117.
3. **Ruvinsky, R.; Regueira, M.; et al.** *Infecciones invasivas por Streptococcus pneumoniae: estudio epidemiológico e importancia del desarrollo de un sistema de vigilancia.* Arch Pediatr Urug 2004; 75: 91-103.
4. **Boletín epidemiológico de OPS.** Infecciones respiratorias agudas en las Américas 1995; 16: 1 -5.
5. **Jkolhede, CL.; Gadomsky, AM.; et al.** *Clinical trial of vitamin A as adjuvant treatment for lower respiratory tract infections.* J Pediatr 1995: 126:807-12.
6. **Ruvinsky, R.; Balanzat, A.** *Neumonías bacterianas y virales.* En: Benguigui, Y., López Antuñano, FJ.; Schumunits, GM.; Yañez, J. Infecciones respiratorias en niños. OPS/OMS, 1997:215-249.
7. **Nova, E.; Montero, A.; Gómez, S.; Marcos, A.** *La estrecha relación entre la nutrición y el sistema inmunitario.* Soporte Nutricional en el Paciente Oncológico. Capítulo 1. 2005. Disponible en: [www.seom.org/seomcms/images/stories/recursos/infopublico/publicaciones/soporteNutricional/pdf/cap\\_01.pdf](http://www.seom.org/seomcms/images/stories/recursos/infopublico/publicaciones/soporteNutricional/pdf/cap_01.pdf)
8. **Riverón Corteguera, R.** *Valor inmunológico de la leche materna.* Rev. Cubana Pediatr. 1995;67(2):116-28.
9. **Prieto Herrera, ME.; Russ Durán, G.; Reitor Landrian, L.** *Factores de riesgo de infecciones respiratorias agudas en menores de 5 años.* Rev. Cubana Med. Gen Integr. 2000;16(2):160-4.
10. **Barrios Casas, S.; Peña-Cortés, F.; Osses Bustingorry, S.** *Efectos de la contaminación atmosférica por material particulado en las enfermedades respiratorias agudas en menores de 5 años.* Ciencia y Enfermería x(2): 21-29,2004. Disponible en: [www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-95532004000200004](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95532004000200004)
11. **SIREVA II (Sistema de Redes de Vigilancia de los Agentes Responsables de Neumonías y Meningitis Bacterianas).**



- OPS – OMS. Disponible en: [www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=category&layout=blog&id=3609&Itemid=3953](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=3609&Itemid=3953)
12. **Informe Regional de SIREVA II, 2012.** *Datos por país y por grupos de edad sobre las características de los aislamientos de Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae y Neisseriameningitidis, en procesos invasores.* Vigilancia Sanitaria, Prevención y Control de Enfermedades (HSD) Regulaciones Sanitarias Internacionales, Alerta y Respuesta y Enfermedades Epidémicas (HSD/IR). Disponible en: [www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&gid=22372&Itemid=270&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=22372&Itemid=270&lang=es)
  13. **Grenón, S.; Von Specht, M. et al.** *Distribución de serotipos y perfiles de sensibilidad a los antimicrobianos de cepas de Streptococcus pneumoniae aisladas en niños en Misiones, Argentina.* En *Infecc. Microbiol Clin.* 2005;23(1): 10 – 15.
  14. **Grenón, S.; Von Specht, M.; et al.** *Enfermedad invasiva neumocócica en pediatría: cinco años de vigilancia de la resistencia a  $\beta$ -lactámicos en Misiones, Argentina.* *Rev. Cienc. Tecnol.* 2009; Año 11(12):34–40
  15. **Vizzotti, Pippo T., et al.** *Estudio costo – efectividad. Vacuna neumococo conjugada.* Argentina. Ministerio de Salud Pública. 2009. Disponible en [www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000641cnt-20-estudio-costo-efectividad-vac-neumoc-agosto\\_2010.pdf](http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000641cnt-20-estudio-costo-efectividad-vac-neumoc-agosto_2010.pdf)
  16. **Resolución 502/2011.** *Ministerio de Salud de la República Argentina.* Disponible en: [www.msal.gov.ar/pronacei/index.php/institucional/marco-legal/375-resolucion-5022011](http://www.msal.gov.ar/pronacei/index.php/institucional/marco-legal/375-resolucion-5022011)
  17. **Gaiano, A.; Katz, N., et al.** *Introducción de la vacuna neumocócica conjugada al calendario nacional de inmunizaciones de la república argentina.* Manual del vacunador, Lineamientos técnicos. Ministerio de Salud Pública. Argentina, 2011. Disponible en: [www.msal.gov.ar/images/stories/epidemiologia/inmunizaciones/lineamientos-neumococo-25-11-2011.pdf](http://www.msal.gov.ar/images/stories/epidemiologia/inmunizaciones/lineamientos-neumococo-25-11-2011.pdf)
  18. **Gentile, A.; Ruvinsky, R., et al.** *Sociedad Argentina de Pediatría. Comité Nacional de Infectología.* Prioridades para la incorporación de vacunas al calendario nacional. Vacunas neumocócicas. 2011(5):63–82. Disponible en: [/www.sap.org.ar/docs/publicaciones/ConsensoVacunas2011.pdf](http://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/ConsensoVacunas2011.pdf)
  19. **Cantero, A.** *Dinámica fronteriza entre Posadas (Argentina) y Encarnación (Paraguay).* Contribuciones Científicas GAEA, Vol. 25 Pág. 61-70. 2013. Disponible en: [http://gaea.org.ar/contribuciones/Contribuciones2013/Cantero\\_2013.pdf](http://gaea.org.ar/contribuciones/Contribuciones2013/Cantero_2013.pdf)
  20. **Abinzano, RC.** *El frente extractivista: una formación socioeconómica y espacial transfronteriza (Argentina, Brasil y Paraguay 1865-1930).* En Cuadernos de la Frontera. Año I, N° II. Posadas 2004b.
  21. **Abinzano, RC.** *Proyecto HANUIN: Hacer nuestra la integración.* En Cuadernos de la Frontera. Año I, N° I. Posadas 2003.
  22. **Perilla, MJ.; Knapp, J., et al.** *Manual de Laboratorio para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la Salud Pública en el mundo en desarrollo.* Haemophilus influenzae, Neisseriameningitidis, Streptococcus pneumoniae, Neisseria gonorrhoeae, Salmonella serotipo Typhi y Vibrio cholerae. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Atlanta, Georgia, EUA. 2004. Disponible en: [www.who.int/drugresistance/infosharing/WHO-CDS\\_CSR\\_RMD\\_2003\\_6\\_Manual\\_Laboratorio.pdf](http://www.who.int/drugresistance/infosharing/WHO-CDS_CSR_RMD_2003_6_Manual_Laboratorio.pdf)
  23. **Murray, P.; Rosenthal, K.; Pfaller, M.** *Microbiología Médica. 5ª Edición.* Ed. Elsevier España. Cap. 23: p. 252-258. 2006.
  24. **Musher, D.** *Streptococcus pneumoniae.* En: *Mandel, GL.; Bennet, JE.; Dolin, RB.* *Enfermedades Infecciosas, principios y práctica.* 7ª Ed, Vol. I. Ed. Elsevier, Cap. 200: 2627–2648. 2012.
  25. **Winn, W.; Kome, A., et al.** *Diagnóstico Microbiológico, Texto y Atlas color.* 6ª Edición. Parte II. Ed. Médica Panamericana. Cap. 13: 656 – 658. 2006.
  26. **CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute:** “Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-third informational supplement”. Disk diffusion. Document M100-S23. 2013. Wayne, PA, EE.UU, 2013.
  27. **CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute:** “Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, Approved standard: 8th edition”. Document M7-A10. 2013. Wayne, PA, EE.UU, 2013.
  28. **Agudelo, Cl.; Regueira, M.; et al.** *Resistencia a antibióticos no betalactámicos de aislamientos invasores de Streptococcus pneumoniae en niños latinoamericanos.* *SIREVA II, 2000–2005.* *Rev. Panam Salud Pública/Pan Am J Public Health* 25(4), 2009.
  29. **Ubukata, K.; Konno, M.; et al.** *Combinational detection of autolysin and penicillin-binding protein 2B genes of Streptococcus pneumoniae by PCR.* *J Clin Microbiol.* 1996, 34(3):592.
  30. **Fano, V.; Hirsch, G.; et al.** *Guías para la evaluación del crecimiento.* Sociedad Argentina de Pediatría. 2da edición (reimpresión). 2004. Disponible en [www.sap.org.ar/staticfiles/percentilos/graficos/completo.pdf](http://www.sap.org.ar/staticfiles/percentilos/graficos/completo.pdf)
  31. **Ruvinsky, R.** *Streptococcus pneumoniae.* Un antiguo patógeno generando la emergencia de nuevos problemas epidemiológicos en el campo pediátrico. *Arch Argent Pediatr* 2001; 99:101 – 4.
  32. **Mollerach, M.; Regueira, M.; et al.** *Streptococcus pneumoniae Working Group.* Invasive Streptococcus pneumoniae isolates from Argentinan children: serotypes, families of pneumococcal surface protein A (PspA) and genetic diversity. *Epidemiol Infect* 2004;132(2):177–184.

33. Di Fabio, J.L.; Agudelo, C.; *et al.* *Evolution of Streptococcus pneumoniae serotypes and penicillin susceptibility in Latin America*, SIREVA-VIGIA Group, 1993 to 1999 *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20: 959 – 67.
34. Ruvinsky, R. *Epidemiología de las infecciones invasivas por Streptococcus pneumoniae en la Argentina: un sistema de vigilancia, 1993 – 2004*. *Rev. Hospital Niños Bs. As.* Vol 47 N°214 (SIREVA) 2005.
35. **Informe Regional de SIREVA II, 2011. Datos por país y por grupos de edad sobre las características de los aislamientos de Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae y Neisseria meningitidis, en procesos invasores.** OPS. Washington D.C., 2012. Disponible en: [www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&gid=19210&Itemid=270&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=19210&Itemid=270&lang=es)
36. Grenón, S.; Von Specht, M.; *et al.* *Meningitis neumocócica en niños menores de 15 años*. Dieciséis años de vigilancia epidemiológica en Misiones, Argentina. *Rev Argent Microbiol.* 2014; 46(1):14-23.
37. Ruvinsky, R. *Las infecciones invasivas por Streptococcus pneumoniae: una problemática del siglo XXI*. Disponible en: [www.slipe.org/documentos/rubinsky\\_SlipeSpn.doc](http://www.slipe.org/documentos/rubinsky_SlipeSpn.doc).
38. Espin, M.J.; Ruiz, J.; *et al.* *Invasive pneumococcal disease in children in the region of Murcia (Spain)*. *Gacet Sanit.* 2002;16(5): 385–391.
39. Ruvinsky, R.; Gentile, A.; *et al.* *Infecciones invasivas por Streptococcus pneumoniae en niños menores de 5 años en Argentina: estudio epidemiológico e importancia del desarrollo de un sistema de vigilancia*. *Arch Argent Pediatr.* 2002 100 (1): 31-43.
40. Batuwanthudawe, R.; AbeySinghe, N.; *et al.* *Surveillance of invasive pneumococcal disease in Colombo, Sri Lanka*. *Clin. Infect. Dis.* 2009. 1; 48 Suppl. 2:136–40.
41. Galicchio, M. *Bases inmunológicas de las vacunas. Módulo I. Curso a distancia “Actualización en inmunizaciones” Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez*. Buenos Aires, Argentina Mayo 2014. Disponible en: [www.vacunashnrg.com.ar](http://www.vacunashnrg.com.ar)
42. Reijtman, V.; Lopardo, H.; *et al.* *Serotype distribution of pneumococci isolated from pediatric patients with acute otitis media and invasive infections, and potential coverage of pneumococcal conjugated vaccines*. *Rev Argent Microbiol.* 2013; 45: 27-33.
43. Nandí Lozano, E.; Ávila Figueroa, C.; *et al.* *Infección respiratoria aguda en niños que acuden a un centro de desarrollo infantil*. *Rev. Salud Públ. Méx.* 2002, 44 (3): 201-206.
44. Victora, C.G. *Factores de riesgo en las IRA bajas. Infecciones respiratorias en niños*. Cáp. 3: 45-63. Disponible en: [www.pmi.salta.gov.ar/CampanaI2013/contenidos/aiepi1-1-3.pdf](http://www.pmi.salta.gov.ar/CampanaI2013/contenidos/aiepi1-1-3.pdf)

Recibido: 13/04/2016.

Aprobado: 25/07/2016.

RECYT

Año 19 / N° 27 / 2017 / 11–22

## Diseño de péptidos inhibidores de interacciones de la subunidad GluN2B del receptor NMDA en isquemia

Edwin Alfredo Reyes Guzmán<sup>1,\*</sup>, Nohora Angélica Vega Castro<sup>1</sup>, Edgar Antonio Reyes Montano<sup>1</sup>

1– Universidad Nacional de Colombia, Colombia.

\* E-mail: eareyesm@unal.edu.co

### Resumen

El receptor NMDA constituye el principal subtipo de receptores de glutamato implicados en procesos fisiológicos tales como desarrollo neuronal, plasticidad sináptica, memoria y aprendizaje y numerosas condiciones patológicas como daño isquémico, dolor crónico, psicosis, y otros trastornos degenerativos. Se ha sugerido la regulación por fosforilación como un mecanismo de alteración de la permeabilidad relativa del NMDAR a  $Ca^{2+}$  durante la isquemia. En este trabajo se diseñó una serie de péptidos basados en interacciones de la subunidad GluN2B con las proteínas DAPK1, SRC y D2R, relacionadas con los efectos generados tras un evento isquémico. La identificación de sitios de unión entre estas moléculas y GluN2B permitió hacer un diseño *in silico* de péptidos que eventualmente pueden bloquear dichas interacciones y reducir los efectos nocivos de patologías como la isquemia. Nuestros resultados demuestran que el diseño racional de péptidos es una buena estrategia para la generación de nuevos agentes terapéuticos.

Palabras clave: NMDA, Isquemia, Péptidos, Diseño, *in silico*.

### Abstract

The NMDA receptor is the major subtype of glutamate receptors involved in physiological processes such as neuronal development, synaptic plasticity, learning and memory and numerous pathological conditions such as ischemic damage, chronic pain, psychosis, and other neurodegenerative disorders. It has been suggested regulation by phosphorylation as a mechanism altering the relative permeability of the NMDAR to  $Ca^{2+}$  during ischemia. This paper presents a series of peptides that were designed based on GluN2B subunit interactions with proteins DAPK1, SRC and D2R related to the effects generated after an ischemic event. The identification of binding sites among these molecules and GluN2B allowed to make an *in silico* design of peptides that can eventually block these interactions and reduce the harmful effects of diseases such as ischemia. Our results demonstrate that the rational design of peptides is a good strategy to generate new therapeutic agents.

Keywords: NMDA, ischemia, design, peptides, *in silico*.

### Resumo

O receptor de NMDA é o subtipo de receptores de glutamato envolvidos em processos fisiológicos tais como o desenvolvimento neuronal, plasticidade sináptica, aprendizagem e memória e numerosas condições patológicas tais como lesão isquêmica, dor crônica, psicose, e outras desordens neurodegenerativas. Tem sido sugerido por regulação da fosforilação de um mecanismo de alterar a permeabilidade relativa do NMDAR ao  $Ca^{2+}$  durante isquemia. Este artigo apresenta uma série de peptídeos com base em interações de subunidades GluN2B com proteínas DAPK1, SRC e D2R relacionados com os efeitos gerados após um evento isquêmico foi projetado. A identificação de sítios entre estas moléculas e GluN2B ligação permissão para fazer um desenho *in silico* de péptidos que podem, eventualmente, bloquear estas interações e reduzir os efeitos prejudiciais das doenças tais como a isquemia. Os nossos resultados demonstram que a concepção racional de péptidos é uma boa estratégia para gerar novos agentes terapêuticos.

Palavras-chave: NMDA, isquemia, Peptídeos, design, *in silico*.

## Introducción

El receptor N-Metil-D-Aspartato (NMDA) constituye el principal subtipo de receptores de glutamato y normalmente participa en la transmisión sináptica excitatoria rápida. Estos receptores se expresan ampliamente, y han sido implicados en procesos fisiológicos tales como el desarrollo neuronal, plasticidad sináptica, memoria y aprendizaje y numerosas condiciones patológicas [1]. También se ha involucrado al NMDAR, en procesos como el daño isquémico [2], dolor crónico, psicosis, y los principales trastornos degenerativos como el Parkinson y la enfermedad de Alzheimer [3, 4].

Los receptores NMDA se presentan principalmente como conjuntos de tetrámeros de dos subunidades GluN1 de unión de glicina y dos subunidades de unión a glutamato, de los cuales hay cuatro tipos (GluN2A, GluN2B, GluN2C y GluN2D). Ambos tipos de subunidades GluN2A y GluN2B son consideradas como las principales para el funcionamiento de los receptores NMDA en las neuronas del sistema nervioso central (SNC) [5].

La subunidad GluN2 controla una amplia gama de propiedades funcionales de los receptores NMDA, y se expresa diferencialmente en todo el Sistema Nervioso Central (SNC) [6, 7]. Cada subunidad del receptor NMDA está compuesta de cuatro dominios, que incluyen el dominio amino terminal extracelular (ATD), el dominio de unión a ligando extracelular (LBD), el dominio transmembranal (TMD) y el dominio carboxilo-terminal intracelular (CTD) [8]. El dominio CTD media las interacciones del receptor NMDA con múltiples proteínas sinápticas y de citoesqueleto que permiten la regulación del tráfico a nivel sináptico y la función del receptor [9].

A nivel fisiológico los receptores NMDA están bloqueados en el poro de permeación por un ion  $Mg^{2+}$  mecanismo que es voltaje-dependiente. La funcionalidad del NMDAR está dada por la unión del ligando glutamato y el coagonista glicina, así como del desbloqueo voltaje-dependiente a nivel del poro [4].

Los receptores NMDA son altamente permeables a  $Ca^{2+}$  y  $Na^{+}$ . La permeabilidad iónica de  $Na^{+}$  producto de la activación de otra familia de receptores de glutamato (AMPA) contribuye a la despolarización de la membrana, y el influjo del calcio exógeno vía NMDAR genera el calcio transitorio responsable de los efectos fisiológicos [10]. Sin embargo los receptores NMDA están involucrados en procesos que resultan tóxicos para la funcionalidad celular, particularmente la capacidad de permeación de  $Ca^{2+}$ , el cual se convierte en un mediador de la muerte neuronal.

Dado el complejo funcionamiento del receptor NMDA en la transmisión sináptica, procesos de memoria y aprendizaje y que está altamente implicado en procesos patológicos como el daño isquémico, la farmacología en relación a la regulación del receptor se ha centrado en probar antagonistas dirigidos al sitio de unión de glutamato, al

sitio de unión de la glicina, al canal y a sitios de regulación alostérica del receptor, todos como agentes neuroprotectores en múltiples ensayos preclínicos, sin embargo estos acercamientos han fallado [11-17]. En el caso de agentes bloqueadores del canal (aptiganel, Cerestat; CNS 1102), y del sitio de unión a glutamato, los niveles de antagonismo necesarios para generar neuroprotección, afectan la función cardiovascular y alteran la cognición (efectos psicóticos) [15, 17]. Gavestinel (GV150526), dirigido al sitio de unión a glicina, también falló en la neuroprotección deseada [18]. Un antagonista selectivo de la subunidad GluN2B CP-101,606 es aparentemente insuficiente para protección del daño isquémico severo [19]. En otro tipo de patologías como Alzheimer y Parkinson el agente Memantina ha presentado resultados prometedores dada su baja afinidad y rápida cinética de disociación, características que no presentan los antagonistas clásicos [20].

El complejo GluN1/GluN2B extrasináptico del NMDAR, juega un papel importante en la isquemia cerebral. Se ha sugerido la regulación por fosforilación como un mecanismo de alteración de la permeabilidad relativa del NMDAR a  $Ca^{2+}$  durante la isquemia [21]. La isquemia aumenta diferencialmente la fosforilación de tirosinas y serinas en el CTD de la subunidad GluN2B, reclutando proteínas como DAPK1 al complejo GluN1/GluN2B, DAPK1 interactúa física y funcionalmente con el C-terminal a nivel de la Ser 1303 de la subunidad GluN2B, ésta interacción actúa como un mediador central para el daño excitotóxico [21]. Así mismo, SRC, un miembro de la familia de proteínas quinasas (SFKs), contribuye al daño cerebral y potencia la actividad de los receptores NMDA en la isquemia a través de la fosforilación de la Tyr 1472 de la subunidad GluN2B [22, 23]. Por su parte el receptor de dopamina D2 (D2R) interactúa directamente con la Ser 1303 de GluN2B, afectando la fosforilación de la Ser 1303 que está mediada por la proteína quinasa II dependiente de calmodulina (CaMKII), y que regula la actividad y el tráfico del receptor NMDA [24, 25].

Dado que a la fecha no hay un tratamiento farmacológico eficaz para regular los procesos involucrados en las patologías dependientes del receptor N-Metil-D-Aspartato (NMDA), se hace necesaria la búsqueda de nuevos fármacos o farmacoterapia dirigida hacia los diferentes sitios moduladores del receptor NMDA.

En este estudio se generó una pequeña librería de péptidos candidatos como inhibidores de interacciones proteína-proteína, mutando sistemáticamente los residuos de péptidos derivados de las interacciones de las proteínas DAPK1, SRC y D2R con la subunidad GluN2B del receptor NMDA, la cual ha sido altamente involucrada en el daño isquémico y otras patologías [21, 26, 27]. Los residuos aminoacídicos se sustituyeron por residuos con los que comparten características químicas similares y las mutaciones fueron evaluadas a través de una simulación de acoplamiento molecular para determinar si se aumen-

taba la afinidad de unión de los péptidos mutados respecto a los péptidos originales. Los complejos péptido-receptor que presentaron valores de energía de unión mayor, fueron refinados optimizando el esqueleto peptídico y la orientación de la conformación de cada péptido y se analizó las interacciones que favorecieron ese complejo: con base en lo anterior se propusieron 12 péptidos para ser evaluados funcionalmente en trabajos posteriores.

## Materiales y Métodos

### Identificación de las interacciones entre proteínas

Se conoce experimentalmente que hay interacción directa entre las proteínas DAPK1 [21], SRC [23] y D2R [24] con el dominio carboxilo terminal intracelular de la subunidad GluN2B del receptor N-Metil-D-Aspartato (NMDA). Para validar esas interacciones directas entre las proteínas mencionadas con la subunidad GluN2B, se hizo uso de la herramienta String versión 9.05 (<http://string-db.org/>) [28], que es una base de datos que permite una selección de interacciones directas (físicas) e indirectas (asociaciones funcionales) entre proteínas. La base de datos String, presenta interacciones conocidas entre proteína-proteína a partir del contexto genómico y resultados experimentales.

La búsqueda de interacciones se realizó introduciendo los nombres de los pares de proteínas en el espacio de búsqueda para múltiples proteínas (ejemplo; GluN2B y DAPK1), se escogió como organismo “*Homo sapiens*, *Mus musculus* y *Rattus norvegicus*” en todas las búsquedas, ya que corresponden a los organismos para los cuales String tiene mayor información. Una vez String arrojó el mapa de resultados, que presenta las interacciones a través de líneas conectoras entre cada proteína junto con un puntaje (score) de cada interacción, se realizó la selección de las interacciones de nuestro interés (GluN2B-DAPK1, GluN2B-SRC, GluN2B-D2R) y se obtuvo la secuencia de cada proteína y las secuencias específicas de interacción de acuerdo a los reportes de literatura obtenidos por String. Para determinar si los segmentos o zonas de interacción entre proteínas estaban conservados en las tres especies mencionadas anteriormente, se realizaron alineamientos múltiples usando el programa Clustal Omega V1.2.1 (matriz PAM 250) (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) [29].

### Selección de las estructuras “PDB” y/o generación por modelamiento estructural

Para la selección de las estructuras tridimensionales de las proteínas GluN2B y DAPK1 se realizó una búsqueda en la base de datos Protein Data Bank, PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>) [30]. La proteína GluN2B no presentó estructura tridimensional reportada en PDB de forma que se realizó modelamiento de la estructura

tridimensional mediante el servidor I-TASSER (server for protein structure and function prediction. <http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/>) [31]. El resultado del modelamiento fue sometido a validación del modelo estructural mediante la herramienta PDBsum (<http://www.ebi.ac.uk/pdbsum/>) [32], que permite determinar una serie de parámetros como los perfiles de hidrofobicidad de cada modelo, accesibilidad a solvente, predicción de sitios de unión a ligandos y análisis de diagramas de Ramachandran (Procheck) para evaluar correspondencias en estructura secundaria, esto se hizo para todos los modelos descritos a continuación.

- **GluN2B.** Se realizó modelamiento de toda la proteína (1482 a.a), así como de la zona extracelular (dominios LBD y ATD, aminoácidos 1-817) y del dominio intracelular (aminoácidos 839-1482) de forma independiente usando las secuencia para *Rattus norvegicus*, código de secuencia en Ensembl ENSRNOP00000011697.

- **APK1.** Se utilizó una de las estructuras con mejor resolución reportada en PDB para ésta proteína, código PDB 1IG1 con una resolución de 1.80 Å [33] que contiene el dominio catalítico y unión a GluN2B. Ésta estructura corresponde para *Homo sapiens*, de manera que se realizó un alineamiento múltiple usando el programa Clustal Omega V1.2.1 (Matriz PAM 250) entre la secuencia de *Homo sapiens* (código de secuencia en Ensembl: ENSP00000350785), la secuencia de rata (*Rattus norvegicus*, código de secuencia en Ensembl: ENSRNOP00000062122) y la secuencia para *Mus musculus* (código de secuencia en Ensembl: ENSMUSP00000040825), para determinar si el contenido de aminoácidos del dominio catalítico involucrados en el mecanismo de acción de DAPK1 (Val 96, Glu 94, Glu 100, Lys 42, Phe 24, Asp 161 y Gln 23) estaban conservados en las tres secuencias.

### Identificación de péptidos e inserción de mutaciones

La secuencia de los péptidos se obtuvo a partir de la zona de interacción entre cada proteína y la subunidad GluN2B como se mencionó en un apartado anterior y se presentan en la Tabla 1.

Se generó el modelo estructural de cada péptido usando UCSF Chimera (<http://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>) [34], y se realizó minimización de energía de cada estructura para lo cual se adicionaron los hidrógenos y estados de protonación, el proceso incluyó 100 pasos descendentes de minimización iterativos hasta un mínimo local energético usando el campo de fuerza Amber.

A las secuencias de los péptidos presentados en la tabla 1, se les realizó una serie de mutaciones en cada péptido con el fin de evaluar la afinidad en la interacción entre cada péptido y proteína, y así obtener péptidos adicionales con efecto bloqueador de la interacción entre las proteínas mencionadas previamente.

**Tabla 1:** Péptidos seleccionados de acuerdo a las interacciones de las proteínas SRC, DAPK1 (GluN2Bp) y D2R con la subunidad GluN2B.

Péptido	Secuencia
GluN2Bp	KKNRNKLRRQHSY
SRCp	PASADGHRGPNAAFVPPAA
D2Rp	TKRSSRAFRA

Se construyó una librería de péptidos haciendo mutaciones de cada una de las secuencias de la tabla 1. Para los péptidos GluN2Bp, SRCp y D2Rp algunos residuos en posiciones específicas se mutaron de acuerdo a resultados de hidrofobicidad usando la herramienta Peptide Property Calculator ([www.genscript.com](http://www.genscript.com)), así; residuos con carácter hidrofóbico fueron reemplazados por residuos con características químicas similares en sus cadenas laterales, en otros casos esos residuos hidrofóbicos se mutaron por residuos aminoácidos con cadena lateral cargada.

Para realizar una selección preliminar o filtrado de la librería de péptidos se evaluó el índice de hidrofobicidad (GRAVY) de cada péptido usando ProtParam tool (<http://web.expasy.org/protparam/>), se seleccionaron por cada clase de péptido al menos dos péptidos con alto grado de hidrofobicidad y dos con bajo grado de hidrofobicidad, de esta forma la librería de redujo a 43 péptidos.

La interacción y la afinidad de unión de los péptidos mutados con su respectivo receptor fueron evaluadas a través de una Simulación de Acoplamiento Molecular “Docking”.

#### Simulación de Acoplamiento Molecular “Docking”

La evaluación de las interacciones y afinidad de unión tanto de los péptidos originales como de las mutaciones se realizó mediante “Autodock Vina” (<http://vina.scripps.edu/>)[35].

Para realizar los dockings fue necesario hacer una preparación del receptor (proteínas) y ligandos (péptidos) usando la interfaz gráfica Autodock tools. Para las estructuras provenientes de PDB, la preparación de las estructura incluyó la eliminación de las moléculas de agua, iones y cofactores, así como la asignación de átomos de hidrógeno y cargas formales a las estructuras. Para los modelos estructurales obtenidos por I-Tasser, solamente se asignaron los átomos de hidrógeno y las cargas formales.

Se generó una caja de cribado o “Grid Box” con dimensiones específicas centrada en la secuencia de interés del receptor como blanco para el Docking. Las configuraciones de la caja de cribado para cada par ligando-receptor se presentan en la tabla 2, la columna “ligando” hace referencia a los péptidos originales y a las mutaciones derivados de éstos, también se incluyó los péptidos GluN2Bp1 y GluN2Bp2 cuyo blanco son las proteínas SRC y D2R respectivamente. El espaciado (Grid Box) fue de 1 Å, la exhaustividad y el número de resultados por Docking fue de 10 en todos los casos.

**Tabla 2:** Coordenadas y tamaño de la caja de cribado (Grid Box) para todos los Dockings (incluido mutaciones). El ligando hace referencia a los péptidos y el receptor a las proteínas.

Ligando	Receptor	Sitio para Docking en el receptor	Coordenadas Grid Box	Tamaño Grid Box
GluN2Bp	DAPK1	Gln 23, Phe 24, Lys 42, Val 96, Glu 94, Glu 100 y Asp 161	x = 23.453 y = 34.124 z = 12.894	x = 35 y = 35 z = 35
SRCp	GluN2B	Tyr 1472	x = -25.056 y = -50.097 z = 44.504	x = 40 y = 40 z = 40
D2Rp	GluN2B	Ser 1303	x = -26.461 y = 12.121 z = -3.452	x = 30 y = 30 z = 30

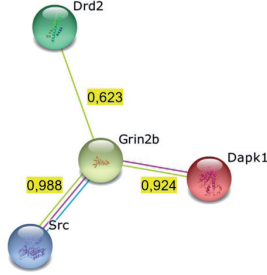
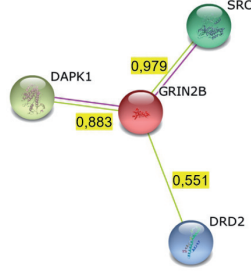
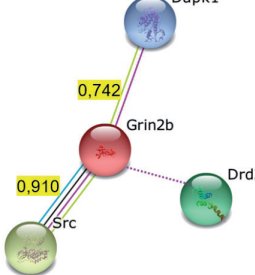
Los resultados que arrojó Autodock Vina fueron visualizados en Autodock Tools v.1.5.4. y corresponden a las mejores poses (configuración y orientación) con valores de energía de unión más bajos en Kcal/mol, junto con los valores de la desviación de la media cuadrática o RMSD (root-mean-square deviation) entre conformaciones.

De acuerdo a los resultados del docking, se seleccionaron tres péptidos con valores de energía más baja que el péptido original o péptido control por cada clase de interacción. Se diseñó también una serie de péptidos con el mismo contenido aminoácido de los péptidos seleccionados, pero con la secuencia en orden aleatorio (scramble) esto con el fin de tener controles negativos en las pruebas funcionales. De esta forma por cada clase de interacción (GluN2B-DAPK1, GluN2B-SRC, GluN2B-D2R) se tuvo un total de 15 péptidos, 5 por cada interacción, incluido los tres péptidos mutados seleccionados, el péptido original o control y el péptido scramble.

Los resultados de Docking fueron refinados usando el programa Rosetta FlexPepDock web server (<http://flexpepdock.furmanlab.cs.huji.ac.il/index.php>)[36], es un programa en línea que permite hacer un refinamiento de complejos péptido-proteína optimizando el esqueleto peptídico y la orientación de la conformación de cada péptido mediante el método de Monte-Carlo y un enfoque de minimización. Para la estructura de partida se realizaron 200 simulaciones FlexPepDock independientes. 100 de las simulaciones se llevaron a cabo estrictamente en el modo de alta resolución, mientras las otras 100 simulaciones incluyeron una etapa de pre-optimización de baja resolución, seguido por el método de refinamiento de alta resolución. De este modo se generó un total de 200 modelos que se clasificaron energéticamente en base a la función de puntuación de Rosetta [37].

Los mejores resultados obtenidos del refinamiento (complejos .pdb péptido-proteína) se visualizaron con UCSF Chimera (<http://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>)[34] y se generaron la imágenes de los dockings. Para la determinación de las interacciones péptido-proteína se usó el programa Discovery Studio Visualizer v4.1. (<http://accelrys.com/products/discovery-studio/visualization.html>).

**Tabla 3:** Identificación de las Interacciones de las proteínas D2R, SRC, DAPK1 con GluN2B. Se presenta el mapa de resultados obtenidos por String y el puntaje por cada interacción (en amarillo) un valor cercano a 1 indica mayor fiabilidad (evidencia) de la interacción. TE transferencia de especie. Código de color: — Minería de datos — Datos Experimentales — Bases de datos — Coexpresión.

Organismo	Resultado String	Interacción		Referencia
Mus musculus		<b>GluN2B</b> (Grin2B): Segmento 1292-1304 KKNRNKLRQHSY	<b>DAPK1:</b> Val96, Glu94, Glu100, Lys42, Phe24, Asp161 y Gln23	[21]
		<b>GluN2B</b> (Grin2B): Tyr 1472	<b>SRC:</b> Segmento 40-58 PASADGHRGPSAAFVPPAA	[23, 38]
		<b>GluN2B</b> (Grin2B): Ser 1303	<b>D2R</b> (Drd2): Segmento 225-234 TKRSSRAFRA	[24] TE
Homo sapiens		<b>GluN2B</b> (Grin2B): Segmento 1292-1304 KKNRNKLRQHSY	<b>DAPK1:</b> Val96, Glu94, Glu100, Lys42, Phe24, Asp161 y Gln23	[21]
		<b>GluN2B</b> (Grin2B): Tyr 1472	<b>SRC:</b> Segmento 40-58 PASADGHRGPSAAFAPAA	[23]
		<b>GluN2B</b> (Grin2B): Ser 1303	<b>D2R</b> (Drd2): Segmento 225-234 TKRSSRAFRA	[24] TE
Rattus norvegicus		<b>GluN2B</b> (Grin2B): Segmento 1292-1304 KKNRNKLRQHSY	<b>DAPK1:</b> Val96, Glu94, Glu100, Lys42, Phe24, Asp161 y Gln23	[21] TE
		<b>GluN2B</b> (Grin2B): Tyr 1472	<b>SRC:</b> Segmento 40-59 PASADGHRGPNAAFVPPAA	[23, 38]
		<b>GluN2B</b> (Grin2B): Ser 1303	<b>D2R</b> (Drd2): Segmento 225-234 TKRSSRAFRA	[24]

**Resultados y Discusión**

**Identificación de las interacciones entre proteínas**

La base de datos String presenta las interacciones directas entre proteínas mediante una red con líneas de color que conectan cada proteína (Tabla 3), de esta forma se puede ver que de los pares de interacciones, la interacción GluN2B-SRC corresponde a la de mayor puntuación en las tres especies; *Mus musculus* (0.988), *Homo sapiens* (0.979) y *Rattus norvegicus* (0.910) (Tabla 3, Resultado String).

Del resultado de alineamiento múltiple para SRC en los tres organismos, se puede ver que el segmento que se ha identificado para la interacción con GluN2B (segmento 40-58 en *Homo sapiens* y *Mus musculus*; segmento 40-59 en *Rattus norvegicus*) presenta una serie de sustituciones (color magenta, Fig. 1) ligeramente conservadas entre los organismos y presenta también deleciones entre las secuencias que sin embargo no parecen alterar la interacción con GluN2B de acuerdo al método de determinación experimental de la interacción como lo presenta String.

```

SRC_homo_sapiens      MGSNKSKPKDASQRRRSLEPAENVHGAGGGAFPASQTPSKPASADGHRGPSAAFAPAAA      59
SRC_mus_musculus     MGSNKSKPKDASQRRRSLEPSENVHGAG-GAFPASQTPSKPASADGHRGPSAAFVPPAA      58
SRC_rattus_norvegicus MGSNKSKPKDASQRRRSLEPAENVHGAG-GAFPASQTPSKPASADGHRGPNAAFVPPAAA      59
*****:*****
    
```

**Figura 1:** Alineamiento múltiple de segmentos de las secuencias de la proteína SRC de *Homo sapiens*, *Mus musculus* y *Rattus norvegicus*. En amarillo se presenta el segmento de interacción con GluN2B. En magenta las deleciones y los residuos que no están conservados en las tres especies.

Por su parte la interacción GluN2B-D2R en *Mus musculus* (0.623) y *Homo sapiens* (0.551) ha sido extraída mediante minería de datos (línea verde), en este caso la interacción ha sido tomada como transferencia de especie “TE”, es decir, que la interacción ha sido determinada experimentalmente en *Rattus norvegicus*, y dado que el sitio de interacción está conservado en *Mus musculus*, *Homo sapiens* y *Rattus norvegicus*, se predice que habrá interacción entre la proteína D2R y GluN2B en los organismos relacionados.

Para la interacción GluN2B-DAPK1, la determinación experimental de la interacción fue en *Mus musculus* (0.924) y debido a que los residuos de interacción también están totalmente conservados en la proteína DAPK1 entre los tres organismos, por transferencia de especie se espera la interacción GluN2B-DAPK1 en *Homo sapiens* (0.883) y *Rattus norvegicus* (0.724).

Los residuos y segmentos de aminoácidos involucrados en las interacciones (GluN2B-DAPK1, GluN2B-SRC y GluN2B-D2R) se muestran en la tabla 3, en la casilla de “Interacción”, esos segmentos se tomaron como los péptidos iniciales o péptidos control.

#### Selección de las estructuras “PDB” y/o generación por modelamiento estructural

En total por proteína I-Tasser generó 5 modelos con los mejores resultados C-score y TM-score, de los cuales se escogió el modelo con el C-score más positivo y que presentara correspondencia estructural con el tipo de proteína analizada de acuerdo al TM-score, los resultados son presentados en la tabla 4.

**Tabla 4:** Resultados (función de puntuación) C-score, TM-score y RMSD de cada modelo generado por I-Tasser. Se presentan tres modelos para la proteína GluN2B, un modelo para la proteína completa (all), otro para el dominio extracelular (ext) y otro para el dominio C-terminal intracelular (int). El homólogo estructural corresponde a la estructura cristalográfica principal tomada por I-TASSER como estructura de referencia para generar los modelos.

Modelo	C-score	TM-score	RMSD (Å)	Homólogo estructural
GluN2B_model_all	-0.20	0.69±0.12	10.3±4.6	PDB 3KG2 3.60 Å
GluN2B_model_ext	0.01	0.71±0.11	8.5±4.5Å	PDB 3KG2 3.60 Å
GluN2B_model_int	-2.86	0.39±0.13	15.1±3.5	PDB 3CHN

De acuerdo a los parámetros expuestos anteriormente, se puede observar (Tabla 4) que para los modelos GluN2B\_model\_all, GluN2B\_model\_ext, D2R\_model y SRC\_model presentan valores tanto de C-score (-0.20, 0.01, -0.97 y -1.90, respectivamente) como de TM-score (0.69, 0.71, 0.59 y 0.49, respectivamente) que hacen que los modelos sean tomados como modelos de buena calidad. Para el modelo GluN2B\_model\_int, el valor de C-score es el más negativo de todos los modelos, y el TM-score está

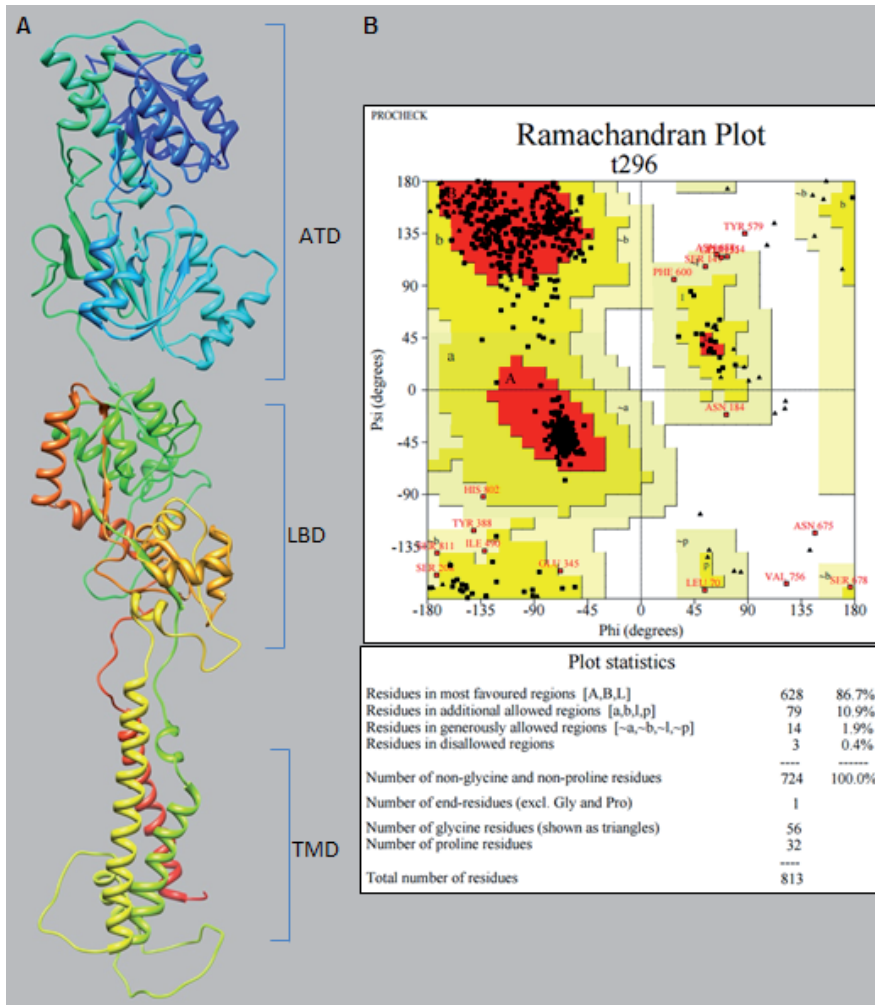
por debajo de 0.5, indicando que el modelo no tiene un homólogo estructural con similitud cercana. En este sentido se debe mencionar que el modelo GluN2B\_model\_int, corresponde al dominio carboxi-terminal intracelular de la subunidad GluN2B y que para este tipo de dominios debido al alto grado de interacciones con otras proteínas en la densidad postsináptica hace que no tenga una topología estructural definida, si no que presente un alto grado de desorden intrínseco [39]. Así que no se espera encontrar un homólogo estructural de alta similitud, sin embargo I-TASSER presenta un modelo que lo tomamos como modelo de referencia para el docking.

Era de esperar que los homólogos estructurales o estructuras de referencia (templates) que usó I-TASSER para generar los modelos fueran proteínas de familias cercanas, así el homólogo utilizado para los modelos GluN2B\_model\_all y GluN2B\_model\_ext es el receptor ionotrópico de glutamato AMPA con código PDB 3KG2 con una resolución de 3.60 Å [8], y que ha sido de hecho la estructura que se ha tomado como base para elucidar algunas de las funciones de este tipo de receptores de glutamato. Para el modelo SRC el homólogo estructural fue la estructura reportada para *Homo sapiens* con código PDB 2H8H con una resolución de 2.20 Å [40].

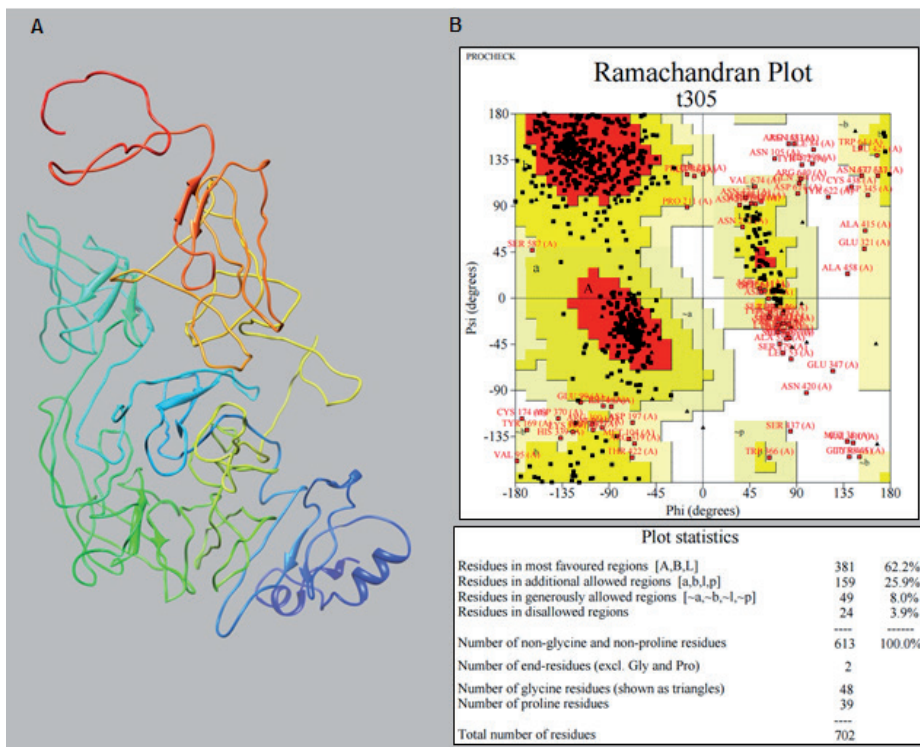
Adicional a los resultados de calidad de los modelos obtenidos mediante I-TASSER, se realizó la evaluación de las correspondencias estructurales a nivel de estructura secundaria usando los diagramas de Ramachandran, teniendo en cuenta que un modelo de muy buena calidad estereoquímica debe tener un 90% de residuos en las regiones más favorecidas estructuralmente (Hélices  $\alpha$  dextrógiras y levógiras y hojas plegadas  $\beta$  [41], zonas rojas en los diagramas de Ramachandran utilizados en este trabajo).

Para el modelo que incluyó toda la secuencia de la subunidad GluN2B, el análisis arrojó que un 71.6% de los residuos se ubican en las regiones más favorecidas, indicando que no es un modelo de buena calidad, sin embargo, se debe recordar que en este modelo está presente el dominio carboxilo terminal intracelular (CTD) y que no se conoce alguna estructura de referencia para esta zona que permita generar un modelo con mejores resultados. En relación a las demás regiones de este mismo modelo se puede ver que el resultado obtenido tiene la topología estructural que se ha descrito para los receptores ionotrópicos de glutamato [4], que incluye los dominios amino terminal (ATD), de unión a ligando (LBD) y el dominio transmembranal (TMD). Los dominios ATD y LBD presentan la configuración que se asemeja a una concha formada principalmente por hélices  $\alpha$  y permite la unión de moduladores y agonistas.





**Figura 2:** Modelo del dominio extracelular de la subunidad GluN2B. A, Modelo tridimensional generado mediante I-TASSER para el dominio extracelular de GluN2B (GluN2B\_model\_ext). B, diagrama de Ramachandran. ATD (Dominio amino terminal), LBD (Dominio de unión a ligando), TMD (Dominio transmembrana). La representación (cintas) del modelo fue generado en UCSF CHIMERA.



**Figura 3:** Modelo del dominio intracelular de la subunidad GluN2B. A, Modelo tridimensional generado mediante I-TASSER para el dominio carboxilo intracelular de GluN2B (GluN2B\_model\_int). B, diagrama de Ramachandran. Se observa el alto grado de zonas irregulares. La representación (cintas) del modelo fue generado en UCSF CHIMERA.

Al generar el modelo para la subunidad GluN2B descartando el dominio CTD (GluN2B\_model\_ext, Fig. 2), los resultados obtenidos muestran que hay un 86.7% de residuos ubicados en las regiones más favorecidas, haciendo de éste un modelo de mejor calidad. Igualmente presenta las mismas características topológicas descritas anteriormente para el modelo GluN2B\_model\_all. Y por supuesto para el modelo que contiene solo el dominio CTD de la subunidad GluN2B (GluN2B\_model\_int, Fig. 3) presenta alto grado de zonas irregulares y muy bajo contenido de hélices  $\alpha$  y hojas  $\beta$ , con residuos ubicados en las regiones más favorecidas de solo el 62.2%.

Tomando juntos los anteriores resultados se puede decir que las estructuras predichas en este trabajo presentan topologías estructurales adecuadas para realizar las simulaciones de acoplamiento molecular “Docking”. Por otro lado, para la proteína DAPK1 se seleccionó la estructura cristalográfica con código PDB 1IG1 con una resolución de 1.80 Å [33] para realizar los dockings.

### Selección y evaluación de péptidos

La librería inicialmente obtenida (no mostrada) a partir de los péptidos mencionados en la tabla 2 fue filtrada

teniendo en cuenta el parámetro GRAVY (grand average of hydropathy) el cual se calcula sumando los valores de hidrofobicidad de cada aminoácido y dividiendo por la longitud de la secuencia [42].

Las mutaciones seleccionadas del proceso de filtrado por resultados de hidrofobicidad se presentan en la tabla 5 junto con los resultados obtenidos de la simulación de acoplamiento molecular “Docking”. Los resultados de docking son principalmente expresados como la entalpía de unión, significando la cantidad de energía que el sistema consume para generar la unión, sin embargo dado que el sistema busca el favorecimiento de complejos energéticamente estables se libera energía más que consumirla, de modo que se esperan resultados de energía libre de unión negativos expresados en kcal/mol, y en el caso de Autodock Vina, estos resultados de energía de unión también corresponden a una medida indirecta de la afinidad del ligando por el receptor [35].

De los resultados de docking se seleccionaron 15 péptidos (Tabla 6) teniendo en cuenta los mejores resultados de energía libre de unión por cada interacción péptido-receptor.

**Tabla 5:** Resultados de Docking de los péptidos control y péptidos mutados. En verde se indica la mutación correspondiente para cada péptido.

Péptido/Secuencia	Mutación	Péptido Mutado	Receptor	Dock kcal/mol
GluN2Bp KKNRNKLRRQHSY	control	KKNRNKLRRQHSY	DAPK1 pdb 1IG1	-5.9
	L7V	KKNRNK <sup>V</sup> RRQHSY		-7.6
	L7F	KKNRNK <sup>F</sup> RRQHSY		-7.0
	L7D	KKNRNK <sup>D</sup> RRQHSY		-7.2
	L7G	KKNRNK <sup>G</sup> RRQHSY		-7.3
	scramble	NRRRNSKLQHKKY		---
D2Rp TKRSSRAFRA	control	TKRSSRAFRA	Ser 1303 GluN2B_model_int	-6.0
	A7D	TKRSSR <sup>D</sup> FRA		-6.2
	A7E	TKRSSRAF <sup>E</sup>		-6.2
	T1Y; A10E	<sup>Y</sup> KRSSRAF <sup>E</sup>		-6.7
	A7G	TKRSSR <sup>G</sup> FRA		-6.9
	A7V	TKRSSR <sup>V</sup> FRA		-7.4
	F8K	TKRSSR <sup>A</sup> KRA		-6.9
	F8G	TKRSSR <sup>A</sup> <sup>G</sup> RA		-7.3
	scramble	SKSFRATRRA		---
SRCp PASADGHRGPNAAFVPPAA	control	PASADGHRGPNAAFVPPAA	Tyr 1472 GluN2B_model_int	-6.4
	N11S	PASADGHRGP <sup>S</sup> AAFVPPAA		-6.3
	A13D	PASADGHRGPNA <sup>D</sup> FVPPAA		-7.2
	A12D; A13D	PASADGHRGPND <sup>D</sup> FVPPAA		-6.4
	N11S; A13D	PASADGHRGP <sup>S</sup> AD <sup>D</sup> FVPPAA		-6.9
	scramble	AGSHAPFPSPARAGVAPDA		---

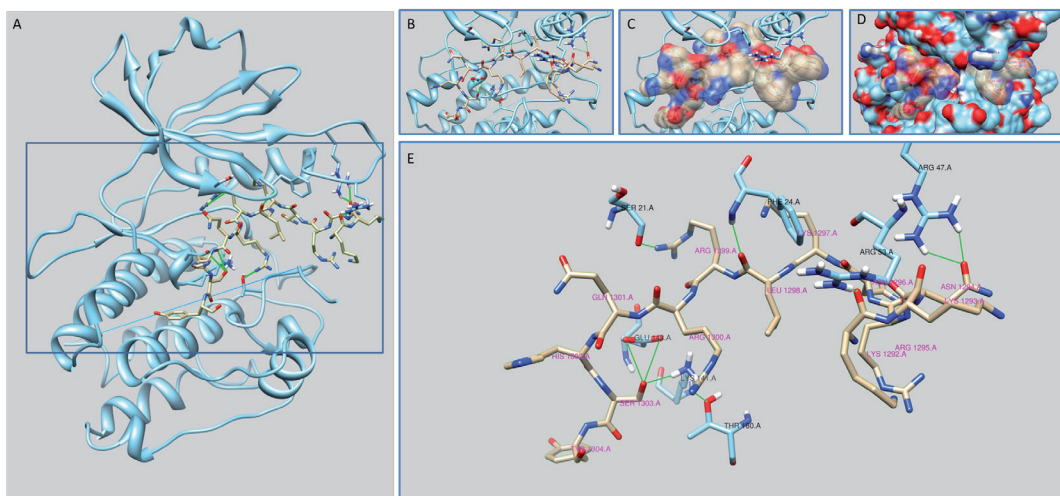
**Tabla 6:** Resultados de los Dockings de los péptidos seleccionados. En verde aparecen las mutaciones realizadas. Se incluye los péptidos control (#1, #6 y #11) y los péptidos scramble (#5, #10 y #15). Se observa que el valor de energía libre de unión es mayor para los péptidos con las mutaciones que los péptidos control.

	#	Secuencia	$\Delta G_b$ (kcal/mol)
Péptidos GluN2B	1	KKNRNKLRRQHSY	-5.9
	2	KKNRNK <b>V</b> RRQHSY	-7.6
	3	KKNRNK <b>G</b> RRQHSY	-7.3
	4	KKNRNK <b>D</b> RRQHSY	-7.2
	5	NRRRNKSLQHKKY (scramble)	
Péptidos D2R	6	TKRSSRAFRA	-6.0
	7	TKRSSRAF <b>E</b>	-6.2
	8	TKRSSR <b>G</b> FRA	-6.9
	9	TKRSSR <b>V</b> FRA	-7.4
	10	SKSFRATRRV (scramble)	
Péptidos SRC	11	PASADGHRGSAAFVPPAA	-6.3
	12	PASADGHRG <b>N</b> AAFVPPAA	-6.4
	13	PASADGHRG <b>P</b> NADFVPPAA	-7.2
	14	PASADGHRG <b>S</b> ADFVPPAA	-6.9
	15	AGSHAPFPSPARAGVAPDA (scramble)	

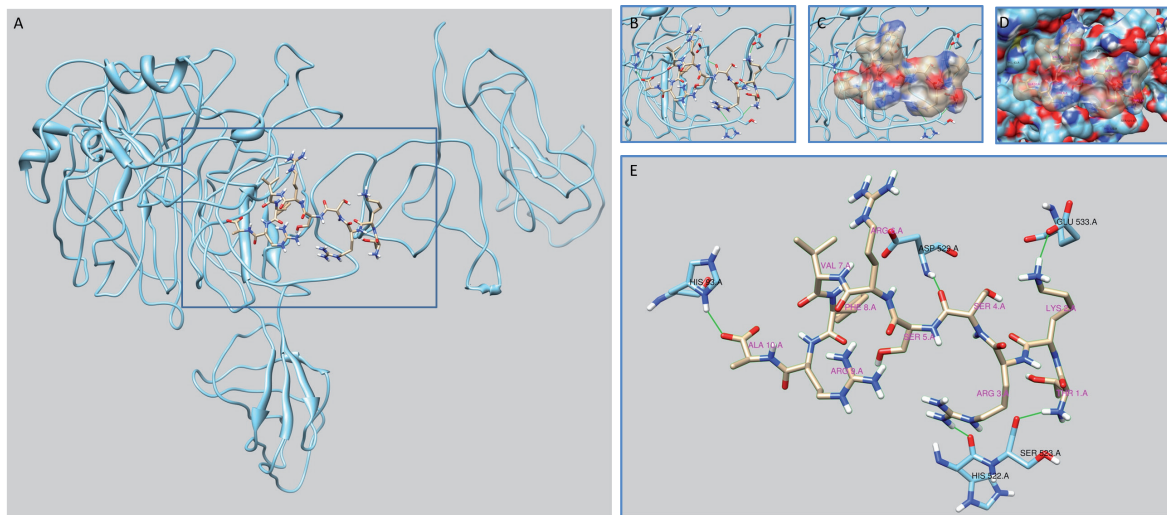
#### Interacciones de los Péptidos GluN2B con DAPK1

Para el péptido #1, KKNRNKLRRQHSY (péptido control), la energía de unión fue de -5.9 kcal/mol, la interacción entre la proteína DAPK1 y el ligando se estabiliza por la formación de 9 puentes de hidrógeno en el sitio catalítico de DAPK1, es de resaltar el puente de hidrógeno formado entre la Phe 24 de DAPK1 y la Leu 7 del péptido. Dicha Phe hace parte de los aminoácidos involucrados en la actividad de DAPK1, y como se observa en la fig. 4, el péptido estaría bloqueando el acceso al sitio catalítico y de esta forma podría impedir la actividad de DAPK1 para fosforilar la Ser 1303 de GluN2B. Los péptidos #2 (-7.6 kcal/mol), #3 (-7.3 kcal/mol) y #4 (-7.2 kcal/mol), corresponden

a las mutaciones realizadas sobre el péptido #1 (-5.9 kcal/mol) y teniendo en cuenta los resultados de docking, estos péptidos mutados tendrían mayor interacción en el sitio catalítico de DAPK1. La mutación más favorable fue el reemplazo de la Leu 7 por Val (L7V, péptido #2) aquí la Val está formando una interacción de tipo hidrofóbico (Pi-alkyl) con la Phe 24 de DAPK1, adicionalmente el péptido #2 se estabiliza por la formación de 14 puentes de hidrógeno y otro tipo de interacciones hidrofóbicas y electrostáticas. La representación de superficie molecular (figura 4C) permite ver que el péptido #2 se acopla a lo largo del sitio catalítico de DAPK1 justo en la interface del ATP y la unión a GluN2B, y por tanto se predice que puede bloquear la función de esta quinasa.



**Figura 4:** Docking péptido #1. A y B, Docking del péptido #1 en el sitio catalítico (recuadro azul) de la estructura de DAPK1. C y D, representación de la superficie molecular del péptido (ligando) y del receptor (DAPK1) y el péptido respectivamente. E, aminoácidos de DAPK1 (representación en color azul y etiqueta negra) que están formando puentes de hidrógeno (líneas verdes) con el péptido #1 (representación en color beige y etiqueta magenta).

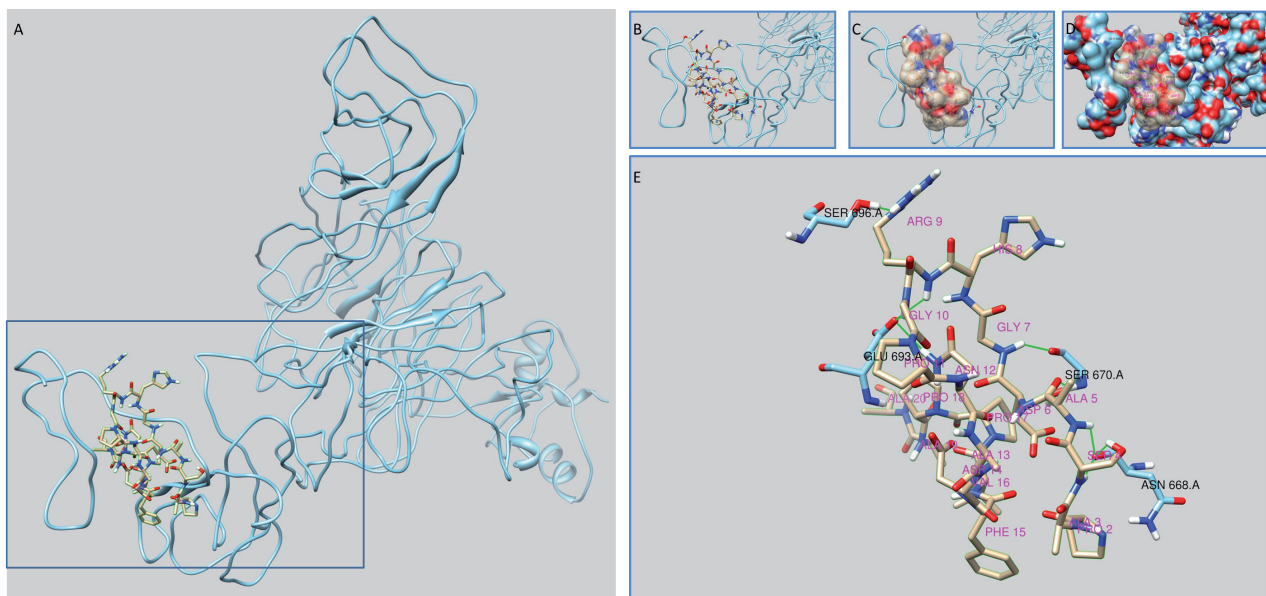


**Figura 5:** Docking péptido #9. A y B, Docking del péptido #9 en el dominio carboxilo terminal intracelular de GluN2B (Ser 1303, recuadro azul). C y D, representación de la superficie molecular del péptido (ligando) y del receptor (GluN2B) y el péptido respectivamente. E, aminoácidos de GluN2B (representación en color azul y etiqueta negra) que están formando puentes de hidrógeno (líneas verdes) con el péptido #9 (representación en color beige y etiqueta magenta).

#### Interacciones de los Péptidos D2R con GluN2B

Los péptidos derivados de la interacción D2R-GluN2B, y denotados como péptidos D2R (D2Rp) tienen una longitud de 10 aminoácidos, todos son hidrófobos y presentan carácter básico. Estos péptidos son los #6, #7, #8 y #9, y cuyo blanco es la Ser 1303 ubicada en el dominio carboxilo terminal intracelular de GluN2B, residuo que resulta ser blanco de fosforilación [24] e interviene en la modulación de la actividad del receptor NMDA. Los resultados de docking (Tabla 6) permiten ver que la mutación que presenta mayor afinidad de unión es el reemplazo de la Ala

7 por Val (A7V, péptido #9, -7.4 kcal/mol), éste péptido se une a GluN2B principalmente por medio de 5 puentes de hidrógeno de los cuales la Thr 1 del péptido #9 está uniéndose a la Ser 1303 (Fig. 5), adicionalmente el péptido se estabiliza por un puente salino entre la Lys 2 del péptido y el residuo de Glu 1313 de GluN2B. Los gráficos de superficie molecular (fig. 5C) de los demás péptidos de este grupo muestran el acople de cada uno de ellos entorno a la Ser 1303, de forma que se puede sugerir que estos péptidos se pueden comportar como péptidos bloqueadores de proteínas con blanco Ser 1303.



**Figura 6:** Docking péptido #13. A y B, Docking del péptido #13 en el dominio carboxilo terminal intracelular de GluN2B (Tyr 1472, recuadro azul). C y D, representación de la superficie molecular del péptido (ligando) y del receptor (GluN2B) y el péptido respectivamente. E, aminoácidos de GluN2B (representación en color azul y etiqueta negra) que están formando puentes de hidrógeno (líneas verdes) con el péptido #13 (representación en color beige y etiqueta magenta).

### Interacciones de los Péptidos SRC con GluN2B

En cuanto a los péptidos derivados de la interacción SRC-GluN2B, el péptido que mejor presenta interacción en términos de la afinidad de unión es el péptido #13 (A13D, -7.2 kcal/mol), aquí la formación de 9 puentes de hidrógeno estabilizan la interacción péptido-proteína (Fig. 6), siendo el péptido que presenta mayor número de interacciones de tipo enlazante para esta clase de péptidos SRC. Por su parte la Tyr 1472 de la subunidad GluN2B, que es el blanco para este grupo de péptidos, está formando una interacción de tipo hidrofóbico ( $\pi$ -alkyl) con la Pro 10 del péptido #13, permitiendo que el resto de péptido este entorno de la Tyr 1472 y como se ha descrito en apartados anteriores, se espera que estos péptidos #11, #12, #13 y #14, tengan un papel como péptidos bloqueadores.

### Conclusiones

Las interacciones de GluN2B con DAPK1, SRC y D2R permitieron generar péptidos que podrían ser usados como agentes terapéuticos en procesos patológicos como la isquemia. Sin embargo, es necesario contemplar el uso de agentes que permiten la internalización de los péptidos, como por ejemplo el TAT 47-57 (Péptido Transactivador de la transcripción derivado del virus del VIH) que tiene la capacidad de permear la membrana comportándose como molécula cargo, aunque el mecanismo no está bien conocido todavía [21, 43-45], sin afectar la interacción del péptido diseñado con su blanco.

Los péptidos diseñados muestran interacciones con su receptor específico que podrían llegar a generar una modulación del mismo en ensayos *in vivo*.

### Agradecimientos

A Colciencias por financiar el proyecto: Diseño de péptidos basados en la interacción de GLUN2B con DAPK1, SRC, D2R y Conantokina G y evaluación *in vitro* de su posible efecto neuroprotector en eventos isquémicos, código 110156933188. A los Doctores Fernando Danilo González Nilo y Daniel Aguayo de la Universidad Andrés Bello (Chile) por la asesoría y colaboración en el manejo de herramientas de diseño molecular. A la Universidad Nacional de Colombia por el apoyo recibido para el desarrollo de este proyecto.

### Bibliografía

- Citri, A. and Malenka, RC. *Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms*. 33 (1): p. 18-41. 2008
- Hardingham, GE. and Bading, H. *Synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor signalling: implications for neurodegenerative disorders*. 11 (10): p. 682-696. 2010
- Mony, L.; Kew, JN.; Gunthorpe, MJ. and Paoletti, P. *Allosteric modulators of NR2B-containing NMDA receptors: molecular mechanisms and therapeutic potential*. 157 (8): p. 1301-1317. 2009.
- Traynelis, SF.; Wollmuth, LP.; McBain, CJ.; Menniti, FS.; Vance, KM.; Ogden, KK.; Hansen, KB.; Yuan, H.; Myers, SJ. and Dingledine, R. *Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function*. 62 (3): p. 405-496. 2010.
- Madden, DR. *The structure and function of glutamate receptor ion channels*. 3 (2): p. 91-101. 2002.
- Akazawa, C.; Shigemoto, R.; Bessho, Y.; Nakanishi, S. and Mizuno, N. *Differential expression of five N-methyl-D-aspartate receptor subunit mRNAs in the cerebellum of developing and adult rats*. 347 (1): p. 150-160. 1994.
- Monyer, H.; Burnashev, N.; Laurie, DJ.; Sakmann, B. and Seeburg, PH. *Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors*. 12 (3): p. 529-540. 1994.
- Sobolevsky, AI.; Rosconi, MP. and Gouaux, E. *X-ray structure, symmetry and mechanism of an AMPA-subtype glutamate receptor*. 462 (7274): p. 745-756. 2009.
- Ataman, ZA.; Gakhar, L.; Sorensen, BR.; Hell, JW. and Shea, MA. *The NMDA receptor NR1 C1 region bound to calmodulin: structural insights into functional differences between homologous domains*. 15 (12): p. 1603-1617. 2007.
- Aarts, MM. and Tymianski, M. *Molecular mechanisms underlying specificity of excitotoxic signaling in neurons*. 4 (2): p. 137-147. 2004.
- Green, AR. *Why do neuroprotective drugs that are so promising in animals fail in the clinic? An industry perspective*. 29 (11): p. 1030-1034. 2002.
- Parsons, CG.; Danysz, W. and Lodge, D. *Introduction to glutamate receptors, their function and pharmacology*. p. 1-30. 2002.
- Lo, EH.; Dalkara, T. and Moskowitz, MA. *Mechanisms, challenges and opportunities in stroke*. 4 (5): p. 399-414. 2003.
- Hoyte, L.; Barber, P.; Buchan, A. and Hill, M. *The rise and fall of NMDA antagonists for ischemic stroke*. 4 (2): p. 131-136. 2004.
- Small, DL. and Tauskela, JS. *Glutamate receptor pharmacology: Lessons learned from the last decade of stroke trials*. p. 27-45. 2005.
- Wang, CX. and Shuaib, A. *NMDA/NR2B selective antagonists in the treatment of ischemic brain injury*. 4 (2): p. 143-151. 2005.
- Muir, KW. *Glutamate-based therapeutic approaches: clinical trials with NMDA antagonists*. 6 (1): p. 53-60. 2006.
- Sacco, RL.; DeRosa, JT.; Haley Jr, EC.; Levin, B.; Ordronneau, P.; Phillips, SJ.; Rundek, T.; Snipes, RG.; Thompson, JL. and Investigators, GA. *Glycine antagonist in neuroprotection for patients with acute stroke: GAIN Americas: a randomized controlled trial*. 285 (13): p. 1719-1728. 2001.

19. Yurkewicz, L.; Weaver, J.; Bullock, MR. and Marshall, LF. *The effect of the selective NMDA receptor antagonist troxoprodil in the treatment of traumatic brain injury*. 22 (12): p. 1428-1443. 2005.
20. Kotermanski, SE. and Johnson, JW. *Mg<sup>2+</sup> imparts NMDA receptor subtype selectivity to the Alzheimer's drug memantine*. 29 (9): p. 2774-2779. 2009.
21. Tu, W.; Xu, X.; Peng, L.; Zhong, X.; Zhang, W.; Soundarapandian, MM.; Belal, C.; Wang, M.; Jia, N. and Zhang, W. *DAPK1 interaction with NMDA receptor NR2B subunits mediates brain damage in stroke*. 140 (2): p. 222-234. 2010.
22. Guo, W.; Zou, S.; Guan, Y.; Ikeda, T.; Tal, M.; Dubner, R. and Ren, K. *Tyrosine phosphorylation of the NR2B subunit of the NMDA receptor in the spinal cord during the development and maintenance of inflammatory hyperalgesia*. 22 (14): p. 6208-6217. 2002.
23. Sinai, L.; Duffy, S. and Roder, JC. *Src inhibition reduces NR2B surface expression and synaptic plasticity in the amygdala*. 17 (8): p. 364-371. 2010.
24. Liu, X-Y.; Chu, X-P.; Mao, L-M.; Wang, M.; Lan, H-X.; Li, M-H.; Zhang, G-C.; Parelkar, NK.; Fibuch, EE. and Haines, M. *Modulation of D2R-NR2B interactions in response to cocaine*. 52 (5): p. 897-909. 2006.
25. Hall, R. and Soderling, T. *Quantitation of AMPA receptor surface expression in cultured hippocampal neurons*. 78 (2): p. 361-371. 1997.
26. Liu, S-B. and Zhao, M-G. *Neuroprotective effect of estrogen: role of nonsynaptic NR2B-containing NMDA receptors*. 93 p. 27-31. 2013.
27. Sun, Y.; Zhang, L.; Chen, Y.; Zhan, L. and Gao, Z. *Therapeutic Targets for Cerebral Ischemia Based on the Signaling Pathways of the GluN2B C Terminus*. 46 (8): p. 2347-2353. 2015.
28. Jensen, LJ.; Kuhn, M.; Stark, M.; Chaffron, S.; Creevey, C.; Muller, J.; Doerks, T.; Julien, P.; Roth, A. and Simonovic, M. *STRING 8-a global view on proteins and their functional interactions in 630 organisms*. 37 (suppl 1): p. D412-D416. 2009.
29. Goujon, M.; McWilliam, H.; Li, W.; Valentin, F.; Squizzato, S.; Paern, J. and Lopez, R. *A new bioinformatics analysis tools framework at EMBL-EBI*. 38 (suppl 2): p. W695-W699. 2010.
30. Berman, HM.; Bhat, TN.; Bourne, PE.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Weissig, H. and Westbrook, J. *The Protein Data Bank and the challenge of structural genomics*. 7 p. 957-959. 2000.
31. Zhang, Y. *I-TASSER server for protein 3D structure prediction*. 9 (1): p. 40. 2008.
32. Laskowski, RA.; Hutchinson, EG.; Michie, AD.; Wallace, AC.; Jones, ML. and Thornton, JM. *PDBsum: a Web-based database of summaries and analyses of all PDB structures*. 22 (12): p. 488-490. 1997.
33. Tereshko, V.; Teplova, M.; Brunzelle, J.; Watterson, DM. and Egli, M. *Crystal structures of the catalytic domain of human protein kinase associated with apoptosis and tumor suppression*. 8 (10): p. 899-907. 2001.
34. Pettersen, EF.; Goddard, TD.; Huang, CC.; Couch, GS.; Greenblatt, DM.; Meng, EC. and Ferrin, TE. *UCSF Chimera-a visualization system for exploratory research and analysis*. 25 (13): p. 1605-1612. 2004.
35. Trott, O. and Olson, AJ. *AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading*. 31 (2): p. 455-461. 2010.
36. London, N.; Raveh, B.; Cohen, E.; Fathi, G. and Schueler-Furman, O. *Rosetta FlexPepDock web server-high resolution modeling of peptide-protein interactions*. 39 (suppl 2): p. W249-W253. 2011.
37. Raveh, B.; London, N. and Schueler-Furman, O. *Sub-angstrom modeling of complexes between flexible peptides and globular proteins*. 78 (9): p. 2029-2040. 2010.
38. Husi, H.; Ward, MA.; Choudhary, JS.; Blackstock, WP. and Grant, SG. *Proteomic analysis of NMDA receptor-adhesion protein signaling complexes*. 3 (7): p. 661-669. 2000.
39. Choi, UB.; Xiao, S.; Wollmuth, LP. and Bowen, ME. *Effect of Src kinase phosphorylation on disordered C-terminal domain of N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) receptor subunit GluN2B protein*. 286 (34): p. 29904-29912. 2011.
40. Hennequin, LF.; Allen, J.; Breed, J.; Curwen, J.; Fennell, M.; Green, TP.; Lambert-van der Brempt, C.; Morgentin, R.; Norman, RA. and Olivier, A. *N-(5-chloro-1, 3-benzodioxol-4-yl)-7-[2-(4-methylpiperazin-1-yl) ethoxy]-5-(tetrahydro-2 h-pyran-4-yloxy) quinazolin-4-amine, a novel, highly selective, orally available, dual-specific c-Src/Abl kinase inhibitor*. 49 (22): p. 6465-6488. 2006.
41. Morris, AL.; MacArthur, MW.; Hutchinson, EG. and Thornton, JM. *Stereochemical quality of protein structure coordinates*. 12 (4): p. 345-364. 1992.
42. Kyte, J. and Doolittle, RF. *A simple method for displaying the hydropathic character of a protein*. 157 (1): p. 105-132. 1982.
43. Lin, Y-Z.; Yao, S.; Veach, RA.; Torgerson, TR. and Hawiger, J. *Inhibition of nuclear translocation of transcription factor NF- $\kappa$ B by a synthetic peptide containing a cell membrane-permeable motif and nuclear localization sequence*. 270 (24): p. 14255-14258. 1995.
44. Embury, J.; Klein, D.; Pileggi, A.; Ribeiro, M.; Jayaraman, S.; Molano, RD.; Fraker, C.; Kenyon, N.; Ricordi, C. and Inverardi, L. *Proteins linked to a protein transduction domain efficiently transduce pancreatic islets*. 50 (8): p. 1706-1713. 2001.
45. Johnson, JL.; Lowell, BC.; Ryabinina, OP.; Lloyd, RS. and McCullough, AK. *TAT-mediated delivery of a DNA repair enzyme to skin cells rapidly initiates repair of UV-induced DNA damage*. 131 (3): p. 753-761. 2011.

Recibido: 08/06/2016.

Aprobado: 29/11/2016.

RECYT

Año 19 / N° 27 / 2017 / 23–30

## Aplicación de la lógica difusa en el proceso de evaluación en matemática

### Application of fuzzy logic in the evaluation process in mathematic

Graciela C. Lombardo<sup>1,\*</sup>, Ricardo Chrobak<sup>2,\*</sup>

1- Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Félix de Azara 1552, CP 3300, Posadas, Misiones, Argentina. 2- Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Comahue, Buenos Aires 1400, CP 8300, Neuquén Capital, Neuquén, Argentina

\* E-mail: graciela.lombardo@gmail.com - mecenster@gmail.com

#### Resumen

El propósito del presente trabajo de investigación fue desarrollar un método basado en técnicas de la lógica difusa para la obtención de calificaciones de estudiantes universitarios de Matemática. Se tomaron como objeto de estudio las evaluaciones de dos cursos de la asignatura Geometría III (Proyectiva), del Profesorado en Matemática de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones, correspondientes a las cohortes 2013 y 2014. Se diseñaron dos controladores difusos de tipo MAMDANI, en función de las características intrínsecas del sistema de evaluación de la cátedra, que fueron modelados con la herramienta FIS de Matlab®. Se confrontaron los resultados aportados por el sistema de controladores difusos con los provenientes del proceso de evaluación tradicional de los mismos períodos, los resultados de la investigación muestran que se eliminan posibles errores en la determinación de la evaluación con miras a la acreditación, como también se tienen en cuenta la singularidad y desempeño del alumno.

Palabras clave: Evaluación; Lógica Difusa; Controladores Difusos.

#### Abstract

The purpose of this research was to develop a system based on fuzzy logic techniques to obtain the grades of the students of Mathematics at university. The evaluations of two courses of the subject Geometry III (Projective) of the Mathematics Teacher Training College of the Faculty of Exact, Chemical and Natural Sciences of the State University of Misiones, corresponding to the cohorts 2013 and 2014 were the object of the present study. Two MAMDANI type fuzzy controllers were designed, which depended on the intrinsic characteristics of the evaluation system of the subject, modeled with the FIS Matlab® tool. The results provided by the system of fuzzy controllers were compared to those from the traditional evaluation process for the same periods. The research results show the elimination of possible errors in determining the assessment for accreditation. The characteristics and performance of the students are also taken into account.

Keywords: Evaluation; Fuzzy Logic; Fuzzy Controllers.

#### Introducción

El presente artículo corresponde a la memoria final de tesis doctoral titulada “Aplicación de la lógica difusa en el proceso de evaluación en Matemática”, del Doctorado en Enseñanza de Ciencias Exactas y Naturales de la Facultad de Ingeniería (FI) de la Universidad Nacional del Comahue (UNCOMA).

Se toma como eje a la evaluación, considerada a ésta en un sentido amplio: para el diagnóstico, para la enseñanza, para la comprensión y finalmente para la acreditación. Teniendo en cuenta que la evaluación de las diversas actividades, las cuales no son del tipo numérico, la lógica difusa resulta una técnica ideal, por la virtud de poder

utilizar etiquetas lingüísticas, lo que permite resolver este tipo de problemas con mayor interpretabilidad al modelar los conjuntos difusos de las variables de entrada y salida de los controladores.

La investigación exploratoria efectuada toma como objeto de estudio las evaluaciones de dos cursos de la asignatura Geometría III (Proyectiva), del Profesorado en Matemática de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones, correspondientes a las cohortes 2013 y 2014, que se dicta en el tercer año de la carrera durante el segundo cuatrimestre del ciclo lectivo.

El objetivo general propuesto, para llevar a cabo la investigación es desarrollar un método basado en lógica

difusa para la obtención de calificaciones, producto de la evaluación. En tanto que los objetivos específicos que permitieron el cumplimiento del mismo son: a) Definir, para cada instancia de evaluación, las variables lingüísticas de entrada y de salida, y delimitar la totalidad de las reglas difusas capturadas a partir de la experiencia del docente. b) Seleccionar el o los métodos adecuados para la defusificación. c) Comparar los resultados obtenidos mediante la técnica difusa con los procedentes del proceso de evaluación histórico del mismo período.

## MARCO TEÓRICO

### La Evaluación

Una variable importante en el proceso de construcción y apropiación del conocimiento es el tipo de práctica evaluativa que se realiza. En esta se puede o bien abonar u obstaculizar la adquisición del conocimiento del alumno. En general, cuando se alude a la evaluación en el ámbito académico suele decirse que es llevada a cabo “mediante un proceso” pero, contrario a esto, en general, el docente concluye realizando el control y registro de los resultados, supuestamente objetivos, obtenidos de pruebas o exámenes parciales [1].

La evaluación, dentro del proceso de enseñanza y aprendizaje, es un área compleja y controversial, que sirve para acreditar como para diagnosticar, retroalimentar, reflexionar, regular y optimizar los aprendizajes [2].

Tres son las fases o etapas que pueden distinguirse en la evaluación, claramente diferenciadas aunque complementarias: diagnóstico inicial, evaluación diagnóstica continua y acreditación [3]. La primera tiene como objetivo establecer y reconocer los saberes que han incorporado los alumnos en años previos para delinear la propuesta de enseñanza y repensar la práctica docente, para proponer actividades adecuadas a los conocimientos y herramientas disponibles en la matriz cognoscitiva de los alumnos, y plantear adecuadamente los objetivos en función del grupo de alumnos. La segunda se aboca en recabar información sobre los saberes adquiridos por los alumnos durante el proceso de enseñanza y aprendizaje, a efectos de repensar la enseñanza, como también, establecer criterios tendientes a examinar los resultados de los aprendizajes de manera reflexiva y argumentada, para repensar la práctica docente. La tercera centra su atención en la verificación de resultados para certificar y legitimar los conocimientos detentados ante la institución y la sociedad [1].

Es fundamental incorporar instrumentos de evaluación que posibiliten recabar datos para el diseño de actividades más complejas y acordes a los objetivos planteados, al tiempo que permitan evaluar el proceso de aprendizaje [4]. Existen distintos tipos de instrumentos de evaluación, entre los más conocidos están: asociación libre y relaciones, dibujos e imágenes, utilización de analogías, cuestionarios,

mapas conceptuales, entrevistas clínicas, UVE heurística, etc.

### Lógica Difusa

La lógica difusa o lógica borrosa (fuzzy logic) fue postulada por Lotfi A. Zadeh en 1965, a partir de sus estudios de la lógica multivaluada aplicada a la teoría de conjuntos. La lógica booleana opera con información exacta y precisa, mientras que la lógica difusa lo hace con variables multivaluadas (valores diversos de pertenencia). Es decir, una proposición tiene un único valor de verdad (verdadero o bien falso), y en la lógica difusa, las cosas no son taxativamente verdaderas o falsas [5]. La lógica difusa puede emular la forma de percibir la realidad, ya que existe un “...claro contraste con el mundo idealizado de las matemáticas, nuestra percepción del mundo real está invadida por conceptos que no tienen fronteras nítidamente definidas...”. Es así que el paso de la pertenencia a la no pertenencia, de objetos a determinadas clases, no es brusca sino gradual [6].

Surge así la necesidad de operar con conjuntos difusos (fuzzy set). A todo conjunto difuso se le asocia un nombre o valor lingüístico definido por una etiqueta lingüística (adjetivo).

A diferencia de los conjuntos clásicos (crisp), en los que se establece una relación o función de pertenencia de un elemento a un conjunto, en los conjuntos difusos la función de pertenencia o inclusión (membership function) ( $\mu_A$ ) puede tomar valores en un intervalo, lo cual no implica un cambio de manera instantánea o taxativa como sucede en los conjuntos clásicos. Si A es un conjunto borroso incluido en un universo de discurso X, todo elemento de X tiene un grado de pertenencia a A generalmente considerado entre 0 y 1, donde el 1 representa la pertenencia total y el 0 la no pertenencia [6, 7].

Así como en la lógica clásica, la lógica difusa aborda el razonamiento mediante el tratamiento de proposiciones del tipo si-entonces (if-then); pero se diferencia de aquella en que los valores proposicionales pueden variar entre intermedios a verdadero y falso [7].

En 1974 el profesor Ebrahim H. Mamdani aplicó la teoría de la lógica difusa en el proceso de control de un motor de vapor. A partir de entonces se han sucedido una gran cantidad de aplicaciones [7].

Los controladores difusos son dispositivos de inferencia que permiten interpretar las reglas del tipo si-entonces, las cuales cuantifican en forma difusa, la descripción lingüística indicada por el experto, acerca de cómo realizar el control de una determinada tarea [8].

Los controladores difusos están conformados por el motor de inferencia y la base de conocimiento. La base de conocimiento se construye a partir del conocimiento y experiencia del experto, de manera que el controlador difuso emule la tarea realizada por éste. De acuerdo al tipo



de aplicación en el que se emplee, pueden incorporarse dos elementos adicionales: el fusificador (fuzzifier) y el defusificador (defuzzifier). Estos elementos permiten conectar al controlador difuso con el entorno real. Si el sistema de entrada es un conjunto difuso, obviamente no es necesario utilizar un fusificador [9].

En la Figura 1 se exponen, las variables de entrada correspondientes a un universo de discurso X y un conjunto de reglas de inferencia difusas que permiten generar el conjunto de variables de salida pertenecientes al universo de discurso Y.

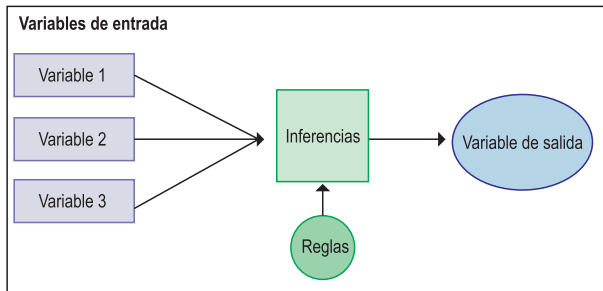


Figura 1: Diagrama en bloques de un controlador difuso

**Materiales y Métodos**

La investigación exploratoria efectuada tomó como objeto de estudio las evaluaciones de dos cursos de la asignatura Geometría III (Proyectiva), del Profesorado en Matemática de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones, correspondientes a las cohortes 2013 y 2014, la cual se dicta en el tercer año de la carrera durante el segundo cuatrimestre del ciclo lectivo.

La metodología constó de cuatro grupos de acciones claramente diferenciados: a) delimitación de las instancias de evaluación y acreditación, b) selección de la herramienta de modelado difuso, c) diseño y desarrollo del sistema de controladores difusos y d) comparación de resultados con los provenientes de la metodología tradicional llevada a cabo en la cátedra.

**a. Delimitación de las instancias de evaluación y acreditación**

La modalidad de dictado, de la asignatura Geometría III, es presencial, con desarrollo en dos encuentros semanales de tres horas cada uno, donde la modalidad de trabajo se caracteriza por la combinación de clases teórico-prácticas y prácticas, de tipo aula-taller, dosificadas de acuerdo al grado de avance de los contenidos del programa.

Se han previsto dos instancias de exposición teórica, análisis y resolución de situaciones problemáticas, como así también de investigación, las cuales se realizaron en grupos reducidos con la posterior comunicación de resultados y defensa por parte de los integrantes (Entrevistas

Clínicas Grupales – ECG), lo que permitió llevar a cabo la evaluación en proceso.

El sistema de evaluación de la asignatura, previsto en el reglamento interno de la asignatura fue aprobado, por última vez, en el año 2013, y se expone en el Cuadro 1.

**Cuadro 1:** Reglamento interno de la asignatura

a.	Participación del alumno en las clases teórico-prácticas, su desempeño en la realización de los trabajos prácticos en las clases prácticas y trabajos grupales.
b.	Condición necesaria, aunque no suficiente, de asistencia al 80 % del total de las clases.
c.	Se tomarán dos exámenes parciales de carácter teórico-práctico, pudiéndose recuperar ambos. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promoción: el alumno deberá aprobar ambos parciales, o en su defecto el correspondiente recuperatorio con una nota mayor o igual a seis.</li> <li>• Regularidad: si el alumno aprueba ambos parciales con una nota mayor o igual a cuatro pero menor a seis, es considerado alumno regular, aunque cuenta con la posibilidad de realizar un recuperatorio integrador, de manera tal que si la nota obtenida es mayor o igual a seis está en condición de promocionar la asignatura.</li> </ul>
d.	En caso de no cumplir con ninguna de las condiciones explícitas en el ítem "c", la condición final será la de "alumno libre".

Los criterios y estándares utilizados en el proceso de evaluación fueron:

I) LOGROS Y APRENDIZAJES SIGNIFICATIVOS: a efectos de evaluar el desempeño del estudiante, ya sea en exámenes parciales o en ECG, se diseñó la "Rúbrica 1" (Cuadro 2), en la que se describieron las evidencias a evaluar [1].

**Cuadro 2:** Rúbrica1

nivel	MB	B	R	INSUF.
Evidencia	Contesta con precisión la consigna, y muestra un gran dominio de los conceptos involucrados.	Contesta con mediana precisión la consigna, o muestra dominio de algunos conceptos involucrados.	Contesta la consigna con dificultades, o muestra un escaso dominio de los conceptos involucrados.	No responde la consigna o la responde de manera incorrecta

II) DESEMPEÑO INDIVIDUAL Y/O GRUPAL: para evaluar el desempeño del estudiante o del grupo al que pertenece se contemplaron los siguientes aspectos que conforman la Actitud-proactiva y permitieron diseñar la "Rúbrica 2" (Cuadro 3) [1]: comportamiento participativo en clase, cumplimiento de tareas o actividades asignadas, interacción con los restantes integrantes del grupo de pertenencia como con los restantes integrantes del curso, compartir sus aprendizajes con sus compañeros.

**b. Selección de la herramienta de modelado difuso**

Para modelar los conjuntos difusos y sistemas de inferencia fue elegido el software Matlab®. A su vez, se seleccionó la herramienta "FIS" (Fuzzy Inference System), que es un editor para modelar controladores difusos del tipo Mamdani y/o Sugeno. Para la definición de las reglas de inferencia se optó por la arquitectura Mamdani.

Cuadro 3: Rúbrica 2

nivel	ALTO	MEDIO	BAJO
Evidencia	Participa muy frecuentemente mostrando dominio de los temas abordados en clases anteriores. Asume un alto compromiso de compartir sus aprendizajes con sus compañeros. Cumple con todas las actividades asignadas.	Participa frecuentemente mostrando un mediano dominio de los temas abordados en clases anteriores. Asume un moderado compromiso de compartir sus aprendizajes con sus compañeros. Cumple con la mayoría de las actividades asignadas, haciendo necesario el reclamo de las faltantes.	Escasa participación en las clases mostrando un relativo dominio de los temas abordados en clases anteriores. No se involucra con el aprendizaje de sus compañeros. Es necesario el reclamo de un gran número de actividades faltantes, asignadas por las docentes.

**c. Diseño y desarrollo del sistema de controladores difusos**

**I) Controlador difuso N° 1**

Este controlador fue diseñado para la evaluación de los exámenes parciales, recuperatorios y ECG. Cuenta con cinco variables de entrada, (correspondientes a cada uno de los ejercicios de los exámenes parciales y/o núcleos temáticos de las ECG) y una de salida (una décima de la calificación). De entre las herramientas que brinda el editor FIS de Matlab® se utilizaron: el método *Prod* (producto) para el *And* (conjunción), el método *Max* (máximo) para el *Or* (disyunción), *Sum* (suma) para la agregación y el *Centro de gravedad* para la transformación de variables lingüísticas (*defusificación*). Las funciones de pertenencia, tanto de las variables de entrada como la de salida, se definieron como tipo gaussiana (gaussmf). De idéntica manera, se han considerado

tres set difusos para las cinco variables de entrada, cuyas etiquetas lingüísticas son: mal, regular y bien. Tanto las variables de entrada como de salida se han normalizado en un intervalo de valores comprendido entre 0 y 1, el cual constituye el respectivo universo de discurso de la variable. En la Figura 2 se presentan las funciones de membresía con las respectivas etiquetas. Por otra parte, los set difusos correspondientes a la variable de salida son: desaprobado, regulariza y promociona (Figura 3).

Dado que tanto las variables de entrada y de salida cuentan respectivamente con set difusos conformados, por tres conjuntos difusos, lo cual implica la formación de una gran cantidad de reglas difusas de inferencia, ante la presencia de correspondencias causales entre las variables de entrada y salida. Razón por la cual, la arquitectura de este controlador consta de un total de 201 reglas de inferencia. Si bien FIS permite agregar pesos a cada regla, en este caso no se aplicó.

**II) Controlador difuso N° 2**

El controlador difuso N° 2 fue diseñado para la obtención de calificación, en la etapa de acreditación, de aquellos alumnos que estaban en condiciones de promocionar la asignatura. Es decir, aquellos estudiantes que aprobaron, con nota de promoción, los parciales o recuperatorios y las ECG. Este controlador cuenta, por un lado con cinco variables de entrada: 1er-parcial, 2do-parcial, 1er-ECG, 2da-ECG, Actitud-proactiva; y por otro con una variable de salida: Acreditación. Los métodos utilizados en la herramienta FIS son los mismos que los adoptados para el controlador difuso N°1. Los tres set difusos para las

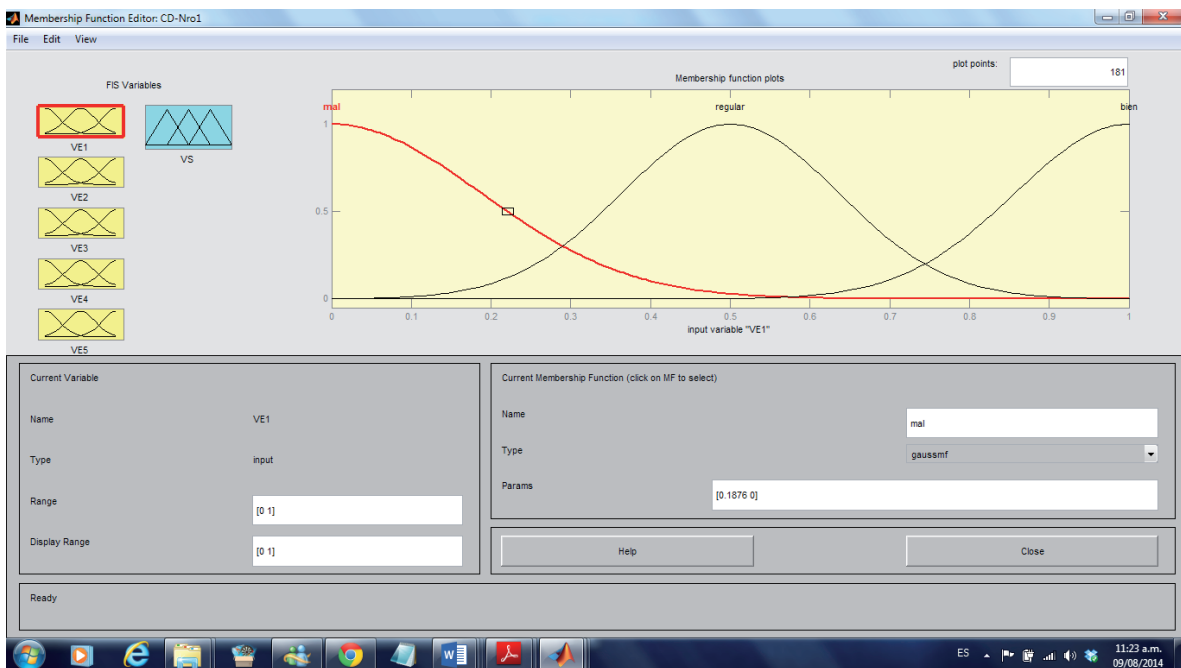


Figura 2: Set difuso de una variable de entrada del controlador difuso N° 1

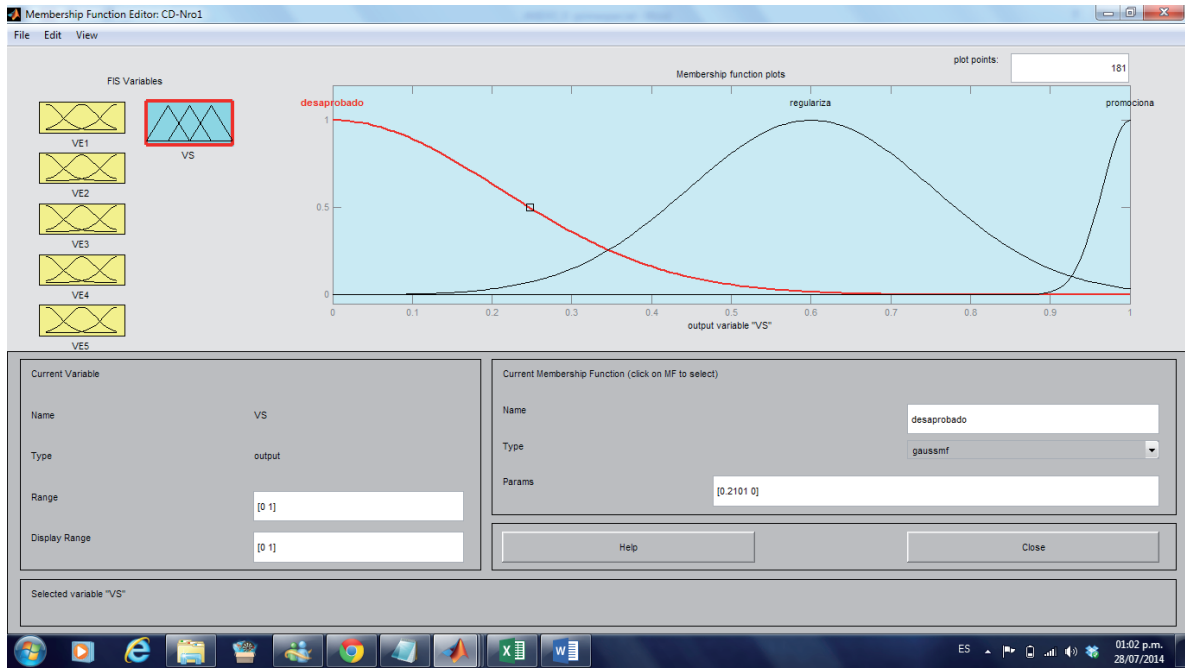


Figura 3: Set difuso de la variable de salida del controlador difuso N° 1

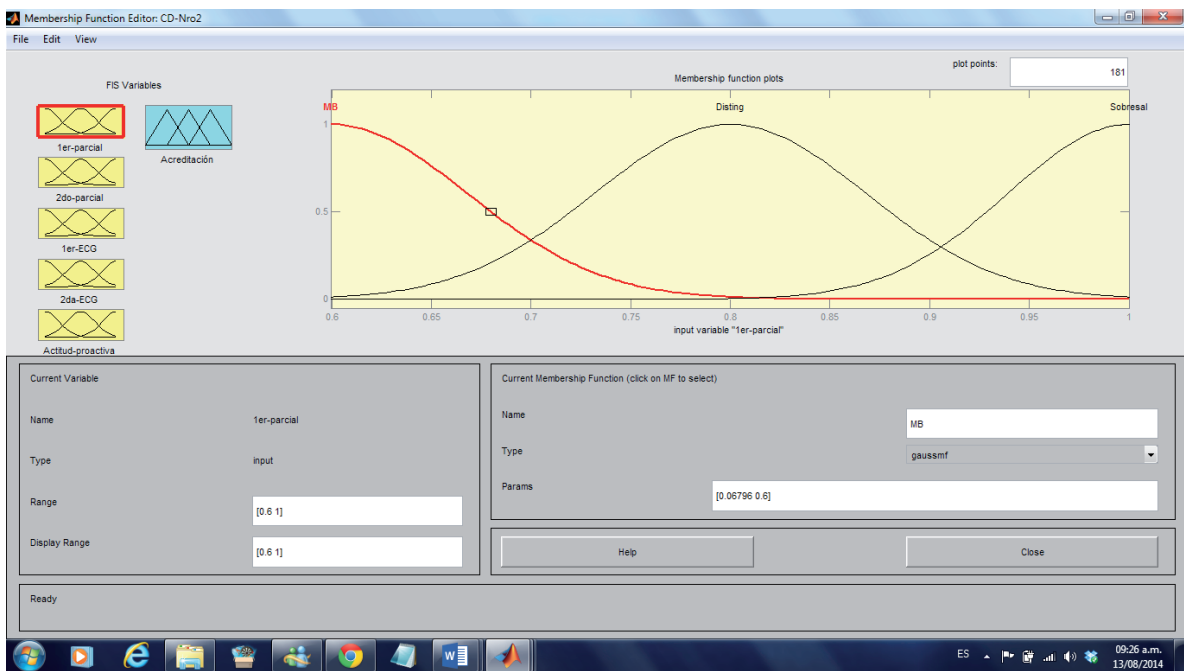


Figura 4: Set difuso de la primera variable de entrada del controlador difuso N° 2

primeras cuatro variables de entrada fueron diseñados de forma idéntica, cuyas etiquetas lingüísticas son: muy bien, distinguido, sobresaliente (Figura 4). En tanto que para la quinta variable de entrada, Actitud proactiva, las etiquetas son: baja, media, alta (Figura 5). Respecto de la variable de salida las etiquetas son: muy bien, distinguido, sobresaliente (Figura 6). Tanto las varia-

bles de entrada como de salida se han normalizado en un intervalo de valores comprendido entre 0,6 y 1, el cual constituye el respectivo universo de discurso de la variable.

La existencia de correspondencias causales entre las variables de entrada y salida, derivó en la definición de un total de 192 reglas de inferencia.

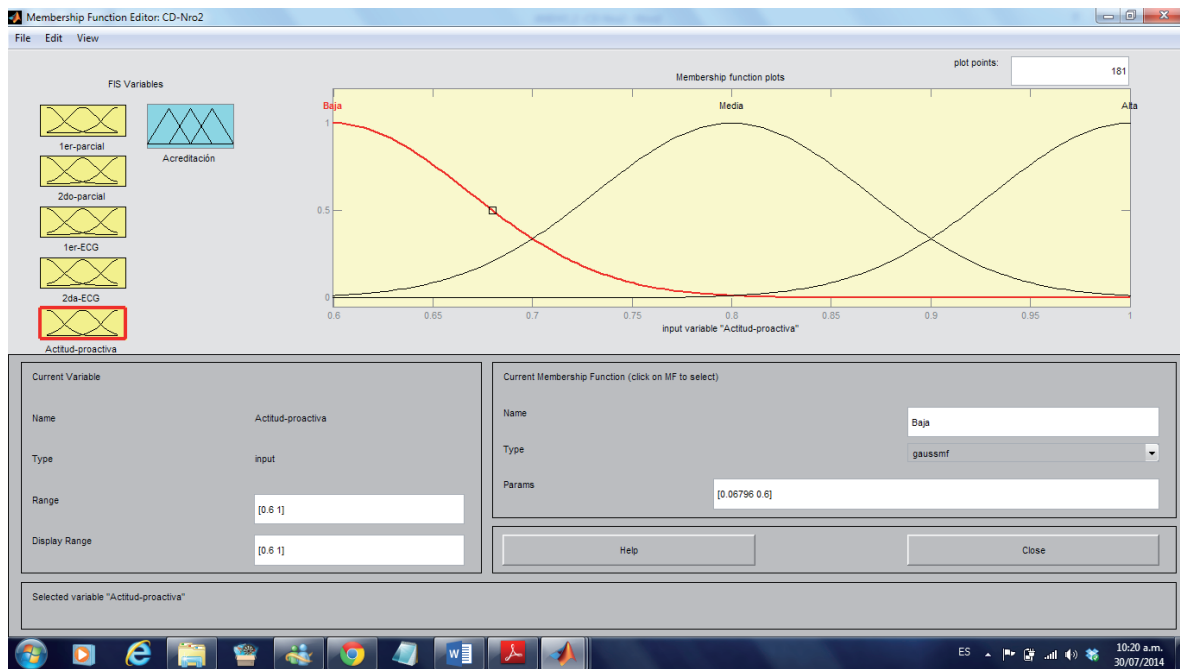


Figura 5: Set difuso de la variable de entrada Actitud-proactiva del controlador difuso N° 2.

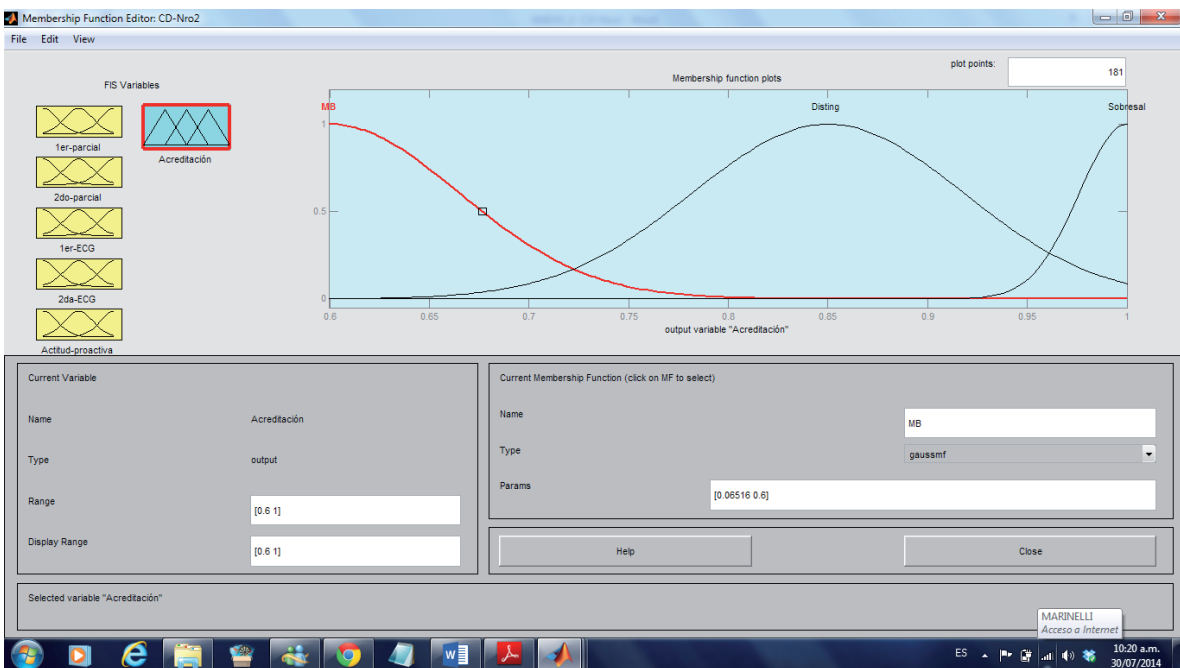


Figura 6: Set difuso de la variable de salida del controlador difuso N° 2.

## Resultados

Las cantidades de alumnos que cursaron la asignatura, respecto de los cuales se llevó a cabo la investigación exploratoria, fueron: 22 y 31 respectivamente correspondientes a los ciclos lectivos 2013 y 2014. A efectos de identificar a cada uno de los alumnos se asignó un código de manera de identificarlo por un alias. Para realizar la codificación mencionada se optó por asignar una letra imprenta mayúscula a cada grupo, y a su vez, se numeró a cada integrante a partir del número uno.

En el Cuadro 4 se exponen los valores y notas de salida, obtenidos con FIS a partir de los valores crisp de entrada, correspondientes a las cuatro instancias evaluativas (1er parcial o recuperatorio, 2do parcial o recuperatorio, 1era ECG, 2da ECG) de dos alumnos testigos, acompañados, en cada caso, por las asignadas por el cuerpo docente en la instancia de evaluación respectiva, obtenidos con el controlador difuso N° 1. Se describe, a continuación lo acontecido en cada una de las mencionadas instancias para los alumnos seleccionados:

- **Primer parcial:** Se aprecia que C3 alcanzó la nota de promoción en tanto que B2 no la alcanzó, por lo cual debió recuperar.
- **Recuperatorio del primer parcial:** B2 superó la nota de promoción.
- **Segundo parcial:** Ambos alumnos obtuvieron notas inferiores a seis por lo cual debieron recuperar este parcial.
- **Recuperatorio del segundo parcial:** C3 promocionó este examen, en cambio B2 no.
- **Primera ECG:** Cabe aclarar que para esta instancia, al igual que la segunda ECG, se señalan las valoraciones que la docente asignó al desempeño grupal por las respuestas dadas a cada uno de los cinco núcleos temáticos abordados, la nota de salida del controlador difuso, la nota de la ECG estipulada por la profesora, en el momento de la exposición. En particular, ambos grupos, B y G, a los que pertenecen los alumnos testigos, tuvieron un desempeño lucido, lo cual se traduce en las valoraciones y notas que constan en la fila correspondiente del Cuadro 4.
- **Primera ECG:** Iguales consideraciones que las hechas en el ítem anterior.

En el Cuadro 5 se exponen las notas de salida, obtenidas a expensas de FIS, para las cuatro instancias evaluatorias a las que se le incorpora el valor crisp para la quinta variable “Actitud-proactiva”.

**Cuadro 4:** Valores y notas de salida de instancias de evaluación obtenidos con el CD N° 1

	ALUMNO	EJ. 1	EJ. 2	EJ. 3	EJ. 4	EJ. 5	VALOR DE SALIDA	NOTA DE SALIDA	NOTA PROF
1ER PARCIAL	B2	0,75	0	0,8	0,8	0	0,513	5,13	5
	C3	0,3	0,4	1	1	1	0,958	9,58	9
RECUP 1ER PARCIAL	B2	0,8	1	0,8	0,75	0,8	0,942	9,42	9
2DO PARCIAL	B2	0,9	0,8	0	0,5	0	0,533	5,33	5
	C3	0,3	0,75	0	0,8	0,5	0,505	5,05	5
RECUP 2DO PARCIAL	B2	0,5	0,5	0,5	0,3	0,5	0,445	4,45	4
	C3	0	0,8	0,5	0,5	1	0,661	6,61	7
1ERA ECG	B	1	0,8	0,8	0,8	0,8	0,944	9,44	9
	C	0,8	0,7	0,7	0,7	0,8	0,795	7,95	8
2DA ECG	B	1	1	0,8	1	0,9	0,962	9,62	10
	C	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,937	9,37	9

Como B3 no alcanzó nota de promoción en el recuperatorio del segundo parcial, sólo pudo regularizar la asignatura. Es así que únicamente cargaron, en el controlador difuso N° 2 los valores de salida del controlador difuso N° 1 pertenecientes a C3 (Cuadro 5).

**Cuadro 5:** Determinación de la nota de salida con el CD N° 2 para la acreditación

Alumno	Valores de salida del CD N°1						Act. Pro-Activa	Valor de Salida	Nota de Salida	Nota Prof
	1er Parc	REC	2do Parc	REC	1era ECG	2da ECG				
	0,958	...	0,505	0,61	0,795	0,937	0,8	0,837	8,37	8

### Conclusiones

En el presente trabajo pudo diseñarse y construirse un sistema de dos controladores difusos para la obtención de calificaciones a efectos de la acreditación de las cohortes 2013 y 2014 de Geometría III (Proyectiva), del Profesorado en Matemática de la FCEQyN de la UNaM. Se han considerado todas las instancias y fases de evaluación.

Para la construcción de los dos controladores difusos se eligió el software Matlab®, ya que cuenta en su entorno con la herramienta FIS, para el modelado de controladores difusos, en tal sentido se utilizó la arquitectura MAMDA-NI. En ambos casos la cantidad de variables de entrada fue 5 y 1 respectivamente. Se delimitaron la totalidad de reglas difusas, basadas en la experiencia docente, contando con un total de 201 y 192 reglas para los controladores N° 1 y N° 2 respectivamente.

Haber elaborado una modelización como la presente posibilitó, en función de entradas crisp, realizar una fusificación, y a través del sistema de inferencias, agregación y finalmente defusificación, mediante el centro de gravedad, obtener una nota que resultó más equitativa que la obtenida con la metodología de evaluación tradicional, llevada a cabo por el cuerpo docente.

En esta propuesta, para abordar el proceso de acreditación, se necesita una etapa adicional la cual fue puesta en juego con el controlador difuso N° 2, sin embargo esta tarea es en beneficio de la equidad y de una sistematización de labores.

La modelización de los controladores creados permitió determinar la nota final de acreditación con un nivel mayor de certidumbre, ya que cada uno se encontraba en el umbral correspondiente (o en proximidades del umbral).

Asimismo, se confrontaron los resultados vertidos por el sistema de controladores difusos con los provenientes del proceso de evaluación tradicional del mismo período. Siendo el error porcentual inferior al 8%.

Pudo establecerse que la metodología propuesta resultó más equitativa que la tradicional debido a que, por un lado, se eliminaron posibles errores y, por otro, se modelaron las variables de entrada y salida de manera que los controladores proveen una función que las vincula dando como resultado un valor acorde a la singularidad y desempeño de cada alumno, cualidad asociada a través de variable “Actitud proactiva”. Además, a diferencia del promedio se pueden dar peso a las reglas y operar con funciones de pertenencia que sean no lineales como el promedio.

Debido a su interpretabilidad permite ser utilizado por usuarios no expertos en lógica difusa.

Por otra parte, al difundirse esta metodología, en el contrato didáctico, se muestra a los alumnos un área de la matemática no abordada en la carrera. Con lo cual los alumnos pueden interesarse en el abordaje metodológico o bien en la teoría de la lógica difusa para otros usos que estimen.

En lo personal y profesional, esta no es una cuestión menor ya que siempre existió la preocupación de conjugar la forma de llevar a cabo una evaluación en sentido amplio, pero al mismo tiempo de una manera ecuánime.

Con el diseño, construcción e implementación del sistema de controladores difusos para la obtención de calificaciones, se cumplieron tanto el objetivo general como los específicos, propuesto en el plan de tesis.

#### Bibliografía

1. **Lombardo, G. y Chrobak, R. (2015).** *Uso de la Entrevista Clínica en la Evaluación Diagnóstica Continua en Geometría Proyectiva*. Revista de Ciencia y Tecnología RECyT. 17 (24), 65-69. Recuperado de <http://www.fceqyn.unam.edu.ar/recyt/>
2. **Anijovich, R. y González, C. (2013).** *Evaluar para aprender. Conceptos e instrumentos*. Buenos Aires, Argentina: Aique Grupo Editor. (p. 10).
3. **Palou de Maté, M. (2003).** *Evaluar para enseñar y evaluar para acreditar. C. Palou de Maté (Comp.)*. La enseñanza y la evaluación. Una propuesta para matemática y lengua (pp. 19-48). Buenos Aires. GEEMA–UNCo Facultad de Cs de la Educación–CEDiCo. (p.19)
4. **Rodríguez, M. (2012).** *Resolución de Problemas*. M. Pochulu & M. Rodríguez. (Comps). Educación Matemática. Aportes a la Formación Docente desde distintos enfoque teóricos. (pp.153-174). Buenos Aires, Argentina: Editorial UNGS – EDUVIM. (p. 164)
5. **Ballester Brage, L. y Colom Cañellas, A. J. (2006).** *Lógica difusa: una epistemología para las Ciencias de la Educación*. Revista de Educación, 340, 995-1008. Recuperado de <http://www.mecd.gob.es/revista-de-educacion>
6. **Zadeh, L. A. (1996).** *Nacimiento y evolución de la lógica borrosa, el soft computing y la computación con palabras: un punto de vista personal*. Psicothema, 8 (2), 421-429. Recuperado de <http://www.psicothema.com/>
7. **Martín del Brío, B. & Sanz Molina, A. (2007).** *Redes neuronales y sistemas borrosos*. México: Alfaomega.
8. **Gómez Salas, F. (2005).** *Sistemas difusos jerárquicos para modelado y control*. Centro de investigación y de estudios avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Distrito Federal, México.
9. **Barragán Piña, A. J. (2009).** *Síntesis de sistemas de control borroso estables por diseño*. Universidad de Huelva, Huelva, España. Recuperado de <http://rabida.uhu.es/dspace/handle/10272/2629>

Recibido: 12/11/2015.

Aprobado: 05/04/2016.

RECYT

Año 19 / N° 27 / 2017 / 31–38

## La interrelación entre lo disciplinar y lo pedagógico-didáctico en la enseñanza universitaria de las Matemáticas

### The relationship between content knowledge and pedagogical knowledge in the teaching of Mathematics at University

Lorena Cruz\*

Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

\* E-mail: lorenacruzgarcette@gmail.com

#### Resumen

A través de un estudio de casos cualitativo de investigación con profesores universitarios se profundizó la interrelación entre el conocimiento disciplinar y el conocimiento pedagógico-didáctico que se pone en práctica en la enseñanza. Concretamente, se presenta el análisis y los resultados del intra-caso de un profesor de Matemáticas. La interrelación entre estos dos conocimientos se opone a una mirada lineal y jerárquica de una sobre la otra. Todo lo contrario emerge una interrelación compleja en donde el marco epistemológico personal del profesor, la cultura disciplinar, el contexto académico y personal asumen un fuerte sentido en esta interrelación. Además, y con un peso categórico emergen otros aspectos que revelan un sentido fuertemente ontológico en esta interrelación: la preocupación por el estudiante, por su aprendizaje, sus errores, sus temores e inquietudes.

Palabras clave: Enseñanza universitaria; Enseñanza de las matemáticas; Enseñanza centrada en el estudiante; Relación entre lo disciplinar y lo pedagógico.

#### Abstract

The relationship between content knowledge and pedagogical knowledge of the teaching practice has been strengthened by means of a qualitative case study with university teachers. Specifically, this article presents the analysis and the results of the intra-case of a Mathematics teacher. The relationship between these two types of knowledge is not linear nor hierarchical, but quite the opposite. It is a complex relationship where the teacher personal epistemological framework, the disciplinary culture and the academic and personal context, play an important role. Moreover, some aspects emerge with a definite strength they reveal the ontological sense of this relationship: concern about the students, about the learning process, students' mistakes, worries, and anxieties.

Keywords: University teaching, Mathematics teaching; Student-Centered teaching; Relationship between content and pedagogical knowledge

#### Introducción

En el marco de la educación científica y en el ámbito universitario interesa comprender cómo es la relación entre el conocimiento disciplinar y el conocimiento pedagógico-didáctico que se pone en juego en la práctica de enseñanza del profesor universitario, ¿cómo es esta interrelación?, ¿es una relación de fuerzas en donde una se impone sobre la otra?, ¿cómo se construye esta interrelación en el marco del contexto universitario?

Para dar respuestas a estas preguntas es necesario contextualizar estos interrogantes en el marco de la enseñanza universitaria. En este contexto no es posible entender la docencia aislada de las otras funciones que configuran al académico universitario, la investigación, la gestión y

la extensión. La interrelación entre estas funciones no es siempre equilibrada, en algunas ocasiones algunas de ellas tienen más peso que otras.

Durante algún tiempo la investigación y la especialización en el área de conocimiento subordinaron el ejercicio de la docencia [1,2]. Esto no significa que la docencia no tuviese un rol importante dentro las funciones claves de la universidad, sino que la misma se asumía, y en muchos casos se sigue asumiendo, como la mera transmisión del conocimiento experto. Por lo tanto para el ejercicio de la docencia bastaba con dominar la disciplina. Con el tiempo la función docente empieza a concentrar mayor interés, desde la década de los 80 aproximadamente empieza a surgir la preocupación por la calidad de la docencia, la formación y el desarrollo de la misma [3,4,5,6]. La in-

vestigación sobre la docencia y la enseñanza universitaria empiezan a tomar forma, empiezan a emerger dentro de las universidades centros dedicados al desarrollo y actualización profesional de la función docente [7], destinados no solamente a la formación sino también a la investigación sobre la enseñanza. En la actualidad un gran número de universidades cuentan con un centro de investigación, innovación y formación de la docencia universitaria.

Si nos acercamos aun más al contexto de estas prácticas de enseñanza universitaria, empiezan a emerger aspectos propios de la cultura de cada disciplina, de cada área de conocimiento.

Algunas investigaciones que buscan establecer la relación entre el área de conocimiento y la práctica de enseñanza, destacan que hay una fuerte tendencia de los profesores pertenecientes a las ciencias duras-puras y duras-aplicadas hacia un enfoque de la enseñanza centrado en la propia actividad del docente, mientras que los de ciencias blandas se centran en los estudiantes, en su aprendizaje [8,9]. Estos resultados afirman que los contextos de formación y práctica se relacionan íntimamente con las perspectivas de enseñanza que adoptan los profesores universitarios, en este caso haciendo referencia al contexto propio de cada disciplina o área de conocimiento. Frente a esta línea de investigación cabe preguntarse, ¿no se corre el riesgo de valorar de forma positiva a la enseñanza de los profesores de las ciencias blandas, centrada en el aprendizaje de los estudiantes, y de forma negativa a los profesores de las ciencias duras por centrarse en su propia actividad, asumiendo el rol de transmisores de conocimiento?, ¿es posible entender la práctica docente desde una relación lineal en donde el tipo de ciencia determina la perspectiva de enseñanza del profesor universitario?

A partir de un acercamiento cualitativo de investigación, Quinlan [10] destaca la relación entre el marco epistemológico y la práctica de enseñanza en dos profesoras de la misma disciplina. Su estudio revela como desde visiones distintas sobre la misma disciplina, historia americana, los estilos de enseñanza son diferentes; una de las profesoras entendía la historia como un proceso de interpretación de hechos, mientras que la otra la entendía como la historia de vida de las personas. El posicionamiento epistemológico disciplinar distinto impacta, consecuentemente, en la práctica de la enseñanza de cada una de ellas, en los objetivos que se plantean para la asignatura, el tipo de evaluación, los estilos de enseñanza, etc. Esta línea de investigación revela una práctica de enseñanza que se interrelaciona con el marco epistemológico disciplinar del docente. Emerge desde esta mirada una relación más compleja entre el conocimiento disciplinar y el conocimiento pedagógico-didáctico, en donde este conocimiento disciplinar no es el mismo por el solo hecho de pertenecer a la misma área de conocimiento sino que el posicionamiento epistemológico orienta las decisiones pedagógico-didácticas del profesor.

Otra línea de investigación que indaga sobre el contexto

disciplinar y la práctica de enseñanza es aquella que afirma que las culturas propias de cada disciplina imponen su patrón tanto en la enseñanza como en otras actividades académicas. Las comunidades académicas conforman una cultura propia que influye en los modos de entender la realidad, de interactuar con él[11]. Más aun, Neumann [12] y Smeby [13] plantean que existe una interconexión inseparable entre los aspectos culturales de las disciplinas y sus aspectos cognitivos; es decir que la forma de pensar está delineada por la disciplina en la que se han formado y a la que pertenecen, y a su vez como esta forma de pensar propia de una disciplina tiene una influencia importante en la manera de enseñar e investigar. Esta mirada nos lleva a preguntarnos ¿cómo construye el profesor universitario su conocimiento docente en el marco de la comunidad científica particular a la cual pertenece?, ¿cómo influye la mirada de lo pedagógico-didáctico construido desde la comunidad científica a la cual pertenece, sobre su conocimiento docente?

Lipsman [14] a través de un estudio de casos con profesores universitarios indaga sobre los vínculos entre el territorio disciplinar de la Farmacia, la Bioquímica y la enseñanza en la Universidad de Buenos Aires. Aquí da cuenta como no solamente las características cognitivas de cada área de conocimiento se vinculan con la enseñanza, sino que además resalta como las luchas y los límites entre las disciplinas de una misma área de conocimiento también se hacen presente en los estilos y propuestas de enseñanza, como las tradiciones de delimitación de su campo impregnan las innovaciones pedagógicas actuales.

Este breve recorrido sobre miradas diversas entre lo disciplinar y lo pedagógico-didáctico del conocimiento docente permite al lector anticipar la complejidad de una práctica de enseñanza universitaria que no se puede entender fuera del entretendido que configura su contexto.

En el marco de este posicionamiento teórico se desprenden los resultados de un proceso doctoral de investigación con profesores de la Universidad de Barcelona durante el período 2007-2011. A través de un estudio de casos cualitativo [15], con profesores de diversas áreas de conocimiento (Salud, Matemáticas y Economía), se profundizó en la comprensión de sus prácticas de enseñanza poniendo la mirada en la interrelación entre el marco epistemológico disciplinar y el conocimiento pedagógico-didáctico. Interesa comprender ¿cómo es la relación entre el conocimiento disciplinar y el conocimiento pedagógico-didáctico que se pone en juego en la práctica de enseñanza en un contexto institucional y cultural-disciplinar concreto?, ¿cómo se configura el conocimiento pedagógico-didáctico práctico del profesor universitario, en la interrelación con el marco epistemológico personal de su disciplina / área de conocimiento?, ¿cómo se caracteriza esta interrelación entre el conocimiento propio de la función docente y su marco epistemológico disciplinar en un contexto particular?

Particularmente en este escrito se dará cuenta de los



resultados alcanzados en el análisis intra-caso del profesor de Matemáticas.

### Propuesta metodológica de investigación en el marco las ciencias sociales

Esta investigación se desarrolló desde una propuesta de investigación fenomenológica–hermenéutica [16]. El foco está puesto en los fenómenos sociales que a diferencia de los fenómenos naturales que estudian las ciencias naturales, éstos se insertan y guardan sentido en una complejidad de significados locales, reflejos de un mundo simbólico más subjetivo, y extralocales pertenecientes al mundo simbólico más objetivo [17].

El comportamiento humano está principalmente constituido por acciones que poseen un sentido para quienes las realizan, se puede acceder a ellas en la medida en que se conoce el sentido que le atribuye el actor individual [18]. Cuando nos interesamos desde la investigación por los significados que resguardan las acciones nos acercamos a una mirada fenomenológica, concretamente aquí la mirada está puesta en aquellos significados que llevan a la construcción del conocimiento pedagógico-didáctico del profesor universitario.

Siguiendo la tendencia fenomenológica-hermenéutica, se asume al conocimiento como unaco-construcción de significados [19] cargados de interpretaciones. Estos significados son interpretados dentro de un contexto, forman parte del entorno. Para comprender el significado es necesario moverse dialécticamente entre la parte y el todo, como en el círculo hermenéutico propuesto por Gadamer [20].

Desde la perspectiva fenomenológica-hermenéutica anteriormente mencionada, en este trabajo, se optó metodológicamente por un Estudio de Casos Cualitativo y múltiple. El interés está en profundizar la comprensión del fenómeno, por lo cual los casos que contribuyan a la comprensión del mismo tienen un interés secundario. En cuanto a la selección de los casos está en función de la contribución que puedan ofrecer a la comprensión de dicho fenómeno.

La selección de los casos quedó constituida por tres profesores de áreas distintas del conocimiento de la Universidad de Barcelona, un profesor del área de las Matemáticas, uno del área de las Ciencias Médicas y una profesora del área de las Ciencias Económicas.

Estos profesores se seleccionaron sobre la base de un listado de docentes universitarios reconocidos como “profesores expertos”. Esta lista se construye a través de un proceso de muestreo intencional [21] en el marco del proyecto de investigación “Coneixement Didàctic del Contingut en l’ensenyament universitari: gènesi i influències mútues dels sabers pedagògics i disciplinars en els docents experts” período 2004-2006, financiado por la Universidad de Barcelona y dirigido por Dr. Medina Moya. Este proceso de seis meses procuró ser riguroso en todas

sus etapas. Se consultaron distintas fuentes de información (estudiantes, profesores noveles y profesores con mayor experiencia) a través de encuestas y entrevistas.

Finalmente, el listado de docentes universitarios presentó rasgos pertinentes para ser incluidos en este estudio de casos cualitativo instrumental. Por un lado las características de los docentes pertenecientes a la muestra, profesores valorados positivamente por su docencia, tanto por sus estudiantes como por sus colegas, revela una interesante relación entre la dimensión pedagógico-didáctica y la dimensión del conocimiento del contenido. Por otro lado, y en relación al marco epistemológico disciplinar es necesario que el profesor/a universitario/a elegido/a tenga una importante trayectoria en su propia área de especialización. Ha de tratarse de un académico/a con un dominio profundo del conocimiento del contenido, este dominio devela el sustento epistemológico disciplinar al cual adhiere.

#### El caso del profesor de Matemáticas:

Profesor:	JORDI
Cargo:	Titular de Escuela Universitaria
Antigüedad:	más de 20 años
Facultad y Departamento:	Facultad de Economía y Empresa Departamento Matemática Económica, Financiera y Actuarial
Asignatura:	Introducción a las matemáticas en la Licenciatura en Administración y Dirección de Empresas. (Libre elección de 6 créditos)

El proceso de recogida de datos cualitativos implicó un recorrido exhaustivo y enriquecedor, se utilizaron distintos instrumentos de recolección de información: la observación y registro denso de clases de los profesores, la entrevista en profundidad con los docentes, las conversaciones informales antes y después de clases y el análisis de documentos y materiales didácticos.

La observación y el registro de clase fue uno de los instrumentos clave, se presenció el 80% de la totalidad de las clases de cada uno de los docentes durante un semestre en la misma asignatura. Para que los registros fueran exhaustivos, se grabaron en video simultáneamente las clases. La observación de clase durante un período prolongado se sostiene en la idea de entender a las clases como un todo, no como algo fragmentado, la comprensión de la complejidad del accionar dentro del aula demanda una observación sistemática y perdurable en el tiempo.

La entrevista cualitativa en profundidad es otro de los instrumentos utilizados, se llevaron a cabo dos con cada uno de los profesores. La primera de ellas se centró por un lado en indagar sobre el recorrido de cada una de las trayectorias de estos docentes, y por otro identificar las concepciones que sustentan los mismos en relación a sus marcos epistemológicos, y acerca de las políticas educativas universitarias relacionadas con la función docente. La segunda entrevista en profundidad se llevó a cabo después de un primer nivel de análisis de los registros de las observaciones de clase. La misma se centró en la práctica de enseñanza dentro del aula. Además, se mantu-

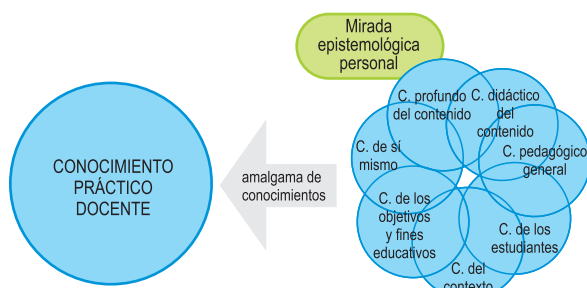
vieron conversaciones informales con los docentes antes y después de las clases. Este tipo de diálogo permitió desde un acercamiento informal establecer una relación de mayor confianza con el/la protagonista, conocer la actividad académica del/la mismo/a más allá de las clases, indagar de forma inmediata sobre los significados que otorgan a sus acciones dentro del aula.

Por último, el análisis de documentos es la pieza final de los instrumentos de recogida de información. Para este análisis se tuvo en cuenta los Planes docentes de las asignaturas observadas, material didáctico elaborado por el docente, algunos de ellos en formato papel y otros subidos al aula virtual.

También se seleccionaron algunos documentos propios de la política institucional que se interrelacionan con la docencia universitaria; éstos permitieron conocerlos lineamientos de la política institucional dentro de los cuales se desarrollan las prácticas de enseñanza de los profesores protagonistas de esta investigación.

Siguiendo el Método Comparativo Constante [22] se desarrolló el análisis de los datos a través de un proceso riguroso, sistemático y fuertemente inductivo. Se decidió en un primer momento hacer un análisis intra-caso exhaustivo, es decir que se analizó minuciosamente cada uno de los casos en su particularidad. Luego se llevó a cabo un análisis transversal o inter-caso. El análisis se configuró a través de tres fases: la codificación abierta, la codificación axial y la codificación selectiva [23]. La primera fase de codificación abierta implica un proceso de segmentación de bajo nivel inferencial en la construcción de códigos, se trata que sean los mismos datos los que se expresen. La codificación axial desde un nivel más conceptual permite la reagrupación de los datos en un proceso de entretejido entre categoría y subcategorías. Finalmente, y desde una codificación selectiva, se construye una meta categoría central que permite la relación transversal de análisis.

El conocimiento práctico docente emerge como la metacategoría medular y a través de ella se pueden ir estableciendo las relaciones con las otras categorías.



**Figura 1:** La relación del conocimiento profundo del conocimiento y el conocimiento pedagógico-didáctico en el marco del conocimiento práctico docente.

El conocimiento práctico docente está configurado por una amalgama de conocimientos, representado en este caso por los siete círculos de conocimientos que se interrela-

cionan entre sí. Uno de ellos es el conocimiento profundo del contenido, allí se resguarda el marco epistemológico personal.

El gráfico revela que dada la complejidad del conocimiento práctico docente no es posible pensar en una relación lineal en donde lo epistemológico informa a lo pedagógico-didáctico o al revés. Las interrelaciones que se dan en el interior de dicha amalgama son mucho más complejas, en ellas el marco epistemológico se constituye en el fundamento del conocimiento del contenido e interactúa con los otros conocimientos.

## Resultados

Aquí se presentan los resultados del análisis intra-caso del profesor de Matemáticas. En primer lugar el foco está puesto en cómo es la interrelación entre el conocimiento disciplinar desde el marco epistemológico personal y el conocimiento pedagógico-didáctico. Luego, el recorte de esta interrelación entre estos dos conocimientos empieza a expandirse y a revelar una interrelación compleja en donde el otro, el estudiante empieza a plantear su presencia con mucha fuerza a la hora de tomar decisiones pedagógico-didácticas por parte del docente.

### La interrelación entre el marco epistemológico disciplinar personal y el conocimiento pedagógico-didáctico.

#### Rasgos del marco epistemológico disciplinar del profesor de Matemáticas

En primer lugar es importante definir algunos rasgos que caracterizan el marco epistemológico disciplinar personal de Jordi. A través de las entrevistas en profundidad con Jordi se pudo reconstruir su posicionamiento epistemológico disciplinar:

Jordi: “... *La ciencia es el conocimiento fundamental. Ya está, sólo te diría esto como definición. Luego tiene unas formas de aplicarse que tienes que repetirlo con un experimento, que tienes que contrastarlo, que tienes que tener unos resultados que sean de acuerdo con lo que predice el modelo que hayas (...) Eso es ciencia*”. (Entrevista 1).

El conocimiento científico aparece aquí como el que establece y alcanza modelos que permiten predecir, se alcanza a través de la repetición de experimentos que permiten verificar una hipótesis inicial.

Además, destaca que los modelos se construyen a través de las matemáticas, ésta aparece como la herramienta que permite alcanzar estos modelos.

Jordi: “... *Pero cuidado, las Matemáticas, es una ciencia..., pero son la herramienta de una ciencia. Te proporcionan herramientas para crear un modelo científico. Te diría más modelos físicos (...) Cuando una cosa es ciencia, ciencia de verdad, lo que tiene es una base de matemáticas*”. (Entrevista 1).

Las Matemáticas son la herramienta para alcanzar un modelo científico, es la base de todo conocimiento científico. Sin el sustento de éstas un conocimiento no puede ser científico.

Recogiendo lo expresado hasta aquí es posible afirmar que el marco epistemológico de Jordi se define claramente por un conocimiento científico que establece modelos que permiten predecir, el conocimiento científico por excelencia es la Física. Para alcanzar esos modelos es necesario acudir a las matemáticas, que se constituyen en la herramienta y la base del conocimiento científico. Por lo tanto las Matemáticas se afirman como conocimiento científico.

### **Un primer acercamiento entre la relación del conocimiento disciplinar y el pedagógico-didáctico de la práctica de Jordi**

Desde el posicionamiento de Jordi, el conocimiento matemático es un conocimiento preciso, unívoco y absoluto, que no depende del punto de vista de quien lo interprete. Además, como disciplina, es una cadena interconectada de prerequisites que necesita de lo anterior para comprender lo siguiente.

Jordi: *“Bueno, sí, es el problema de las matemáticas. Son una cadena, lo han tenido desde párvulos y han hecho matemáticas hasta que han entrado en la universidad y si se han perdido uno de los trozos falla...”*. (Entrevista 1).

Si profundizamos un poco más en las Matemáticas como disciplina y en su interconexión con la enseñanza, surge la relación entre teoría y práctica dentro de la misma.

Investigador: *“(…) En esto de la relación entre teoría y práctica. Recuerdo que a veces cuando empezabas un tema decías...”*.

Jordi: *“Sí, siempre se empieza con teoría...”*.

Investigador: *“¿En matemáticas siempre empiezan con teoría?”*.

Jordi: *“Sí, siempre. Sí, porque si no, no tienes con qué trabajar”*. (Entrevista 2).

La relación entre teoría y práctica aparece como una relación en donde la teoría informa a la práctica. Por ello en la enseñanza de las matemáticas es necesario partir de definiciones teóricas para luego poder pasar y comprender la práctica.

Jordi: *“... Al principio cuando empiezas un tema empiezas con definiciones. Lo normal.... Pero lo normal es decir ‘vamos a definir tal cosa’. Para entendernos, para hablar todos el mismo lenguaje. ‘(…) Empiezas con una serie de definiciones. Cuando ya tienes material, ya les puedes plantear; ‘vamos a hacer tal cosa...’. Pero sin material... malo”*. (Entrevista 2).

Esta idea de una teoría que informa a la práctica se puede ver de manera explícita en el Plan Docente de la asignatura, dentro de la propuesta metodológica.

El trabajo a l’aula consta de: - Explicacions teòriques (imprescindibles, perquè la dificultat de la matèria demana

la presencia del professorat com a tutor guia per a la transmissió de coneixements). -Resolució d’exercicis utilitzant l’entorn de l’aula; l’alumnat ha de resoldre exercicis seleccionats ... (Jordi, Plan docente)<sup>1</sup>.

A través de este fragmento del Plan Docente es posible interpretar el rol docente que sustenta la propuesta, un docente que maneja una teoría rigurosa y que la transmite a sus estudiantes.

El siguiente ejemplo extraído del registro de la clase muestra con claridad la importancia que asume la teoría como informante de la práctica:

Jordi: *“¿Cómo podríamos resolver este logaritmo, tomemos la propiedad(…)” “La definición de logaritmo la tienen que tener siempre a un costado. La definición de logaritmo no sabemos bien cuando la vamos a utilizar, pero en cualquier problema puede ser que nos demande la definición, no lo demanda el problema, sino que lo demanda el poder continuarlo”*. (Registro observación de clase 30/10/2008)

En un primer momento, a través de sus palabras y de su discurso escrito aparece un profesor especialista en su área que transmite un conocimiento riguroso. Desde los enfoques educativos [24] basados en la teoría del conocimiento de Habermas [25] esta mirada se enmarcaría dentro de una perspectiva técnica. Ésta enaltece el conocimiento especializado del profesor, el docente asume un rol de transmisor de este saber que domina; plantea una relación jerárquica entre la teoría y la práctica; considera al estudiante receptor pasivo de este conocimiento propio de una educación bancaria [26]; y parece no tener en cuenta el contexto.

### **La interrelación entre el conocimiento disciplinar y el pedagógico-didáctico, profundizar la mirada**

Si buscamos ir más allá de esa primera impresión y comprender los significados de la acción educativa de Jordi, empiezan a emerger otras características de esta realidad compleja. A través del análisis profundo de su práctica, aparece un contexto, hay un reconocimiento del temor que genera el contexto académico en la comprensión del conocimiento matemático, interpretación didáctica [27]. No sólo se reconoce el temor que puede desencadenar un conocimiento riguroso, complejo y abstracto como las matemáticas, sino que se manifiesta una clara preocupación por lo que dicho temor puede obstruir en el proceso de aprendizaje de los estudiantes.

Detrás de algunas prácticas de Jordi emerge el sentido de bajar el nivel de temor al conocimiento matemático:

Investigador: *“Esto tiene que ver con lo que tú decías anteriormente de perder el miedo a las matemáticas”*.

Jordi: *“Sí, sí. Por el simple hecho de que estamos hablando de matemáticas”*.

Investigador: *“Percibí que tú le sacabas ese miedo de*

1- El fragmento está en el idioma original, el catalán. No se tradujo para mantener la autenticidad de la cita.

*'las matemáticas', ¿es así?'*

Jordi: *"Sí, sí. Quitarle el miedo, caray, que solo estamos haciendo... Muchas de las cosas no las sabes pero las puedes saber (...)"*. (Entrevista 2).

Jordi: *Función exponencial. "¿Qué es una función exponencial?". ax. Transparencia en la pizarra. "Esto lo tienen en el libro" "Presentación de la función exponencial. Ya verán que no es algo para espantarse"*. (Registro observación de clase 30/10/2008).

En la práctica dentro del aula se puede apreciar el propósito de bajar el nivel de ansiedad y temor frente al conocimiento matemático, buscando asumir la posibilidad de la equivocación como algo que forma parte del proceso de aprendizaje y acercando lo abstracto a lo concreto.

Jordi: *"Este es difícil"  $y = \ln(ax)$ . Borra la letra (y) le pone un 7. "Vamos, háganlo" "Parece que es más fácil (por lo del 7) pero es lo mismo"*. (Registro observación de clase 2/12/2008).

El profesor, de manera explícita, se adelanta a la dificultad que pueda generar la abstracción de una letra en una ecuación y lo transforma en un número para hacerlo más concreto. Hay un claro conocimiento por su parte de las dificultades que puedan plantear determinados problemas, que le permite tomar decisiones en la práctica.

Si volvemos a tomar el concepto de transmisión y lo atravesamos con un análisis cercano y profundo de los sentidos que hay detrás, es posible afirmar que la misma implica establecer lazos y provocar un acercamiento de lo abstracto y riguroso a lo concreto; permitiendo así también reducir el mito del temor que genera el aprendizaje de las matemáticas.

Estos ejemplos revelan una clara amalgama entre el conocimiento del contenido, el conocimiento de los estudiantes y el conocimiento pedagógico-didáctico, cuando el docente toma esta decisión en la práctica misma dentro del aula. Aquí se empieza a revelar un conocimiento docente que no solo está cruzado por lo disciplinar y lo didáctico sino por otros conocimientos.

Otras categorías que surgen del análisis de la práctica de enseñanza de Jordi se relacionan con la creación de un ambiente que permita una relación de confianza entre los estudiantes y el profesor.

Una de las propuestas metodológicas es la resolución de ejercicios en grupo en la hora de clase agrupándose como los estudiantes elijan: individual, en parejas o en pequeños grupos.

Investigador: *"Veía que la forma en como ellos se agrupaban para resolver era espontánea. Algunos solos, otros de a dos, tres"*.

Jordi: *"Sabes ¿qué pasa?, muchos tienen vergüenza de preguntarme. En tres meses ves que la vergüenza a algunos no se les pasa. El primer día es normal, la primera semana es normal, pregunto algo y a lo mejor da vergüenza"*. (Entrevista 2).

El profesor conoce los temores y preocupaciones de los

estudiantes frente al conocimiento matemático, al grupo y al profesor. Es por ello que generar un ambiente adecuado en donde el estudiante se sienta en confianza es fundamental para que puedan plantear dudas sobre el contenido, y así promover el aprendizaje [28].

Jordi: *"... A mí me da igual que pregunten una tontería, si no lo preguntas no lo vas a entender, pregúntame lo que sea. Esa es una forma, que te paseas, aunque estén haciendo un ejercicio muchas de las llamadas no van sobre el ejercicio, aprovechan "esto que has explicado aquí por qué...". "O sea del ejemplo que tú les has puesto no han entendido una parte. Entonces aprovechan para preguntarte, y otra parte sí te preguntan por cómo se resuelve el ejercicio. Yo creo que con eso se gana"*. (Entrevista 2).

Para el profesor es fundamental que los estudiantes se sientan en confianza para que puedan plantear cualquier duda o dificultad que surja, y para ello su rol es clave en esta propuesta metodológica.

Las preguntas que hagan los estudiantes son un elemento clave, tanto para el aprendizaje de ellos mismos como para la enseñanza por parte del profesor.

Generar dudas, reconocer que las hay, plantearlas y resolverlas forma parte del proceso de aprendizaje. Desde la práctica de enseñanza, el docente puede conocer y valorar este proceso de aprendizaje por parte de los estudiantes e ir tomando decisiones en función de ellas.

Jordi: *"Los primeros días les cuesta más, pero luego ya van viendo; tú preguntas esto y otro preguntará otra cosa. Me esfuerza mucho en que pregunten. Sobre todo al principio que pregunten. Porque yo puedo estar explicando el logaritmo y lo que no sepan es una cosa más simple, que va antes. Prefiero que me lo pregunten, lo que sea. Prefiero perder una hora de clase explicando algo que necesitaré aunque no sea de la materia, que pregunten lo que sea"*. (Entrevista 2).

El estar abierto a las preguntas de los estudiantes y más aun de promover la muestra confianza, no sólo en el manejo de su propio conocimiento especializado, sino del pedagógico-didáctico. Autores como Grossman, Wilson y Shulman [29] manifiestan que estar abierto a las preguntas que formulan los alumnos muestra un importante dominio del conocimiento disciplinar y de su estructura (sustantivo y sintáctico) por parte del profesor. Por lo tanto es posible afirmar la importancia de éste, dada su influencia en las decisiones pedagógicas y didácticas que toma el docente.

## Conclusiones

El punto central de la investigación está en la comprensión de la interrelación entre el conocimiento disciplinar propio de un marco epistemológico personal y el conocimiento pedagógico-didáctico del docente universitario valorado positivamente por su práctica de enseñanza.

A través de lo expuesto en el apartado anterior es posible afirmar:

-que la interrelación no es lineal sino que implica una complejidad, se presenta en la práctica de enseñanza como una amalgama difícil de separar;

-que en esta interrelación compleja se refleja como el marco epistemológico disciplinar de este profesor está presente en sus decisiones pedagógicas y didácticas, y como aparece un contexto que se tiene en cuenta y que influye en la toma de decisiones que hace el profesor. No hay un marco epistemológico que se interrelaciona con un conocimiento pedagógico-didáctico aislado de una realidad educativa y de su contexto.

-que esta interrelación tiene sentido en el marco de un entretelado más amplio de conocimientos, como el conocimiento institucional, el conocimiento curricular, el conocimiento de los estudiantes (aprendizajes previos, sus dudas, sus inquietudes, sus errores y acierto), el conocimiento de sí mismo. Si bien la mirada está centrada en la interrelación entre el conocimiento disciplinar y el pedagógico-didáctico, la misma no se puede entender sin incluirla en una interrelación más amplia de otros conocimientos.

-que para comprender esta interrelación es indispensable contextualizarla en una cultura político-institucional, una cultura disciplinar propia de una comunidad científica, una cultura personal propia del docente.

-que en esta interrelación la preocupación por el otro, por el estudiante, por su aprendizaje es uno de los motores clave. Este motor hace que el conocimiento disciplinar para ser enseñado se ponga al servicio del conocimiento pedagógico-didáctico. Esto no significa que el conocimiento disciplinar se pierda y deje de tener importancia, todo lo contrario, es indispensable un docente con un conocimiento disciplinar profundo (lo sintáctico y lo sustantivo). Desde la naturaleza del conocimiento pedagógico-didáctico del docente aparecen otras necesidades y demandas, aparece lo intersubjetivo desde la interacción con los estudiantes y con el contexto en general. Por lo tanto, este conocimiento profundo del contenido disciplinar pasa de un contexto más científico, que se preocupa por su objeto de estudio, a un contexto de enseñanza cuya naturaleza es distinta. Aparece un conocimiento del contenido que asume el sentido del contexto en el cual está inserto y se desarrolla, el contexto del proceso de enseñanza y aprendizaje.

## Bibliografía

1. Bolívar, A. y Caballero, K. *Como hacer visible la excelencia en la enseñanza universitaria*. Revista Iberoamericana de Educación, 46:8, 1-10. 2008.
2. Lucarelli, E. *Análisis de prácticas y formación: tres experiencias con docentes en universidades argentinas*. Perspectiva, 24:1, 273 -296. 2006.
3. Barnett, R. *Improving Higher Education: total quality care*. The society for Research into Higher Education & Open University press: Buckingham, 1992.
4. Feixas, M. *La influencia de factores personales, institucionales y contextuales en la trayectoria y el desarrollo docente de los profesores universitarios*. Educar, 33: 31-59. 2004.
5. Gewerc, A. y Montero, L. *Profesores universitarios: contextos organizativos y desarrollo profesional*. Enseñanza, (14), 67-79. 1996.
6. Gros, B. *El aprendizaje colaborativo a través de la red: límites y posibilidades*. Aulade Innovación Educativa, (162), 44-50. 2007.
7. Knight, P.; Tait, J & Yorke, M. *The professional learning of teachers in higher education*. Studies in Higher Education, 31:3, 319-339. 2006.
8. Lindblom-Ylänne, S.; Trigwell, K.; Nevgi, A. & Ashwin, P. *How approaches to teaching are affected by discipline and teaching context*. Studies in Higher Education, 31:1, 285-298. 2006.
9. Lueddeke, G. *Professionalising Teaching practice in Higher Education: a study of disciplinary variation and 'teaching-scholarship'*. Studie in Higher Education, 28:2, 213-228. 2003.
10. Quinlan, K. M. *Uncovering Discipline-Specific Interpretations of the "Scholarship of Teaching": Peer Review and Faculty Perceptions of Scholarly Teaching*. Paper presented at ASHE Annual Meeting. Tucson: USA 1994. <http://eric.ed.gov/PDFS/ED375727.pdf>. (Verificada 5 Mar. 2008).
11. Becher, T. *Tribus y territorios académicos. La indagación intelectual y las culturas de las disciplinas*. Gedisa. Barcelona, 2001.
12. Neumann, R. *Disciplinary differences and University Teaching*. Studies in Higher Education, 2:2, 133 - 146. 2001.
13. Smeby, J. *Disciplinary differences in university Teaching*. Studies in Higher Education, 21:1, 69-79. 1996.
14. Lipsman, M. *La enseñanza en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires: tradiciones y perspectivas*. Cuadernos de Investigación Educativa, 2 (16), Montevideo, Uruguay, pp. 59-73. 2009.
15. Baxter, P. & Jack, S. *Qualitative Case. Study Methodology, Study Design and implementation for novice researchers*. The Qualitative Report, 33: 4, 544-559, 2008.
16. Creswell, J. *Qualitative inquiry and research design. Choosing among five approaches*. California: Sage. 2007.
17. Erickson, F. *Métodos cualitativos de investigación sobre la enseñanza*. En M. Wittrock (Ed.). La investigación de la enseñanza, II. Métodos cualitativos y de observación. (pp. 195-295). Barcelona: Paidós. 1989.
18. Medina, J. *Deseo de cuidar y voluntad de poder. La enseñanza de la enfermería*. Barcelona: Publicacions i Edicions de la Universitat de Barcelona. 2005.

19. Cruz- Garcette, L.; Martins de Abreu-Ballester, G. y Brandi-Bruna, S. *La relación intersubjetiva en la construcción del conocimiento*. Magis. Revista Internacional de Investigación en Educación. 7:14 85-98. 2014.
20. Crotty, M. *The foundations of social research*. Meaning and perspective in the research process. London: Sage. 2007.
21. Martínez-Salgado, C. *El muestreo en investigación cualitativa*. Principios básicos y algunas controversias. Ciencia & Saúde. 17 (3) 613-619. 2012.
22. Glaser, B. & Strauss, A. *The discovery of Grounded Theory*. Chicago: Aldine. 1967.
23. Strauss, A. y Corbin, J. *Bases de la investigación cualitativa*. Técnicas y procedimientos para desarrollar la teoría fundamentada. Antioquía: Editorial Universidad de Antioquía. 2002.
24. Grundy, S. *Producto o praxis del curriculum*. Madrid: Morata. 1987.
25. Habermas, J. *Conocimiento e interés*. Madrid: Taurus. 1982.
26. Freire, P. *La Educación como práctica de la libertad*. Madrid: Siglo XXI. 1998.
27. McEwan, H. *Interpreting the subject domains for students: Towards a rhetorical theory of teaching*. Un published doctoral dissertation. University of Washington, Seattle. 1987.
28. Bain, K. *Lo que hacen los mejores profesores de universidad*, Universitat de València: Valencia, 2007.
29. Grossman, P.; Wilson, S. & Shulman, L. *Profesores de sustancia: el conocimiento de la materia para la enseñanza*. Profesorado. Revista de currículum y formación del profesorado, 9:2, 23-36. 2005. <http://www.ugr.es/recfpro/rev92ART2.pdf> (Verificada 10 Sep. 2007).

Recibido: 25/04/2016.

Aprobado: 17/10/2016.

RECYT

Año 19 / N° 27 / 2017 / 39–45

## Rendimiento académico en química general en las Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Tucumán

### General chemistry educational performance in natural science at the Universidad Nacional de Tucumán

María G. Muruaga<sup>(1)</sup>, María L. Muruaga<sup>(2)</sup>, María B. Vece<sup>(3)</sup>, María C. Galindo<sup>(4)</sup>

Cátedra de Química General. Facultad de Ciencias Naturales e IML. Universidad Nacional de Tucumán.

\* E-mail: gabymuruaga@csnat.unt.edu.ar<sup>(1)</sup>; lauramuruaga@csnat.unt.edu.ar<sup>(2)</sup>;  
maritas@csnat.unt.edu.ar<sup>(3)</sup>; marygal@csnat.unt.edu.ar<sup>(4)</sup>

#### Resumen

Este artículo aborda el tema de la deserción, para elaborar un estudio que permita describir la Condición Académica de los alumnos. El objetivo general de este trabajo es evaluar el Rendimiento Académico de los alumnos de Química General de las carreras de Licenciatura y Profesorado en Ciencias Biológicas en el período 2010-2015 de la Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo de la Universidad Nacional de Tucumán. Se compararon las carreras de Licenciatura y Profesorado en relación a la condición académica realizando un análisis del porcentaje de alumnos que no cursaron, que quedaron libres, que abandonaron y que regularizaron. La cátedra de Química General introdujo modificaciones con el fin de lograr el éxito de los alumnos reflejado en la condición de regular. El presente trabajo busca ser un aporte para suministrar información para posteriores estudios o análisis relacionados con la deserción en el primer año.

Palabras clave: Deserción; Retención; Repitencia; Rendimiento Académico; Química General.

#### Abstract

This article addresses the topic of drop-out rates in Natural Science School at University and aims at developing a study to describe the academic status of students. The general objective of this study is to evaluate Students' Academic Performance in General Chemistry in Bachelor's degree and Teacher Training in Biological Sciences during 2010-2015 in the Faculty of Natural Sciences and Miguel Lillo Institute at the National University of Tucuman. The purpose of this paper is to contribute to provide information for further studies or analysis related with dropout in the first year. Therefore, Bachelor and Teacher Training careers were compared, regarding the academic status, by analyzing the percentage of students who enroll but do not attend classes, students who fail (free students), students who drop the subject and students who regularize it. In consequence, The chair of General Chemistry introduced several changes during this period in order to increase the number of students who achieve the condition of regular.

Keywords: Dropouts; Retention; Repetition; Academic Performance; General Chemistry.

#### Introducción

En las últimas dos décadas, la mejora en los índices de rendimiento académico y graduación se ha incorporado como tema de alta relevancia en la agenda de políticas públicas e institucionales en América Latina [1]. Desde 1995 en adelante, en Argentina, como en México, Brasil y Bolivia, entre otros países de América Latina, se instaló una "agenda internacional de la modernización de los sistemas educativos superiores" promovida fundamentalmente por las agencias de crédito internacional como el Banco Mundial y el Banco Interamericano de Desarrollo [2]. Uno de los temas que se ha instalado en la agenda de los

estudios de nivel superior es el que apunta a señalar que el rendimiento de los alumnos universitarios, en particular en el ingreso y en los primeros tramos de sus estudios, ha empeorado notoriamente. Esta situación se traduciría, en una de sus formas más visibles, en la mayor proporción de fracasos al intentar iniciar sus estudios universitarios, dependiendo de las distintas modalidades de ingreso [3].

En Argentina la Ley de Educación Nacional N° 24521 (2007) reconoce en primera instancia a la educación como "un bien público". Dadas las dificultades que sufren los estudiantes cuando pretenden ingresar en la universidad, las cuales suelen acarrear impactos adversos, a veces severos, como tasas elevadas de desgranamiento, reprobación

y rezago [4] son varias las entidades, con distintas competencias jurisdiccionales, que han desarrollado acciones en relación a esto. El Ministerio de Educación de la Nación y la Dirección de Educación de la Provincia han organizado cursos de apoyo para los alumnos que estén interesados en seguir estudios superiores. Esta iniciativa aspira a que los estudiantes puedan adquirir los conocimientos necesarios, que no han obtenido en los anteriores ciclos de enseñanza y puedan, así, encarar más exitosamente el ingreso a la universidad.

La situación del ingreso y la deserción de estudiantes en los primeros años o ciclos universitarios ha sido una preocupación de las universidades, no sólo por la mayor demanda de estudios superiores, en función a las exigencias del mercado laboral, sino como consecuencia de políticas que han impulsado la creación de centros universitarios. Estas políticas, han permitido el acceso a la universidad a sectores que históricamente estaban marginados, dado que, si bien la universidad no es arancelada en Argentina, la concentración de facultades en capitales provinciales, impedía el ingreso a aquellos sectores con escasas posibilidades económicas, dificultad del traslado y/o necesidad de instalarse en zonas cercanas a los centros universitarios para poder estudiar una carrera de grado. No solamente en la Universidad Nacional de Tucumán preocupa esta situación, sino también se ve reflejado en otros países, como en Estados Unidos que ya tiene una tradición prolongada, de aproximadamente veinte años en el tratamiento de la deserción en el primer año. En cambio, en América Latina es muy incipiente y apenas emergente [4].

La deserción se define como un fenómeno multicausal, en el que confluyen factores subjetivos, factores socioeconómicos como pobreza, inequidad, violencia y marginalidad social; como también, factores propios de las relaciones docente-estudiante y estudiante-institución educativa [5]. En un estudio realizado por Escalante [6], se indica que la deserción obedece a factores de salud, económicos, vocacionales, familiares y personales, así como a desajustes con el medio universitario.

En cuanto a los factores económicos se observan aquellos estudiantes que carecen de recursos necesarios para afrontar las exigencias mínimas de la universidad en cuanto a transporte, alojamiento, etc. Los factores vocacionales son también importantes a la hora de la permanencia del alumno en la carrera elegida debido a que muchos no cuentan con la información necesaria para una buena elección según sus aptitudes y gustos, lo que conlleva a un sentimiento de decepción que concluye en el abandono.

Dentro de los factores familiares encontramos aquellos jóvenes que carecen de un núcleo familiar que apoye sus estudios y se ven obligados a seguir otras alternativas como insertarse en el campo laboral, aprender un oficio u otros caminos para satisfacer sus necesidades.

Otro estudio realizado por Sánchez Amaya y colaboradores [7] afirma que dentro de estos factores personales

prima un elemento emocional, que da origen a otra nueva categoría: malestar personal, en la cual convergen, la desmotivación, la insatisfacción académica y la desadaptación, que reflejan una indisposición y una desesperanza del estudiante que no se siente a gusto con lo que estudia, con la institución e incluso con los compañeros y docentes, lo cual ocasiona unos niveles bajos de comprensión, desinterés y apatía. El malestar que se manifiesta por el impacto que genera el paso del colegio a la universidad y que crea inseguridad y dificultades de socialización con los pares, así como la dificultad de acomodarse a modelos pedagógicos diferentes a los de la educación media secundaria.

Canales y colaboradores [8] investigaron la deserción y sugieren la existencia de dos tipos de deserción: la deserción temporal, que se explica, principalmente, por razones vocacionales, socioculturales y motivacionales, y la deserción permanente.

El problema de la deserción no es exclusivo de la Universidad Nacional de Tucumán, sino que se presenta a nivel mundial. No es sorprendente que la deserción sea más frecuente en las etapas iniciales y es en ese momento que las instituciones pueden actuar para prevenir el abandono temprano [9].

El fracaso, expresado en la repitencia y la deserción, puede ser de diferentes tipos. Un tipo de fracaso es el “académico”, que se corresponde con la interpretación más tradicional del rendimiento académico. Un segundo tipo de fracaso, supone un escaso compromiso del estudiante con los estudios y se denomina “por ausencia” [10].

La repitencia se entiende como la acción de cursar reiteradamente una actividad docente, sea por mal rendimiento del estudiante o por causas ajenas al ámbito académico. La repitencia y la deserción son fenómenos que en muchos casos están concatenados, ya que la investigación demuestra que la repitencia reiterada conduce, por lo general, al abandono de los estudios. Tanto la repitencia como la deserción son siempre procesos individuales, si bien pueden constituirse en un fenómeno colectivo [11].

Sin embargo un escaso compromiso del estudiante con los estudios no es la única razón de fracaso por ausencia, jugando un rol no menos importante razones laborales y/o económicas que inducen al alumno a abandonar el cursado de las asignaturas.

Himmel [12] se refiere a la deserción como el abandono prematuro de un programa de estudios antes de alcanzar el título o grado y considera un tiempo suficientemente largo para descartar la posibilidad de que el estudiante se reincorpore.



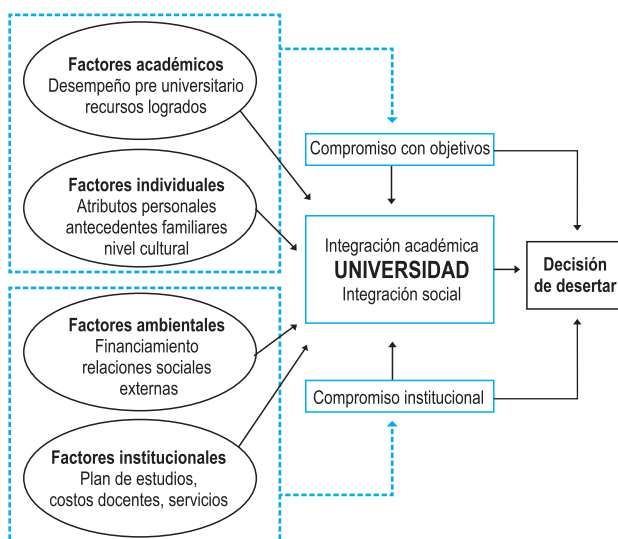


Figura 1: Modelo de Deserción (13).

La integración Académica es la conjunción de varios factores (Fig. 1) que son el resultado del compromiso individual del alumno y el compromiso de la institución. Entre estos factores podemos mencionar:

- Factores académicos: desempeño pre-universitario deficiente.
- Factores individuales: atributos personales, antecedentes familiares, nivel cultural, etc.
- Factores ambientales: financiamiento económico.
- Factores Institucionales: plan de estudios, servicios universitarios (curso de ingreso, tutorías estudiantiles, bibliotecas, etc).

La conjunción negativa de estos factores lleva a la decisión de desertar los estudios.

Se presentan en este trabajo resultados relacionados con la Permanencia-Abandono de alumnos que cursaron la asignatura Química General en 1º Año de las carreras de Licenciatura y Profesorado en Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo de la Universidad Nacional de Tucumán.

La materia Química General se dicta con un régimen cuatrimestral en el primer año en ambas carreras. La misma consta de un programa [14] que involucra todas las generalidades de la química y que tiene como objetivo desarrollar una concepción científica de las Ciencias Naturales mediante el conocimiento y aplicación de la estructura sustantiva y sintáctica de la química y acrecentar el desarrollo de estructuras cognitivas que aporten una base química para la educación ambiental. El mismo abarca una descripción de la química desde la estructura de la materia, estequiometría, enlace químico y fuerzas intermoleculares, gases, soluciones, termodinámica, cinética y equilibrio químico, etc.

Cuando se evaluó la eficiencia del proceso de enseñanza – aprendizaje se observó una serie de dificultades, entre las que se pueden destacar:

- Falta de nivelación en los conocimientos de la formación previa de los alumnos sobre conceptos básicos de química. Esto puede ser atribuido a la procedencia de los alumnos de diferentes instituciones de nivel secundario.
- Falta de interés de los alumnos por la Química.
- Elevada relación alumno/docente.

Superar estas dificultades permitiría que la enseñanza de la Química aporte a los futuros profesionales conocimientos básicos de esta disciplina, que junto con las demás asignaturas del ciclo básico, le proporcionen la formación general que precisa para abordar tanto las restantes materias de la carrera como la futura formación y actualización a la que habrá de hacer frente a lo largo de su vida profesional [15].

El objetivo de este trabajo fue evaluar el Rendimiento Académico de los alumnos de Química General de las carreras de Licenciatura y Profesorado en Ciencias Biológicas en el período 2010-2015 a fin de suministrar información para posteriores estudios o análisis relacionados con la deserción en el primer año.

## Materiales y Métodos

Este análisis refiere al rendimiento académico de una población de 2141 alumnos que cursaron la asignatura Química General en el período 2010-2015, de los cuales 1292 pertenecen a la carrera de Licenciatura en Ciencias Biológicas y 849 al Profesorado en Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Tucumán-Argentina. El dictado de la asignatura es teórico-práctico, con la realización de prácticos de laboratorio y prácticos de problemas. El parámetro que permitió medir la eficacia del proceso fue el resultado obtenido por los alumnos en dos pruebas escritas estructuradas, obligatorias e individuales (parciales) con sus correspondientes recuperaciones, con una escala de calificación cuantitativa de 1 a 10, en la cual un puntaje mayor o igual a 5 significa aprobado. Todas las evaluaciones fueron del tipo “multiple-choice”.

Para el período 2010-2015, se realizó un análisis de la matrícula distinguiendo dos grupos de alumnos, los que cursan por primera vez Química General (Ingresantes) y aquellos que ya cursaron la materia en años anteriores (Recursantes). Dentro de cada grupo los alumnos se discriminan según Regular, Libre, Abandonó, No Cursó.

De acuerdo con la reglamentación vigente, se consideran regulares (R) a aquellos alumnos que aprobaron ambos parciales. Aquellos alumnos que desaprobaban alguno de los dos parciales y sus recuperaciones, es decir, no alcanzaron los requisitos mínimos para regularizar la materia, se consideran como libres (L). Así mismo, se analizaron los alumnos que no se presentaron a rendir en alguna de las dos evaluaciones, considerando que abandonaron (A) el

cursado. Los estudiantes que se inscribieron y no asistieron nunca a las actividades y evaluaciones se los consideró como No cursó (NC).

Se elaboraron gráficos comparativos con el propósito de analizar la condición de alumnos Ingresantes y Recursantes para las carreras de Licenciatura y Profesorado en Ciencias Biológicas para cada uno de los años seleccionados.

A lo largo de los 6 años estudiados la Cátedra de Química General fue realizando incorporaciones y mejoras a la modalidad de cursado a fin de lograr el éxito de los alumnos reflejado en su condición de regular.

## Resultados y Discusión

Los datos estadísticos obtenidos en la asignatura Química General de las carreras de Profesorado y Licenciatura en Ciencias Biológicas se analizan con el fin de evaluar el rendimiento académico.

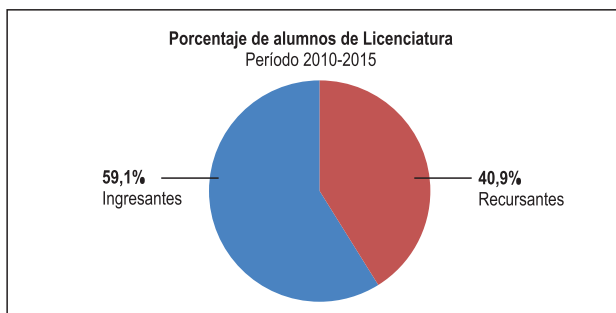


Fig. 2: Porcentaje de alumnos Ingresantes y Recursantes de la carrera de Licenciatura en el período 2010-2015.

En la Fig. 2 se presenta el porcentaje de alumnos Ingresantes y Recursantes para la carrera de Licenciatura durante 2010-2015. Se observa que el porcentaje de alumnos Ingresantes es mayor que el de Recursantes en el período estudiado, sin embargo los Recursantes presentan un porcentaje elevado en relación a la totalidad de alumnos de la matrícula de la carrera de Licenciatura.

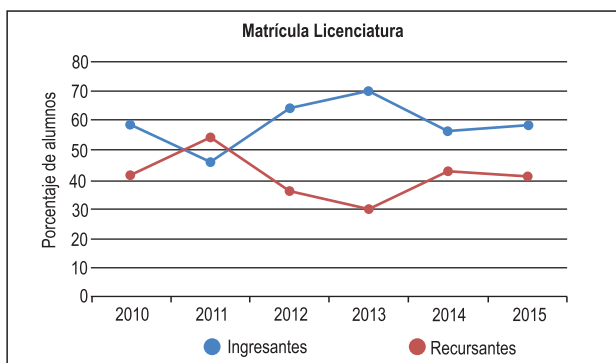


Fig. 3: Matrícula anual de la carrera de Licenciatura durante 2010-2015.

En la Fig. 3 se detalla el porcentaje de los alumnos Ingresantes y Recursantes de la carrera de Licenciatura año por año durante 2010-2015, en donde se destaca que en la mayoría de los años del período analizado los alumnos

Ingresantes presentan un porcentaje mayor que los alumnos Recursantes excepto en el año 2011 donde esta situación se invierte.

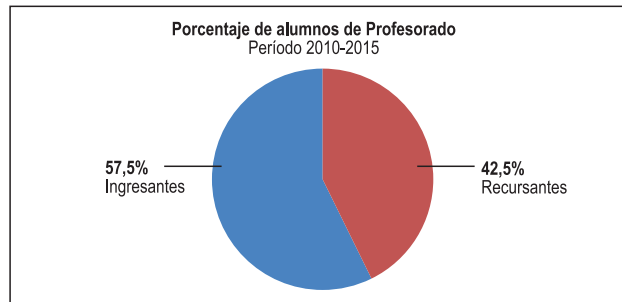


Fig. 4: Porcentaje de alumnos Ingresantes y Recursantes de la carrera de Profesorado en el período 2010-2015.

Para la carrera de Profesorado se observa en la Fig. 4 que, al igual que para Licenciatura, el porcentaje de Ingresantes es mayor que el de Recursantes en el período estudiado, presentando una diferencia levemente mayor en el porcentaje de Recursantes (42,5%) comparado con los datos obtenidos de la Licenciatura (40,9%).

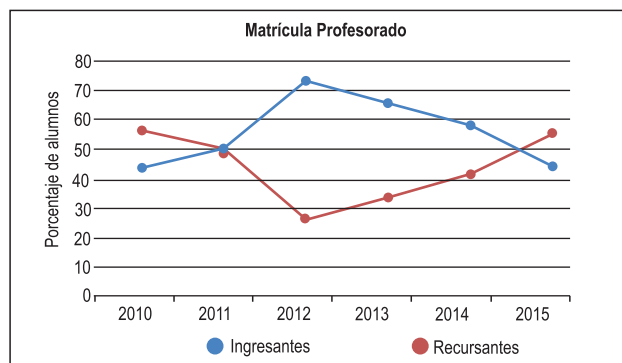


Fig. 5: Matrícula anual de la carrera de Profesorado durante 2010-2015

En la Fig. 5 se detalla el porcentaje de los alumnos Ingresantes y Recursantes de la carrera de Profesorado año por año durante 2010-2015. En los años 2012, 2013 y 2014 el porcentaje de alumnos Ingresantes fue mayor que el de Recursantes mientras que en el año 2010 y 2015 el porcentaje de Recursantes superó al de Ingresantes. En el año 2011 se observa que no hay diferencias significativas entre el porcentaje de Ingresantes y Recursantes.

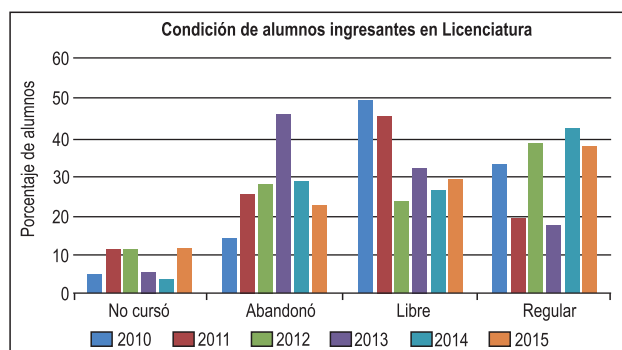


Fig. 6: Condición de alumnos Ingresantes en la carrera de Licenciatura durante 2010-2015.

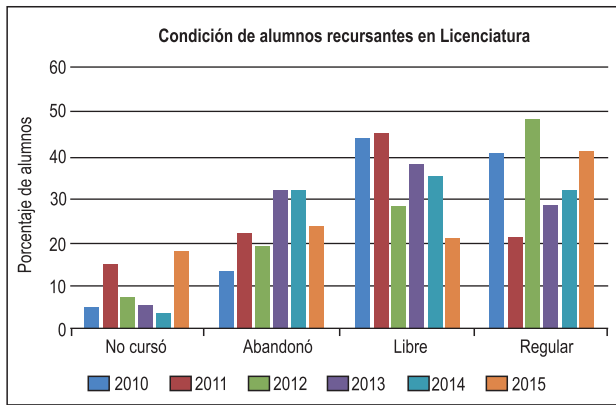


Fig. 7: Condición de alumnos Recursantes en la carrera de Licenciatura durante 2010-2015.

Analizando la condición de los alumnos Ingresantes y Recursantes en la carrera de Licenciatura (Fig. 6 y 7) en el período 2010-2015, se observa que aquellos que se inscribieron pero no cursaron la materia promedian un 8,2%. Los alumnos que abandonaron promedian un 25,7%, siendo levemente mayor en el caso de los Ingresantes (27,1%) que el de Recursantes (22,8%). Los alumnos que quedaron libres en la materia no presentan diferencias significativas entre Ingresantes y Recursantes promediando un 34%. Analizando los alumnos regulares se observa que es levemente mayor el porcentaje para los alumnos Recursantes (34,3%) comparado con los Ingresantes (31,1%).

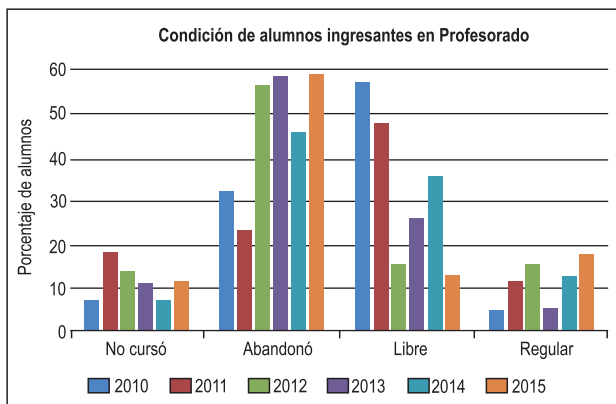


Fig. 8: Condición de alumnos Ingresantes en la carrera de Profesorado en el período 2010-2015.

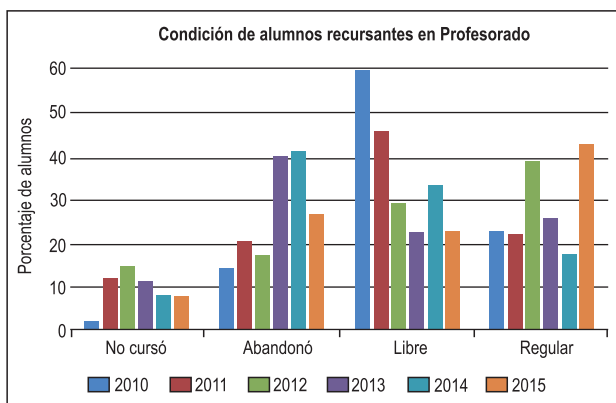


Fig. 9: Condición de alumnos Recursantes en la carrera de Profesorado en el período 2010-2015.

En las Figuras 8 y 9 se muestra la condición de alumnos Ingresantes y Recursantes de la carrera de Profesorado en Ciencias Biológicas entre 2010 y 2015. Se observa que la proporción de estudiantes que se inscriben y No Cursan la materia es en promedio un 10%, tanto para Ingresantes como para Recursantes, durante los seis años analizados. El número de alumnos que abandonaron el cursado en el mismo período, siempre fue mayor en el grupo de Ingresantes (45,5%) en relación al de Recursantes (26,6%). El número de alumnos libres no evidenció diferencias significativas entre el grupo de Ingresantes y Recursantes, promediando un (33,7%). Se presentó un mayor porcentaje de regularidad para los alumnos Recursantes (28,4%) en comparación con los Ingresantes (11%).

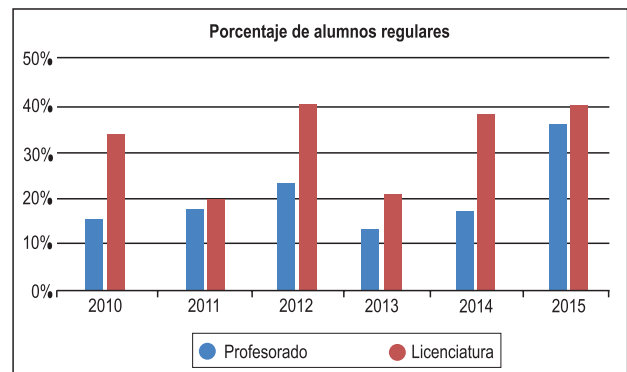


Fig. 10: Porcentaje de alumnos regulares de las carreras de Licenciatura y Profesorado en el período 2010-2015.

En la Fig. 10 se observa el Porcentaje de alumnos regulares de las carreras de Licenciatura y Profesorado en el período 2010-2015. El Fig. 11 refleja los cambios, mejoras e incorporaciones que realizó la cátedra en el período estudiado con el objeto de brindarles a los alumnos todas las herramientas necesarias para su aprendizaje.

La cátedra de Química General ha implementado a lo largo de este período varias modificaciones, que estuvieron orientadas a mejorar el rendimiento de los alumnos y su adaptación a las nuevas exigencias del ámbito universitario. El propósito de estos cambios fue disminuir el fracaso expresado en la deserción permanente o en el abandono transitorio, reflejado en el gran número de repitentes que año a año se suman a la matrícula en Química General de ambas carreras.

En el año 2010 se generó un banco de ejercicios y la aplicación de índices psicométricos con el objetivo de mejorar la calidad de las evaluaciones. En el año 2011 se continuó con la misma modalidad de cursado que incluía 2 pruebas parciales, evaluativos presenciales obligatorios, clases de Teórico Práctico de Problemas y Prácticos de Laboratorio.

En el año 2012 se incorpora una nueva cartilla de Problemas con modalidad multiple-choice, lo cual repercutió favorablemente en el desempeño de los alumnos. La posibilidad que el alumno acceda a un material didáctico de ejercitación con la misma modalidad multiple-choice

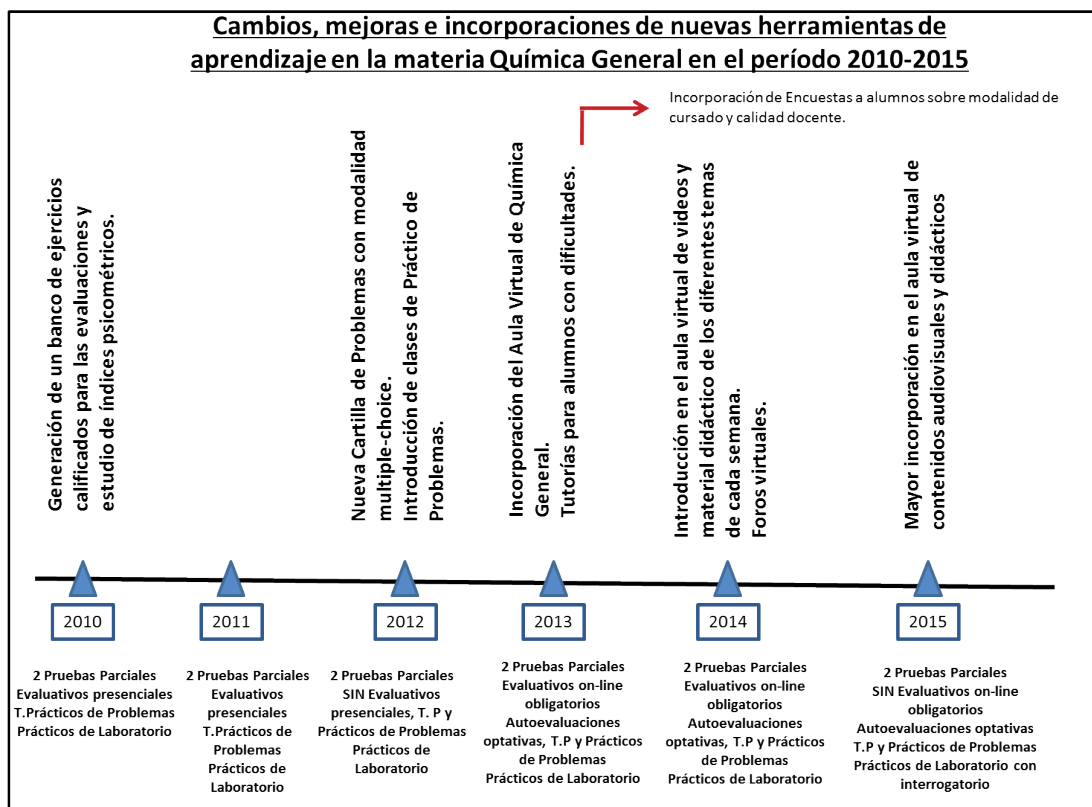


Fig. 11: Cambios, mejoras e incorporaciones de nuevas herramientas de aprendizaje en la materia Química General en el período 2010-2015.

con que se evalúa, le permitió una mayor adaptación a las pruebas parciales logrando un mejor desempeño. Esta cartilla fue un gran aporte de los integrantes de la cátedra incluyendo entre 60 y 70 ejercicios de cada unidad temática. Además se comenzó con el dictado de clases de Prácticos de Problemas en las cuales el alumno, conjuntamente con el docente, resolvía ejercicios teóricos y prácticos del tema semanal

En el año 2013 se incorporó la utilización del aula virtual de Química General con todo el material didáctico de la materia (Guía de Prácticos de Problemas, Guía de Prácticos Experimentales de Laboratorio, Powerpoint de clases teóricas, Programa de la materia, etc.) a disposición del alumno. El aula virtual permitió la implementación de evaluativos on-line semanales junto con autoevaluaciones optativas a diferencia de años anteriores donde los evaluativos eran presenciales. A pesar de dichas modificaciones e incorporaciones el porcentaje de alumnos regulares disminuyó. Probablemente estos cambios no fueron asimilados rápidamente por los alumnos que no supieron aprovechar las ventajas que presentaban estas nuevas modalidades de trabajo y se observó que no visitaban el aula virtual ni hacían uso de las tutorías brindadas por la cátedra. En este año también se incorporaron encuestas a los alumnos al finalizar el cursado, en dichas encuestas estos manifestaron que si bien los cambios les parecieron positivos reconocieron que no supieron aprovechar las ventajas de dichas modificaciones.

En el año 2014 se realizó una mejora del aula virtual

con la incorporación de videos didácticos de los diferentes temas semanales junto con foros virtuales. En este año se observó un incremento en el número de alumnos regulares con respecto al año anterior. Deducimos que los cambios que introdujimos a partir del 2012 comenzaron a ser asimilados por los alumnos que aprovecharon la potencialidad de los mismos logrando un mayor éxito en alcanzar los objetivos propuestos para la materia Química General.

En el año 2015 continuó la mejora del aula virtual de Química General con mayor contenido audiovisual, se eliminaron los evaluativos on-line pero permanecieron las autoevaluaciones optativas, en los Prácticos de Laboratorio se incorporó un interrogatorio previo del tema semanal. En este año el porcentaje de alumnos regulares mejoró con respecto al año anterior.

### Conclusiones

Comparando los gráficos de la condición académica de los alumnos de las carreras de Licenciatura y Profesorado durante 2010-2015 (Figs. 6-7 y 8-9), podemos concluir que en el caso de los alumnos que se inscriben y no cursan la materia (No cursó) y aquellos que quedan libre los porcentajes no presentan diferencias significativas. En cambio en el caso de los alumnos que abandonaron la materia en ambas carreras el porcentaje es mayor en los Ingresantes que en los Recursantes, destacándose un mayor número de abandono en el Profesorado. Los alumnos que regularizaron la asignatura siempre fueron mayores en el

grupo de Recursantes que de Ingresantes en ambas carreras, presentando la Licenciatura un mayor porcentaje de alumnos regulares. Este fenómeno fue una constante en los seis años estudiados donde el grupo de Recursantes logró un mayor número de alumnos regulares. Podemos llegar a suponer que los alumnos Ingresantes sufren un proceso de cambio y adaptación de pasar del nivel medio al nivel universitario, donde muchos de ellos entran en un shock provocado por ese cambio y materializado en la inexperiencia de manejo de los tiempos de estudio, organización universitaria, contenidos previos y experiencias personales de adaptación, lo que genera el fracaso de no regularizar la materia. Por otro lado, los Recursantes muestran una mayor experiencia no tan solo en la adquisición de los conocimientos sino también en la adaptación al medio universitario y por sobre todo a la optimización del tiempo logrando con éxito regularizar la materia.

En la mayoría de los casos el alumno recursante es aquel que se inscribió pero no curso, abandonó o quedó libre el año anterior, encontrando pocas excepciones de alumnos que recursan más de una vez la materia.

Es posible postular que el análisis del abandono o el rendimiento académico en el proceso de admisión o a lo largo del primer año, se ve influenciado por factores individuales que caracterizan al estudiante, los cuales mostrarán una alta significación en la explicación de estos fenómenos por encima de los factores organizacionales o los inherentes a la institución.

La deserción universitaria no es sólo un problema del estudiante; si bien es cierto que generalmente se asume que toda la responsabilidad recae sobre el desertor, el fenómeno de la deserción es inherente a la vida estudiantil, a situaciones económicas y socio-culturales del entorno. Conocer el problema permite establecer soluciones que controlen parcialmente los altos índices de deserción y logren mantener una tendencia creciente en la retención de estudiantes.

Trabajar en este tema es una asignatura pendiente a atender. Consideramos que los resultados de este trabajo son un significativo aporte de la Cátedra Química General, debido a que dicha asignatura se dicta en 1<sup>er</sup> Año de la carrera, lapso en el que se registran los mayores niveles de deserción.

## Referencias

1. **CINDA.** *Repitencia y deserción universitaria en América Latina*. Santiago de Chile: CINDA-IESALC-Universidad de Talca. 2006.
2. **Marginson, S. y Mollis, M.** *The door opens and the Tiger leaps*. Theories and Reflexivities of Comparative Education for a Global Millennium. Comparative Education Review, University of Chicago Press, 45 (4): p. 581-615. 2001.

3. **Roitberg, H.; Iriarte, A. y Ferrazzino, A.** *Analizando el rendimiento de los estudiantes de la UBA, en un escenario de crisis y reforma educativa*. Proyecto UBACYT 2004/07 de la Universidad de Buenos Aires: "Crisis socioeconómica y reforma educativa de la provincia de Buenos Aires Trabajo Final Integrador. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. UNLP. 2004.
4. **Ezcurra, A. M.** *Universidad Nacional de General Sarmiento, Conferencia Inaugural del Coloquio Internacional "La situación de los estudiantes de nuevo ingreso: un desafío para la universidad del siglo XXI"*, Universidad Autónoma de la Ciudad de México (UACM). 2007.
5. **Rincón, C.** *Deserción y retención escolar*. Magisterio-Universidad Francisco José de Caldas. Bogotá. 2004.
6. **Escalante, W.** *Deserción universitaria en el área de ingenierías*. Tesis doctoral en Ciencias Sociales, Universidad Católica Santa María, Arequipa. 2015.
7. **Sánchez Amaya, G.; Navarro, W. y García, A.D.** *Factores de deserción estudiantil en la universidad surcolombiana*. p. 97-103. 2009.
8. **Canales, A y Ríos, D.** *Factores explicativos de la deserción universitaria*. Calidad en la Educación. 26: p. 171-201. 2007.
9. **Eliézer de los Santos, J.** *Los Procesos de Permanencia y Abandono Escolar en Educación Superior*. OEI. Revista Iberoamericana de Educación. 33(2): p. 2-9. 2004.
10. **Latiesa, M.** *Medida del rendimiento académico a través del abandono de carrera*. La deserción universitaria: Desarrollo de la escolaridad en la enseñanza superior. Éxitos y fracasos. Deserción Universitaria en Europa. Madrid, Centro de Investigaciones Sociológicas en coedición con Siglo XXI de España Editores, p. 407-417. 1992.
11. **Tinto, V.** *Limits of theory and practice in student attrition*. Journal of Higher Education. 53: p. 687-700. 1982.
12. **Himmel, E. (2005).** *Modelos de análisis de la deserción estudiantil en la educación superior*. [http://www.cse.cl/doc/web.csepublic\\_21002\\_Himmel22002.pdf](http://www.cse.cl/doc/web.csepublic_21002_Himmel22002.pdf) (verified 17 May. 2016).
13. **Mori Sánchez, M.** *Deserción universitaria en estudiantes de una universidad privada de Iquitos*. Revista Digital de Investigación y Docencia Universitaria 1: p. 60-83. 2012.
14. [http://info.csnat.unt.edu.ar/csnat/images/academica/licbiologia/programas/Programa\\_Quimica\\_General-2014.pdf](http://info.csnat.unt.edu.ar/csnat/images/academica/licbiologia/programas/Programa_Quimica_General-2014.pdf).
15. **Carrillo, I.; Albéniz, J.; Arévalo, M.V.; Hernández, M.T.; Kilany, A.; Saavedra, P.; Reinoso, C.; Cubeiro, R. y Barajas, R. (2003).** *Química Aplicada: Una Realidad en la E.U.I.T. (Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica de Telecomunicación) Industrial "Proyecto Docente, E.U.I.T. Industrial"*. Madrid, Universidad Politécnica de Madrid. <http://www.upc.edu/euetib/xiicuiet/comunicaciones/din/comunicacions/67.pdf> (verified 17 May. 2016).

Recibido: 18/05/2016.

Aprobado: 19/10/2016.

RECYT

Año 19 / N° 27 / 2017 / 46–50

## Descripción de un caso de leucemia mieloide crónica con un cromosoma *Philadelphia* variante

### A case of chronic myeloid leukemia with *Philadelphia* chromosome variant

Leandro G. Gutiérrez<sup>1,\*</sup>, Patricia C. Dos Santos<sup>1</sup>, Amada Rolón<sup>1</sup>, Ana M. Melnichuk<sup>1</sup>, Carina F. Argüelles<sup>1,2</sup>, Alberto S. Fenocchio<sup>1,2</sup>

1 - Laboratorio de Citogenética y Genética Humana (LaCyGH), Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales (FCEQyN), Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Instituto de Previsión Social de la Provincia de Misiones (IPSM) - Comité Ejecutivo de Desarrollo e Innovación Tecnológica (CEDIT)

2 - Cátedra de Citogenética General, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.

\*E-mail: leandrogutierrez82gmail.com

#### Resumen

En 5–10% de los casos de Leucemia Mieloide Crónica (LMC), el cromosoma *Philadelphia* (Ph1) se origina como producto de translocaciones variantes (Ph1 variante). Estas últimas involucran otros autosomas además del 9 y 22 clásicamente implicados. Se presenta aquí un caso de LMC cuyo cromosoma Ph1 variante fue originado a partir de una translocación compleja que involucró los cromosomas 3, 9 y 22 [t(3;9;22)(p21,q34;q11)]. El análisis mediante FISH sugiere un mecanismo de formación en una etapa única, mientras el análisis por RT-PCR mostró la presencia del rearrreglo molecular *BCR/ABL1* correspondiente a la isoforma p210. El paciente no presentó variaciones significativas en los parámetros de respuesta clínica (respuesta hematológica, respuesta citogenética y respuesta molecular) respecto de aquellos pacientes con el Ph1 estándar.

Palabras clave: Leucemia mieloide crónica; Cromosoma *Philadelphia*; Translocación variante.

#### Abstract

Among the CML there is a fraction of cases (5–10%) in which the *Philadelphia* chromosome (Ph1) originates from variant translocations (Ph1 variant), in which there are autosomes involved other than the classic 9 and 22. Here we report a case of CML where a variant Ph1 chromosome was originated from a complex translocation involving chromosomes 3, 9 and 22 [t(3,9,22)(p21,q34,q11)]. FISH analysis suggests that the mechanism of translocation occurred in a single step. Furthermore, the RT-PCR analysis also showed the presence of the classical molecular rearrangement corresponding to the *BCR/ABL1* p210 isoform. The patient showed no significant variations in the parameters of clinical response (hematologic, cytogenetic, and molecular response) from those patients carrying a standard Ph1 chromosome.

Keywords: Chronic myeloid leukemia; *Philadelphia* chromosome; Variant translocation.

#### Introducción

La leucemia mieloide crónica (LMC) es un desorden clonal maligno de células madre hematopoyéticas pluripotentes, que resulta en un incremento de los linajes mieloide, eritroide y megacariocítico en sangre periférica (SP) acompañado de hiperplasia mieloide en médula ósea (MO) [1, 2]. El análisis citogenético generalmente revela la presencia de un cromosoma marcador característico, el cromosoma *Philadelphia* (Ph1) [3]. Este último es el resultado de una translocación recíproca entre los brazos largos de los cromosomas 9 y 22 [t(9;22)(q34;q11)] [4, 5]. Este rearrreglo cromosómico genera el gen de fusión

*BCR-ABL1*, el cual se transcribe y traduce a una proteína oncogénica Bcr/Abl1 p210 con elevada actividad tirosina kinasa (TK), responsable de las manifestaciones clínicas en LMC [6, 7, 8].

Alrededor del 90% de los pacientes con LMC exhiben el cromosoma Ph1 como alteración citogenética patognomónica, sin embargo, un 5–10% presentan translocaciones variantes (Ph1 variantes), las que pueden involucrar a uno o más autosomas además de los cromosomas 9 y 22 generalmente implicados [9].

Los Ph1 variantes han sido clasificados en dos subgrupos, basados en el análisis citogenético: Ph1 variante simple, donde el cromosoma 22 se transloca con un

cromosoma diferente del 9, t(22;V), y los Ph1 variante compleja, donde los cromosomas 9 y 22 están involucrados en rearrreglos a uno o más cromosomas adicionales, t(9;22;V) [10, 11]. Todos los autosomas del complemento humano han sido implicados como posibles candidatos, sin embargo, la distribución de los puntos de ruptura no es al azar y presenta un marcado agrupamiento sobre algunas regiones cromosómicas particulares (1p36, 3p21, 3q21, 5q13, 6p21, 9q22, 11q23, 12p13, 19q13), sugiriendo que estas regiones son más proclives que otras a experimentar rupturas [12, 13].

Han sido propuestas dos vías diferentes para explicar la génesis de los Ph1 variantes: (1) un mecanismo que involucra una etapa única y (2) un mecanismo que involucra dos etapas [11, 14, 15]. El primero corresponde a un suceso único de rearrreglos donde ocurre una rotura simultánea de al menos 3 cromosomas diferentes, seguida de la reunión recíproca de los segmentos implicados [11, 16]. No obstante y de acuerdo con la literatura, este tipo de rearrreglo no conferiría ningún impacto en el fenotipo o en el pronóstico de la patología, respecto de pacientes con el cromosoma Ph1 estándar [14]. En cambio, un mecanismo de dos etapas, implica que, en un primer evento tiene lugar la translocación clásica t(9;22) la que es seguida de un segundo evento de translocación con un tercer cromosoma [11, 15]. Dicho mecanismo sugiere que la formación del Ph1 variante es en esencia producto de una evolución clonal [15; 17, 18; 19]. Por consiguiente, determinar el mecanismo involucrado en la formación del Ph1 variante podría tener relevancia clínica, ya que un mecanismo en dos etapas, al tratarse de evolución clonal, con la adquisición de nuevas alteraciones (la segunda translocación) estaría asociado con un peor pronóstico, falta de respuesta al tratamiento y una evolución acelerada de la enfermedad [14, 17, 20].

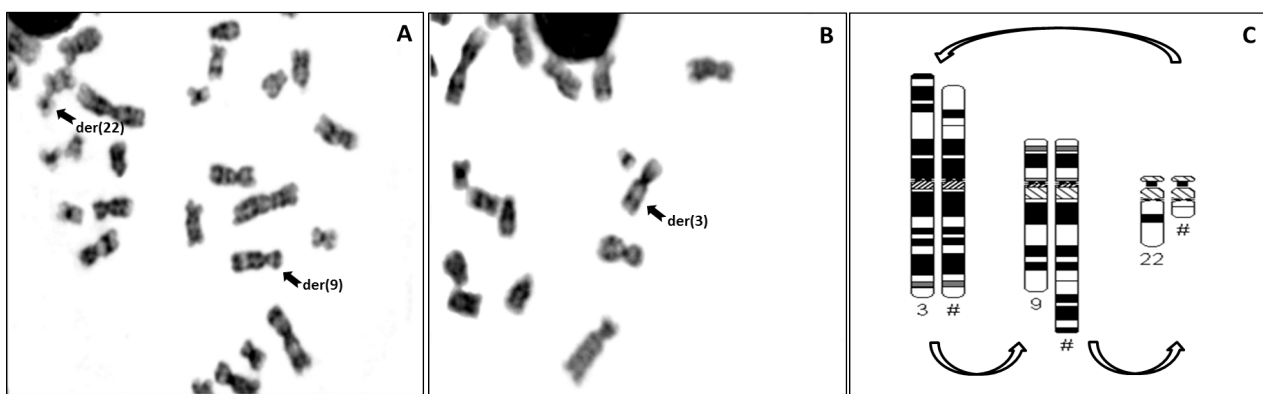
## Materiales y Métodos

Se presenta el caso de un paciente masculino con LMC, de 48 años de edad. Al momento del diagnóstico, presentaba: 110.000 leucocitos/ml, 4.950000 hematíes/ml, 155.000 plaquetas/ml y un hematocrito de 40 %.

A partir de una muestra de MO se realizó el análisis citogenético convencional (Banda G) en 20 metafases describiéndose el cariotipo obtenido, siguiendo normas establecidas en el ISCN 2009 [21]. Asimismo se realizaron análisis de Hibridación in situ por fluorescencia (FISH por sus siglas en inglés) utilizando sondas doble fusión/doble color para el gen BCR/ABL1 (LIVE Probes, Lexel In Vitro), analizándose un total en 200 núcleos interfásicos. Por otro lado, a partir de una muestra de SP del paciente se evaluó, mediante RT-PCR-Nested (retro-transcripción- reacción en cadena de la polimerasa, en dos rondas consecutivas de amplificación anidada), la expresión del gen quimérico en sus dos variantes p210 (b2a2) y p210 (b3a2). Para la primer ronda de amplificación se utilizaron los cebadores NB1: 5'GAGCGTGCAGAGTG-GAGGGAGAACA3' y ABL3(-): 5'GGTACCAGGAGT-GTTTCTCCAGACTG3', y para la segunda ronda CA3(-): 5'TGTTGACTGGCGTGATGTAGTTGCTTGG3' y BA2: 5'TTCAGAAGCTTCTCCCTGACAT3' [22].

## Resultados

A través del estudio citogenético clásico se confirmó, en el paciente, la presencia del cariotipo: 46,XY,t(3;9;22)(p21;q34;q11)[20] (Fig. 1). El análisis mediante FISH con estrategia doble fusión/doble color, mostró un patrón de señales: 1 fusión (F), 2 rojos (R), 2 verdes (V) en todos los núcleos interfásicos analizados, patrón diferente al esperado para un Ph1 clásico (2F,1R,1V), (Fig. 2). Finalmente la amplificación por RT-PCR demostró la expresión de la isoforma p210 (b2a2) del gen quimérico BCR/ABL1 clásico (Fig. 3).

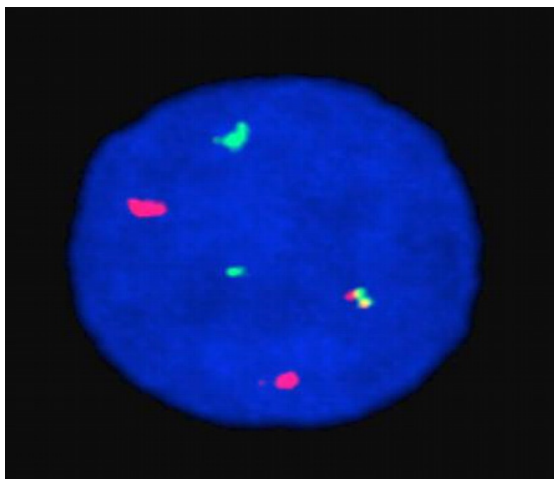
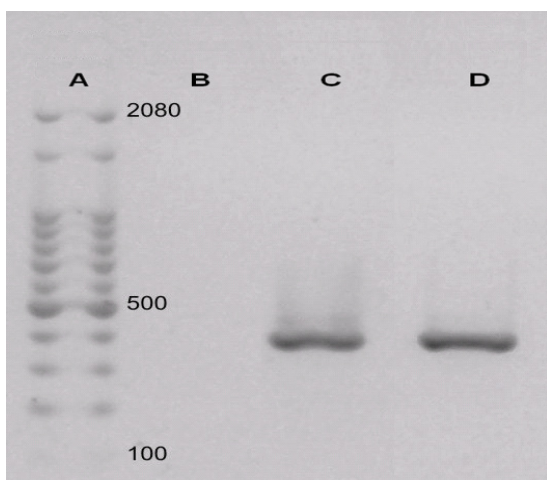


**Figura 1:** A y B: foto-micrografías de una misma célula en metafase donde se observa la translocación compleja t(3;9;22)(p21;q34;q11). C: Idiograma de los cromosomas 3,9 y 22 normales y de los derivados correspondientes implicados en la translocación compleja. Las flechas indican el sentido de la translocación.

Una vez confirmado el diagnóstico, el paciente inició tratamiento con Imatinib (IM) (400 mg/día), el cual continúa en la actualidad.

### Discusión

En un 5–10%, la formación del gen quimérico BCR/ABL1 es producida a través de translocaciones variantes, donde aproximadamente la mitad de ellas han sido reportadas como complejas [9]. Si bien cualquier cromosoma puede estar involucrado en el rearrreglo, la t(3;9;22) es la más frecuentemente observada en casos de LMC, siendo 3p21 el punto de ruptura más comúnmente observado [9, 23, 24, 25].



**Figura 2:** Fotomicrografía de una célula en interfase mostrando un patrón de señales coincidente con una translocación variante compleja. Señal amarilla (fusión) corresponde al gen BCR/ABL1. Señales rojas: una corresponde al der(9), mientras la restante pertenece al cromosoma 9 no implicado en la translocación. Señales verdes: una corresponde a la porción del gen BCR translocado al der(3), mientras que la señal restante pertenece al cromosoma 22 no involucrado en la translocación. **Figura 3:** Amplicones obtenidos a partir de una muestra de sangre periférica, mediante RT-PCR anidada para p210 (383pb). A: Marcador de peso molecular (100 pb); B: Control negativo (H<sub>2</sub>O); C: control positivo; D: muestra del paciente con amplificación.

Los estudios sobre el valor pronóstico de las translocaciones complejas han producido resultados contradictorios

en etapas previas al empleo de inhibidores de tirosina kina- sa (ITKs), como el Imatinib (IM) en el tratamiento de LMC [17]. Como mencionáramos previamente, un mecanismo en dos etapas implicaría una evolución clonal, lo cual lleva aparejado el progreso de la enfermedad; mientras que un mecanismo en una sola etapa, a pesar de su naturaleza compleja, pareciera no mostrar diferencias pronosticas respecto de pacientes con Ph1 [14, 17].

Si bien el análisis citogenético clásico con bandejo G es necesario para identificar los cromosomas involucrados en la translocación compleja, éste no resulta suficiente para dilucidar el mecanismo implicado, por ello el análisis complementario con FISH utilizando un enfoque doble fusión/doble color se torna necesario [19]. En el presente caso, el patrón de señales 1F, 2R, 2V hallado, es congruente con un mecanismo de translocación en una etapa, donde sólo puede detectarse la señal de fusión sobre el cromosoma Ph1 variante. Si por el contrario, se tratara de un mecanismo en dos etapas, el análisis por FISH hubiera revelado una segunda señal de fusión que correspondería al cromosoma der(9), similar a la señal encontrada en casos con Ph1 estándar, la que posteriormente se transloca (el segundo evento) al tercer cromosoma involucrado [18, 26].

Los puntos de vista respecto del pronóstico en estos pacientes son aún contradictorios para algunos autores. No obstante, es importante destacar que en casos particulares, o en algunas series pequeñas de casos informados en la literatura, donde incluso se han empleado regímenes de tratamiento superiores como lo son los ITKs, el pronóstico fue desfavorable [13, 15]. Recientemente una serie de reportes han indicado que la translocación compleja que involucra al brazo corto del cromosoma 3 (3p21), independientemente del mecanismo de translocación implicado, tiene un curso más agresivo bajo regímenes de tratamiento con Interferon-alfa o Hidroxiurea [27], o incluso con un régimen superior de tratamiento como es el caso de los ITKs [28]. Este pronóstico desfavorable pareciera ser el resultado de deleciones sobre el der(9) involucrado en la translocación compleja, las que son más frecuentes en estos casos [29], y que afectarían genes supresores de tumores explicando de esta forma el mal pronóstico observado en estos casos [30].

Sin embargo, los datos más recientes, obtenidos del análisis de grandes series de pacientes sugieren que, bajo regímenes de tratamiento superiores como los alcanzados con el uso de ITKs [31, 32], la presencia de un Ph1 variante no tendría impacto alguno sobre los valores de respuesta citogenética o molecular a largo plazo, independientemente del mecanismo o del número de cromosomas involucrados en el Ph1 variante [33, 34, 35]. Por lo tanto, las características hematológicas y el pronóstico clínico serían similares en pacientes con diagnóstico de LMC portadores de Ph1 y Ph1 variantes, cuando son tratados con IM o algún otro tipo de ITKs de primera línea [36, 37]. En nuestro caso, el paciente inició tratamiento con IM (400 mg/día), el que



continúa en la actualidad con muy buenos parámetros de respuesta hematológica, citogenética y molecular [33, 36, 38].

### Conclusiones

Todos los clones analizados en el paciente presentaron el Ph1 variante descrito como único cambio. No se observaron metafases que presentaran otras alteraciones asociadas, lo que conjuntamente con el patrón de señales hallado de FISH, nos permite sugerir que la alteración observada es el resultado de tres rupturas simultáneas en una misma célula y no de un proceso de múltiples eventos. Por otra parte, y a pesar de la naturaleza genéticamente compleja del caso descrito en el presente trabajo, este hecho, no parece constituir un factor de peor pronóstico para la respuesta a tratamiento con IM como primera línea, conservando parámetros de respuesta hematológica, citogenética y molecular óptimos.

Sin embargo, resaltamos la importancia del análisis realizado y el informe del caso, lo que permitirá a futuro y con un número creciente de casos analizados y publicados, una correlación adecuada con los datos clínicos lo que podría en conjunto contribuir a esclarecer nuevos aspectos sobre los mecanismos subyacentes involucrados en translocaciones complejas así como las implicancias fenotípicas que ellas pudieran tener, no sólo en LMC, sino también en otros tipos de patologías oncológicas como algunos subtipos de leucemia mieloide aguda, leucemia linfoblástica aguda y diversos subtipos de linfomas.

### Agradecimientos

Los autores desean agradecer al Comité Ejecutivo de Desarrollo e Innovación Tecnológica (CEDIT) por las becas otorgadas durante el desarrollo de este trabajo.

### Bibliografía

- Kantarjian, H.; Talpaz, M.; Giles, F. [et al]. *New insights into the pathophysiology of chronic myeloid leukemia and imatinib resistance*. Annals of Internal Medicine 19; 145: 913–923. 2006.
- Kurzrock, R.; Kantarjian, HM.; Druker, BJ. [et al]. *Philadelphia Chromosome-Positive Leukemias: From Basic Mechanisms to Molecular Therapeutics*. Annals International Medicine 10, 138: 819–830. 2003.
- Nowell, PC. & Hungerford, DA. *A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia*. Science, 132: 1497. 1960.
- Rowley, JD. *A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia*. Nature 243: 290–293. 1973.
- Rowley, JD. *The critical role of chromosome translocations in human leukemias*. Annual Review of Genetics 32: 495–519. 1998.
- Fröling, S. & Dohner, H. *Chromosomal abnormalities in cancer*. The New England Journal of Medicine 359: 722–34. 2008.
- Goldman, J. & Melo, J. *Chronic myeloid leukemia—advances in biology and new approaches to treatment*. The New England Journal of Medicine 349: 1451–1464. 2003.
- Melo, JV.; Hughes, TP. & Apperley, JF. *Chronic myeloid leukemia Hematology/American Society of Hematology 1*: 132–137. 2003.
- Heim, S. & Mitelman, F. *Cancer cytogenetics*, 3rd Edition. Hoboken, New Jersey, Wiley Blackwell, a John Wiley & Sons, Inc., publication. Cap 7, p179–207. 2009.
- Gallego, S.; Baialardo, E.; Gutiérrez, M. [et al]. *A new variant Ph translocation in chronic myeloid leukemia: t(Y;22)(p11;q11)*. Cancer Genetics and Cytogenetics 87: 75–78. 1996.
- Naumann, S. & Decker, H. *Genesis of variant Philadelphia chromosome translocations in chronic myelocytic leukemia*. Cancer Genetics and Cytogenetics, 147: 18–22. 2003.
- Fisher, AM.; Strike, P.; Scott, C. [et al]. *Breakpoints of variant 9;22 translocations in chronic myeloid leukemia locate preferentially in the CG-richest regions of the genome*. Genes Chromosomes & Cancer 43: 383–389. 2005.
- Bennour, A.; Sennana, H.; Laatiri, A. [et al]. *Molecular cytogenetic characterization of variant Philadelphia translocations in chronic myeloid leukemia: genesis and deletion of derivative chromosome 9*. Cancer Genetics and Cytogenetics 194: 30–37. 2009.
- Richerbourg, S.; Eclache, V.; Perot, C. [et al]. *Mechanisms of genesis of variant translocation in chronic myeloid leukemia are not correlated with ABL1 or BCR deletion status or response to imatinib therapy*. Cancer Genetics and Cytogenetics 182: 95–102. 2008.
- Gorusu, M.; Benn, P.; Li, Z. [et al]. *On the genesis and prognosis of variant translocations in chronic myeloid leukemia*. Cancer Genetics and Cytogenetics, 173: 97–106. 2007.
- Belli, C.; Alú, MF.; Alfonso, G. [et al]. *Novel variant Ph translocation t(9;22;11)(q34;q11.2;p15)inv(9)(p13q34) in chronic myeloid leukemia involving a one-step mechanism*. Cytogenetic and Genome Research 132, 4: 304–308. 2011.
- Reid, AG.; Huntly, BJ.; Grace, C. [et al]. *Survival implications of molecular heterogeneity in variant Philadelphia-positive chronic myeloid leukaemia*. British Journal of Haematology 121: 419–427. 2003.
- Yehuda, O.; Abeliovich, D.; Ben-Neriah, S. [et al]. *Clinical implications of fluorescence in situ hybridization analysis in 13 chronic myeloid leukemia cases: Ph negative and variant Ph-positive*. Cancer Genetics and Cytogenetics, 114:100–107. 1999.
- Reddy, KS. & Sulcova, V. *A FISH study of variant Philadelphia rearrangements*. Cancer Genetics and Cytogenetics

- tics, 118:121–131. 2000.
20. Loncarevic, IF; Romer, J.; Starke, H. [et al]. *Heterogenic molecular basis for loss of ABL1-BCR transcription: deletions in der(9)t(9;22) and variants of standard t(9;22) in BCR-ABL1-positive chronic myeloid leukemia*. Genes Chromosomes & Cancer 34: 193–200. 2002.
  21. Shaffer, L.; Slovak, M. & Campbell, L. -editors-. *International Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature*. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Cytogenetic and Genome Research. 2009.
  22. Cross, N. *Detection of BCR-ABL in Hematological Malignancies by RT-PCR*. Cotter F.E. Molecular Diagnosis of Cancer. Cap. 2, p. 25–36. 1996.
  23. **Mitelman Database of Chromosome Aberrations in Cancer**. (2013). Mitelman F, Johansson B & Mertens F. Available at <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>. (verificado: Sep 2015).
  24. Barbata, G.; Granata, G.; Bellanca, F. [et al]. *Complex translocation t(3;9;22) and paracentric inversion of chromosome 3 in blastic crisis of chronic myeloid leukemia*. Cancer Genetic and Cytogenetic 20: 305–309. 1986.
  25. Albano, F.; Anelli, L.; Zagaria, A. [et al]. *Non-random distribution of genomic features in breakpoint regions involved in chronic myeloid leukemia cases with variant t(9;22) or additional chromosomal rearrangements*. Molecular Cancer, 9:120. 2010.
  26. Bennour, A.; Bellâaj, H.; Youssef, B. [et al]. *Molecular cytogenetic characterization of Philadelphia-negative rearrangements in chronic myeloid leukemia patients*. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology 137:1329–1336. 2011.
  27. Buda, G.; Orciulo, E.; Maggini, V. [et al]. *Complex translocation t(3;9;22)(p21;q34;q11) at diagnosis is a negative prognostic index in chronic myeloid leukemia*. Leukemia research, 32: 192–194. 2008.
  28. Tan, J.; Cang, S.; Seiter, K. [et al]. *t(3;9;22) 3-Way chromosome translocation in chronic myeloid leukemia is associated with poor prognosis*. Cancer Investigation, 27:718–722. 2009.
  29. Gutiérrez, LG.; Belli, C.; Ferri, C. [et al]. *Clonal Evolution and Cytogenetic Changes in Chronic Myeloid Leukemia*. Urbano K., NOVA Publisher group: Advances in genetics Research. Vol. 11, Cap. 8, p. 181–200. 2014. Available at [https://www.novapublishers.com/catalog/product\\_info.php?products\\_id=47854](https://www.novapublishers.com/catalog/product_info.php?products_id=47854) (verificado Sep 2015).
  30. Specchia, G.; Albano, F.; Anelli, L. [et al]. *Derivative chromosome 9 deletions in chronic myeloid leukemia are associated with loss of tumor suppressor genes*. Leukemia & Lymphoma 45, 4: 689–694. 2004.
  31. Druker, B.; Talpaz, M.; Resta, D. [et al]. *Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia*. The New England Journal of Medicine 344-a: 1031–1037, 2001.
  32. Druker, B.; Sawyers, C.; Kantarjian, H. [et al]. *Activity of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in the blast crisis of chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the Philadelphia chromosome*. The New England Journal of Medicine 344-b: 1038–1042, 2001.
  33. Baccarani, M.; Cortes, J.; Pane, F. [et al]. *Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet*. Journal of Clinical Oncology, 27: 6041–6051. 2009.
  34. Batty, N.; Kantarjian, H.; Borthakur, G. [et al]. *Patients with chronic myeloid leukemia with variant Philadelphia chromosome (Ph) translocations have a similar outcome as those with classic Ph when treated with imatinib or 2nd generation TKI*. Blood 112: 1108. 2008.
  35. Marzocchi, G.; Castagnetti, F.; Luatti, S. [et al]. *Variant Philadelphia translocations: molecular-cytogenetic characterization and prognostic influence on frontline imatinib therapy, a GIMEMA Working Party on CML analysis*. Blood, 117: 6793–6800. 2011.
  36. Baccarani, M.; Deininger, MW., Rosti, G. [et al]. *European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia*. Blood, 122: 872–884. 2013.
  37. Koshiyama, DB.; Capra, ME.; Paskulin, G. [et al]. *Cytogenetic response to imatinib treatment in Southern Brazilian patients with chronic myelogenous leukemia and variant Philadelphia chromosome*. Ann Hematol 92:185–189. 2013.
  38. Beligoy, L.; Bengio, R.; Bordone, J. [et al]. *Guías de tratamiento: Leucemia Mieloide Crónica*. Sociedad Argentina de Hematología. Editora: Silvina Palmer. Tomo II: 503. Available at [http://www.sah.org.ar/guias\\_hematolo.asp](http://www.sah.org.ar/guias_hematolo.asp). (verificado Sep. 2015).

Recibido: 23/06/2014.

Aprobado: 31/05/2016.

RECYT

Año 19 / Nº 27 / 2017 / 51–57

## Estudio de la flora microbiana de la yerba mate durante las etapas de su elaboración

### Study of the microbial flora of the yerba mate during the production stages

### Estudo de flora microbiana do mate durante a sua fases de desenvolvimento

Luis A. Cañete<sup>1,\*</sup>, Beatriz del V. Argüello<sup>2</sup>, Amada B. Pucciarelli Román<sup>2</sup>

1- Instituto Nacional de Alimentos (INAL), Posadas, Misiones. 2- Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones. Félix de Azara 1552, Posadas, Misiones, Argentina.

\* E-mail: alcanete@ciudad.com.ar

#### Resumen

El procesamiento, expendio y exportación de la yerba mate representa una importante actividad en la economía de la provincia de Misiones. El objetivo de esta investigación fue conocer la variación de la flora microbiana de la yerba mate y su evolución en las distintas etapas de elaboración. Se evaluó el perfil bacteriológico y micológico durante un periodo de 18 meses, de 72 muestras, desde la cosecha hasta la obtención de la yerba canchada y 48 muestras de yerba mate canchada estacionada, con 9-12 meses de almacenamiento. Los recuentos microbiológicos presentaron valores máximos elevados en la materia prima; Bacterias Aerobias Mesofilas:  $7 \times 10^6$  UFC/g; Bacterias Aerobias Termófilas  $1 \times 10^2$  UFC/g; Coliformes Totales:  $1,1 \times 10^5$  NMP/g; Coliformes termotolerantes:  $1,5 \times 10^4$  NMP/g; *Escherichia coli* (Ec): presencia en 72%; *Anaerobios Sulfitos* Reductores Mesofilos y Termófilos (ASRM y ARST) presencia en 65%; Hongos y Levaduras (HyL):  $8 \times 10^6$  UFC/g; cayendo los recuentos considerablemente luego del zapecado y secado, manteniéndose valores bajos en el producto canchado y estacionado, con excepción del recuento de HyL. No se detectó presencia de Ec, ASRM y ASRT en las últimas etapas del proceso. Por lo tanto, se sugiere considerar los valores de recuentos obtenidos en las etapas de Canchado y Estacionamiento; como valores de referencia en la Reglamentación del Código Alimentario Argentino, que regule la calidad higiénico-sanitaria de la yerba mate envasada, desde el punto de vista microbiológico; y evitar la contaminación durante el envasado.

Palabras clave: Yerba mate; Flora micótica; Flora bacteriana; Etapas del procesamiento.

#### Abstract

Processing, selling and exporting yerba mate represent an important activity in the economy of the province of Misiones. The objective of this research was to determine the variation of the microbial flora of yerba mate; and its evolution in different stages of development. The bacteriological and mycological profile was evaluated over a period of 18 months from 72 samples in the different processing stages, from harvest to the toasted green tea, and 48 samples of yerba mate stationed with 9-12 months of storage. Microbiological counts showed the higher values in raw material, Mesophilic aerobic bacteria:  $7 \times 10^6$  UFC / g; Coliforms:  $1.1 \times 10^5$  NMP / g; Thermotolerant coliforms:  $1.5 \times 10^4$  NMP / g; *Escherichia coli* (Ec): 72% presence; Mesophilic and Thermophilic Sulfites Anaerobes Reducers (ASRM; ASRT) presence in 65%; Yeasts and molds (HyL):  $8 \times 10^6$  UFC / g. Counts fell considerably after zapecado and drying, keeping low values in the *canchado* and drying, except HyL count. No presence of Ec, ASRM and ASRT was detected in the later stages of the process. Therefore, it is suggested to consider the values of counts obtained in the stages of *Canchado* and *Estacionamiento*; as reference values in the Regulation of the Argentine Food Code, which regulates the hygienic-sanitary quality of packaged yerba mate from the microbiological point of view; and avoid contamination during the packaging.

Keywords: Yerba mate; Mycotic flora; Bacterial flora; Processing stages.

#### Resumo

O processamento, venda e exportação da erva-mate é uma atividade importante na economia do estado de Misiones, Argentina. O objetivo desta pesquisa foi determinar a variação da flora microbiana de erva-mate; a sua evolução em vários estágios de produção. O perfil bacteriológico e micológico foi avaliada durante um período de 18 meses, de 72 amostras, desde a colheita até obter o chá verde torrado e 48 amostras de erva-mate

estacionado, com 9-12 meses de armazenamento. Contagens microbiológicas mostrou picos elevados na matéria-prima; bactérias mesófilas aeróbias:  $7 \times 10^6$  UFC / g; Coliformes:  $1,1 \times 10^5$  NMP / g; coliformes termotolerantes:  $1,5 \times 10^4$  NMP / g; *Escherichia coli* (Ec): presença de 72%; Sulfitos Mesófilos e Termofilos Anaeróbios Redutores de presença (ASRM e ASRT) em 65%; Leveduras e bolores (HyL):  $8 \times 10^6$  UFC / g; Contagens cair significativamente após zapecado e secagem, e manter valores baixos em canchado e produtos estacionado, exceto contagem de HyL. Sem presença de Ec, ASRM e ASRT foi detectado nas fases posteriores do processo. Portanto, sugere-se a considerar os valores das contagens obtidas nas etapas de Canchado e estacionamento; evitando a contaminação durante a embalagem; como valores de referência no Regulamento do Código Alimentar Argentino, que regem a qualidade higiênico-sanitária de erva-mate embalados, a partir do ponto de vista microbiológico.

Palavras-chave: Erva-mate; Flora Fúngica; Microbiota; Etapas de Processamento.

## Introducción

La yerba mate, *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire (familia de las Aquifoliáceas), es un árbol de hojas persistentes, oblongas, dentadas, inermes, de 5-7 cm de largo, cortamente peciolada (1). Las características y condiciones agroecológicas para el cultivo y desarrollo de la *Ilex paraguariensis*, sólo se dan en Argentina, que es el mayor productor (62%), luego, le siguen Brasil (34%) y Paraguay (4%).

En Argentina el cultivo se concentra en las provincias de Misiones (85%) y Corrientes (15%); en Brasil en los Estados que rodean a la provincia de Misiones, Río Grande do Sul Paraná y Santa Catarina; y en Paraguay, los Departamentos de Itapúa y Alto Paraná del Paraguay, también limítrofes con Misiones.

La producción promedio de los tres países es de unas 500.000 Tn/año, de las cuales el 90% se consume internamente y el resto se exporta a otros países, principalmente a Medio Oriente [2]. La forma de consumo de la yerba mate más ampliamente difundida es como infusión, ya sea como mate caliente, mate frío (o tereré) y en tazas (mate cocido o en saquitos). Otras formas de consumo que alcanzan al 1% del total, son consumo como yerba mate soluble en forma sólida o instantánea, como base o como ingrediente en la elaboración de bebidas refrigerantes, carbonatadas y licores, y para elaborar helados y alfajores y otros productos culinarios [3], farmacéuticos [4], perfumerías [5], también como materia prima para la extracción de cafeína y clorofila [6]. Además, las infusiones de yerba mate constituyen una fuente importante de antioxidantes, bajo la forma de polifenoles totales, los cuales retrasan el envejecimiento celular y son fundamentales para la prevención de determinadas enfermedades [7].

La elaboración de la yerba mate comprende 5 (cinco) etapas: 1) Zapecado; 2) Secado; 3) Molienda Gruesa o Canchado; 4) Estacionamiento y 5) Molienda fina, tipificación y envasado. Las tres primeras etapas se llevan a cabo en establecimientos denominados “secaderos” y la quinta etapa en establecimientos industriales denominados “molinos”. Las ramas de yerba mate cosechadas manualmente, son transportadas en camiones, y descargadas en la playa de recepción de materia prima. El zapecado es

un proceso en el que las ramas de yerba mate se ponen en contacto con altas temperaturas, entre 400 a 700° C, durante 20-30s, continuando el contacto con gases de combustión durante 2-3 min, para producir la inactivación de las enzimas, evitar el pardeamiento en la etapa de secado y reducir el contenido de humedad en las hojas. Con el proceso de secado se logra reducir la humedad hasta el 2% o el 4%, después de estar en contacto con gases de combustión de leña a temperaturas y tiempos variables, entre 90 y 120° C durante 30 min a 24h, según el establecimiento. El canchado es la molienda gruesa de las ramas de yerba mate que salen del secadero y prepara al material para la etapa de estacionamiento, reduciendo su volumen y aumentando la superficie de contacto entre el material y el aire. En esta etapa se obtiene la conocida yerba canchada que, con o sin agregado de saborizantes o hierbas medicinales, se utiliza para tomar el mate frío o tereré. El estacionamiento es una operación en la que se mantiene durante cierto tiempo, que es variable de 6 a 24 meses dependiendo del establecimiento industrial; donde la yerba mate en bolsas, se apilan en galpones con ambiente controlado, para que adquiera las características de sabor y color requeridas por los consumidores. Puede ser natural o acelerado [8, 9]. El estacionamiento natural, se lleva a cabo en depósitos durante varios meses. El “estacionamiento acelerado” se lleva a cabo en cámaras acondicionadas durante un período de hasta 60 días, con temperatura controlada (50- 60° C) y la humedad relativa hasta el 60%, con buena circulación de aire. En general, los molinos procesan yerba mate proveniente de diferentes secaderos, ya sean propios o de otras empresas.

Si bien en las primeras etapas las altas temperaturas hacen que disminuya la carga microbiana existente en el momento de la cosecha [1], no garantizan con total seguridad que, en las etapas posteriores del proceso, el producto presente distintos microorganismos provenientes del suelo y del aire, que puedan llegar a alterar la calidad final del mismo [10, 11].

Existen muy pocos antecedentes de estudios realizados en las etapas de elaboración industrial de la yerba mate, en especial a su calidad bacteriológica, habiendo más trabajos realizados sobre su calidad micológica y sobre la capacidad de algunas especies de hongos productores de micotoxinas

[12]. Ya en 1908, Carlos Spegazzini (13), identifica 72 especies de hongos sobre *Ilex paraguariensis*, la mayoría de la Clase Ascomycetes en hojas verdes de yerba mate; además, también se encontraron hongos de las Clases Zygomycetes y Deuteromycetes [12].

La yerba mate, como producto alimenticio, debe cumplir con ciertas normas de calidad y mantener sus cualidades organolépticas y microbiológicas inalterables en el producto final. Asimismo, la yerba mate debe cumplir con las normativas vigentes en el Código Alimentario Argentino (CAA), con respecto a los parámetros físico-químicos; además de las normas de Higiene y Seguridad de los establecimientos industriales, rotulado, tipos de envase y estampillado; y en Argentina, con la norma IRAM 20517:2007 que establece los métodos y el perfil microbiológico para el control de calidad microbiológica de yerba mate elaborada y yerba mate canchada (Instituto Nacional de la Yerba Mate -INYM-, Instituto de Racionalización de Materiales de la República Argentina -IRAM [14, 15].

El objetivo de esta investigación fue conocer la variación de la flora microbiana de la yerba mate; cómo evoluciona y si su presencia puede incidir en la calidad final del producto. Para ello se procedió a estudiarla en los siguientes niveles: 1) Fases iniciales de la elaboración desde la cosecha (planchada) hasta la obtención de la yerba canchada y 2) durante el período de estacionamiento.

## Materiales y Métodos

Se analizaron 72 muestras en las fases iniciales del proceso, planchada (hojas verdes), zapecado, secado (cinta 1 y cinta 2) y canchado. Para la segunda etapa, se analizaron 48 muestras de yerba mate canchada estacionada, con un período de almacenamiento de 9 a 12 meses. En ambas etapas los análisis fueron realizados mensualmente.

Las muestras fueron tomadas de las líneas del proceso, en distintos puntos (muestreo al azar) y fueron almacenadas en bolsas de polietileno estériles, en una cantidad aproximada de 2-3 kg y se procesaron en el laboratorio dentro de las 24-48 horas, siendo conservadas previamente en lugares adecuados, para evitar posibles contaminaciones externas [16].

El perfil microbiológico se realizó mediante la cuantificación de Bacterias Aerobias Mesófilas (BAM) y Bacterias Aerobias Termófilas (BAT), Coliformes Totales (CT), Coliformes Fecales (CF), Anaerobios Sulfito Reductores Mesófilos (ASRM) y Anaerobios Sulfito Reductores Termófilos (ASRT), detección de *Escherichia coli* (EC) y Hongos y Levaduras (HyL).

En el laboratorio se extrajo una unidad analítica de las muestras (previa homogeneización de las mismas en forma manual), utilizando 25 g de yerba mate en 225 mL de agua peptonada al 0,1% (dilución madre). Después de una correcta homogeneización, (2 a 3 min), y diluciones seriadas de la misma, se procedió a realizar las determinaciones mi-

crobiológicas bajo las Normas Internacionales [15, 16, 17]. Para el Recuento de BAM, se utilizó el Método de Recuento en Placas, con Agar glucosa-peptona de caseína (triptona), colocando alícuotas de 1 mL de las diluciones seriadas en placas estériles, agregando luego el agar atemperado a 46° C, homogenizando en forma rotatoria, una vez solidificado el agar, se incubaron a 30-32° C, durante 24-48 h. Para el Recuento de BAT, se utilizó el mismo método y agar, incubando las placas a 55-60° C, durante 24-48 h [17].

Para el Recuento CT se utilizó la Técnica del Número Más Probable empleando una serie de 3 (tres) tubos de ensayo por dilución, con caldo Mac Conkey, inoculando alícuotas de 1 mL de las diluciones en cada tubo, que se incubaron a 35-37° C, durante 24-48 h [17]. El Recuento de CF se realizó a partir de los tubos con producción de gas y acidez para bacterias coliformes totales; se transfirieron inóculos, mediante un ansa, a tubos conteniendo caldo lactosa bilis (2%) verde brillante, incubando a 44° C  $\pm$  0,1°C durante 24-48 h (15,17). El análisis de *Escherichia coli* 1g (EC), se realizó tomando 10 mL de la dilución madre, que se transfirió a un tubo con campanita Durham, con caldo lactosa bilis (2%) verde brillante, concentración doble, las cuales se incubaron durante 24-48 h a 35-37° C. De los tubos que presentaron fermentación, que se evidencia por formación de gas, se repicó a otro tubo con caldo EC, medio para el desarrollo de *Escherichia coli*, simple concentración, incubando durante 24-48 h a 44-45° C. A partir de estos tubos con fermentación por producción de gas, se realizó la identificación de *Escherichia coli*, sembrando por aislamiento en agar eosina-azul de metileno (EMB), incubando durante 24 h a 37° C. Las colonias características de *E. coli* se confirmaron con las pruebas bioquímicas de identificación del IMVIC (Indol-Rojo de metilo-Voges-Proskauer-Citrato) [15, 17].

El análisis de *Anaerobios Sulfitos* Reductores mesófilos y termófilos/ 1g, se realizó tomando de la dilución madre 10 mL, que se colocaron y mezclaron en tubos con el medio de cultivo agar sulfito-hierro (base) y solución de sulfato ferroso al 7% (20 mL/L del medio), fundido y templado a una temperatura de 50-60° C. Para crear las condiciones de anaerobiosis, se agregó una capa de vaselina o parafina líquida estéril, sobre la mezcla y se sumergieron en baño maría a 70-80° C durante 15 a 20 min con el objetivo de eliminar las células vegetativas y activar el metabolismo de los esporos. Luego, se incubaron a 35-37° C, para los mesófilos y 55-60° C para los termófilos, durante 3 a 5 días. A los tubos considerados positivos (+) (los Clostridios crecen como colonias negras), se les realizó la prueba de la catalasa [17].

Para el Recuento de HyL, se utilizó el Método de Recuento en Placas, inoculando alícuotas de 0,1 mL en cajas de Petri conteniendo Agar extracto de levadura-glucosa (OGY), con antibióticos: Gentamicina (Sn 0,5% p/v) - Oxitetraciclina (Sn 0,1% p/v) - Cloranfenicol (Sn 0,5% p/v), previamente secadas; distribuyendo el inóculo sobre

toda la superficie, con la ayuda de la espátula de Drigalsky, incubando a 25° C durante 5 días [15].

Los recuentos en placas se expresaron en UFC/g y el análisis por fermentación en tubos en NMP/g; todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

Para el análisis estadístico de la influencia de los diversos factores y su posible interacción y contrastes múltiples, se utilizó el Análisis de varianza de más de un factor a través del paquete estadístico del programa Statgraphics Plus 5.1. Statpoint Technologies. Inc. Warrenton VA.USA.

También se realizaron pruebas de Shapiro-Wilk y de Levene para determinar normalidad y homogeneidad de los datos, respectivamente. Como los datos no fueron ni normales ni homogéneos, aun después de transformarlos, se realizaron análisis no paramétricos de Kruskal-Wallis para ver el efecto de las diferentes etapas del proceso. Los análisis se realizaron en el programa R studio.

**Resultados y Discusión**

Las Tablas 1 a 3 muestran los resultados obtenidos luego del análisis de los microorganismos para la materia prima en todas las etapas, donde figuran el menor y mayor valor para cada una de las determinaciones en cada etapa del proceso, cuyos valores no variaron significativamente.

**Tabla1:** Recuentos de Bacterias Aerobias Mesófilas y Bacterias Aerobias Termófilas en las distintas etapas de elaboración de yerba mate

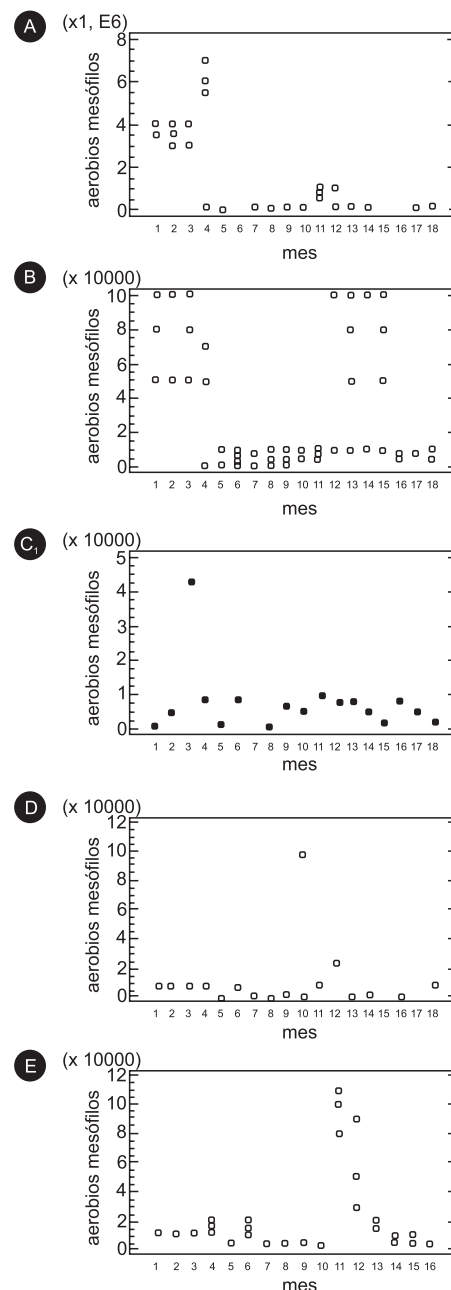
		Planchada	Zapecado	Secado C1	Secado C2	Canchada	Estacionamiento
BAM UFC/g	Max	7x10 <sup>6</sup>	1x10 <sup>5</sup>	6x10 <sup>4</sup>	5x10 <sup>4</sup>	1x10 <sup>4</sup>	1,1x10 <sup>4</sup>
	Min	1x10 <sup>3</sup>	1x10 <sup>2</sup>	1x10 <sup>2</sup>	8x10 <sup>1</sup>	9x10 <sup>1</sup>	3x10 <sup>2</sup>
	Promedio	1x10 <sup>6c</sup>	3x10 <sup>4c</sup>	6x10 <sup>3b</sup>	3x10 <sup>3ab</sup>	9x10 <sup>2a</sup>	1,8x10 <sup>3b</sup>
BAT UFC/g	Max	1x10 <sup>2</sup>	10	10	10	10	1x10 <sup>2</sup>
	Min	0	<1	<1	<1	<1	10
	Promedio	1x10 <sup>2a</sup>	10 <sup>b</sup>	10 <sup>b</sup>	10 <sup>b</sup>	10 <sup>b</sup>	10 <sup>c</sup>

BAM: Bacterias Aerobias Mesofilas; BAT: Bacterias Aerobias Termófilas; UFC/g: Unidad Formadora de Colonia por gramo. Letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0,05)

Los Recuentos de BAM y BAT, son un índice del número total de bacterias en el producto y se toma su cuantificación como parámetro para la evaluación de la contaminación bacteriana [17]. En la primera etapa, el producto presentó una contaminación bacteriana inicial, en promedio de BAM de 1x10<sup>6</sup> UFC/g y de BAT de 1x10<sup>2</sup> UFC/g (Tabla 1). Como se observa, la variación en el desarrollo de las bacterias aerobias mesófilas fue mucho mayor y significativa respecto al desarrollo de las bacterias aerobias termófilas. En ambos grupos de bacterias se observó en la placa de Petri, desarrollo de *Bacillus spp*; cuyo hábitat es el suelo, además de ser microorganismos aerobios esporulados, pero el recuento de los mismos no superaron los límites de riesgos para causar alguna enfermedad [11].

En la Figura 1, se observa una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de aerobios mesófilos

de un nivel de mes a otro, para un nivel de confianza del 95%, siendo el p-valor del Test F<0,05, para las distintas etapas de elaboración. En Planchada (A), hay dos grupos homogéneos perfectamente diferenciados, con mayor concentración de microorganismos en los primeros meses, debido probablemente a diversos factores, como condiciones climáticas o de toma de muestra, con una mayor carga inicial. En la etapa del Zapecado (B), se observa una distribución heterogénea en cuanto al desarrollo de las bacterias aerobias mesófilas, probablemente debido a que en esta etapa la distribución de la muestra no es uniforme dentro del zapecador, y por consiguiente no toda la materia prima recibe la misma temperatura, pudiendo quedar parte de la yerba con cantidades residuales de microorganismos.



**Figura 1:** Análisis de Varianza para Bacterias Aerobias Mesófilas en distintas etapas de elaboración: Dispersión de los datos por nivel del factor mes. x: meses; y: Recuentos en UFC/g. A: Planchada; B: Zapecado; C1: Secado1; D: Canchado; E: Estacionamiento.

Durante el Secado (cintas 1 y 2) (C1), se observa una distribución más homogénea que en la etapa anterior, porque la muestra va perdiendo humedad [11], ya que tiene mayor superficie de contacto en las cintas y también más tiempo de exposición al calor. Se tomaron muestras de dos cintas por encontrarse las mismas, generalmente en lugares físicos diferentes.

En la etapa de Canchado (D) se observó, también una distribución más homogénea en el desarrollo de las bacterias, debido a que el tratamiento se vuelve cada vez más eficaz, ya que el proceso grosero de trituración implica una mayor transferencia de calor a la muestra, impidiendo de esa manera el desarrollo de los microorganismos.

En la etapa de Estacionamiento (E), hay un desarrollo heterogéneo de los microorganismos, y un incremento en el recuento (Tabla 1), que podría deberse al modo en que este proceso se realiza, ya que puede ser influenciado por distintos factores, como la forma de acondicionamiento de las bolsas en el depósito o la humedad relativa del ambiente [1].

De acuerdo al análisis de recuento, de Anova (p-valor del Test  $F < 0,05$ , para las distintas etapas de elaboración) y Contraste múltiple de Rangos /Dispersión de los datos por nivel del factor mes, para aerobios mesófilos según los meses, se observó una disminución paulatina del recuento bacteriano en las etapas de Zapecado y más notorio en el Secado cinta 1 y cinta 2, Canchado y Estacionado con respecto al de las hojas verdes o Planchada (Tabla 1).

Con respecto a Bacterias Coliformes Totales (CT) y Bacterias Coliformes Fecales (CF), también se observaron variaciones en los recuentos en las distintas etapas, según la Tabla 2. Comparando los valores obtenidos de CT en la Planchada, con un valor promedio de  $9 \times 10^4$  NMP/g, con las otras etapas del proceso, se observó que la caída en la etapa del Zapecado, fue de un orden de magnitud, con un valor promedio de  $6 \times 10^3$  NMP/g, siendo más notoria la disminución en las etapas de Secado, cinta 1, con un valor promedio de  $3 \times 10^2$  NMP/g y cinta 2 con un promedio de  $8 \times 10^1$  NMP/g; en la de Canchado, con  $4 \times 10^1$  NMP/g y en el Estacionamiento con  $3,4 \times 10^1$  NMP/g.

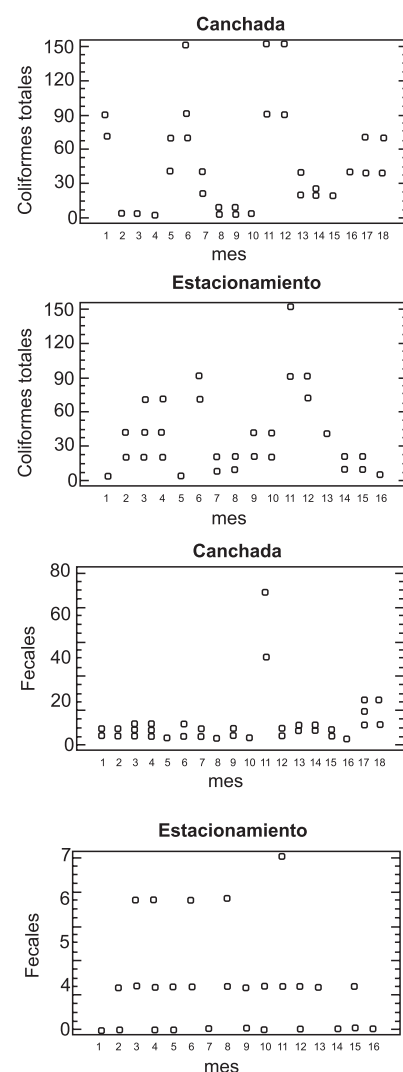
**Tabla 2:** Variación de Coliformes Totales y Coliformes Fecales en las Distintas Etapas de Elaboración de Yerba Mate

		Planchada	Zapecado	Secado C1	Secado C2	Canchada	Estacionamiento
CT NMP/g	Max	$1,1 \times 10^5$	$1 \times 10^4$	$1,1 \times 10^3$	$5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$
	Min	7	4	4	7	< 3	< 3
	Promedio	$9 \times 10^4$ <sup>b</sup>	$6 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$3 \times 10^2$ <sup>c</sup>	$8 \times 10^1$ <sup>a,c</sup>	$4 \times 10^1$ <sup>a</sup>	$3,4 \times 10^1$ <sup>a</sup>
CF NMP/g	Max	$1,5 \times 10^4$	$1 \times 10^3$	90	90	$7 \times 10^1$	7
	Min	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
	Promedio	$1,5 \times 10^4$ <sup>b</sup>	$1,3 \times 10^3$ <sup>b</sup>	$3 \times 10^1$ <sup>c</sup>	$2,1 \times 10^1$ <sup>a,c</sup>	9 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>

CT: Coliformes Totales; CF: Coliformes Fecales; NMP/g: Número Más Probable por gramo. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Con respecto a las Bacterias Coliformes Fecales (CF) con un valor promedio de  $1,5 \times 10^4$  NMP/g en la Planchada (Tabla 2), en el Zapecado se observó una disminución de

la carga bacteriana con un valor promedio de  $1,3 \times 10^3$  NMP/g. Igual que para el recuento de CT, aquí también se observó una disminución más notoria en el desarrollo microbiano en las etapas posteriores, Secado, Canchado y Estacionamiento. Estas variaciones en el recuento bacteriano de los CT y CF, podría ser causada por la presencia de calor en las distintas etapas, que hace disminuir notablemente el número de microorganismos [18]. Sin embargo, el resultado en los gráficos con diferencias estadísticamente significativas de las bacterias, de un nivel de mes a otro, para un nivel de confianza del 95%, muestran una distribución más heterogénea sólo en las etapas de Canchada y Estacionamiento tanto para CT y CF según Figura 2., encontrando una distribución más homogénea en las demás etapas de Planchado, Zapecado y Secado.



**Figura 2:** Análisis de Varianza/Dispersión de los datos por nivel del factor mes para Coliformes Totales y Coliformes Fecales en las etapas de Canchada y Estacionamiento x: meses; y: Recuentos en UFC/g.

En cuanto a la presencia de *Escherichia coli*, se detectó en el 78% de las muestras analizadas en la etapa de Planchada (Tabla 3), un 35% en el Zapecado y ausencia total en las otras etapas, es decir, en el Secado cinta 1 y cinta 2, Canchado y Estacionamiento.

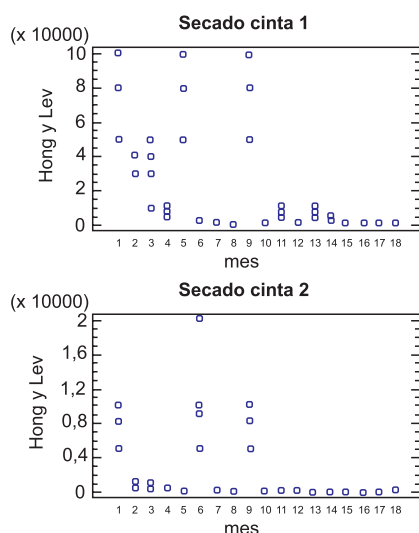
**Tabla 3:** Variación de *Escherichia coli*, Aerobios Sulfito Reductores Mesófilos; Aerobios Sulfitos Reductores Termófilos, Hongos y Levaduras en Etapas de Elaboración de Yerba Mate

		Planchada	Zapecado	Secado C1	Secado C2	Canchada	Estaciona Mientos
<i>Escherichia coli</i>		P=72%	P=35%	P=0%	P=0%	P=0%	P=0%
ASRM y ASRT		P= 65%	P=0%	P=0%	P=0%	P=0%	P=0%
H y L UFC/g	Max	8x10 <sup>6</sup>	1x10 <sup>5</sup>	1x10 <sup>5</sup>	2x10 <sup>5</sup>	6x10 <sup>5</sup>	1,5x10 <sup>5</sup>
	Min	5x10 <sup>3</sup>	1x10 <sup>3</sup>	1x10 <sup>2</sup>	2x10 <sup>2</sup>	8x10 <sup>1</sup>	3x10 <sup>2</sup>
	Promedio	2,9x10 <sup>5</sup> c	1,6x10 <sup>4</sup> d	1,9x10 <sup>4</sup> b	1,7x10 <sup>4</sup> a,b	2,6x10 <sup>4</sup> a	1,8x10 <sup>4</sup> b

P: Presencia; ASRM: Anaerobio Sulfito Reductor Mesófilos; ASRT: Anaerobio Sulfito Reductor Termófilo; H y L: Hongos y Levaduras. UFC/g: Unidad Formadora de Colonia por gramo. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Con respecto a los *anaerobios sulfitos* reductores, tanto mesófilos como termófilos, se detectó presencia de los mismos únicamente en la etapa de Planchada, en un 65% de las muestras analizadas, siendo nulo el crecimiento en las otras fases del proceso. Por lo tanto, estos microorganismos como la *E. coli* y los *Anaerobios Sulfitos* Reductores Mesófilos y Termófilos están presentes solo en las etapas iniciales de elaboración, y no influirían en la calidad final del producto.

Comparando el recuento de Hongos y Levaduras de la etapa de Planchada (Tabla 3), con un valor promedio de 2,9x10<sup>5</sup> UFC/g, con los valores de las otras etapas, se observó una disminución menos importante en el número de microorganismos que en el recuento de bacterias aerobias. La disminución fue del orden de magnitud inferior de 1 (uno) en todas las etapas. Se observa que la presencia de calor en las distintas etapas, influyó poco en la caída del número de Hongos y Levaduras, y en la etapa del Estacionamiento influyen factores como estado de conservación, condiciones ambientales en el depósito durante el estacionamiento [11]. Por lo tanto se debería tener más control higiénico- sanitario en los depósitos de estacionamiento para evitar una re contaminación con la yerba antes de ser empaquetada [19, 20]. Con respecto



**Figura 3:** Análisis de Varianza/ Dispersión de los datos por nivel del factor mes para Hongos y Levaduras en la etapa de Secado, Cinta 1 y 2. x: meses; y: Recuentos en UFC/g.

a los parámetros estadísticos, los gráficos de la tabla de ANOVA (Dispersión de datos por factor mes), demostraron diferencias estadísticamente significativas entre este grupo de microorganismos de un nivel de mes a otro para un nivel de confianza del 95%, puesto que el p- valor del Test F es inferior a 0,05; en donde se observó una distribución más heterogénea, solo en las cintas del Secado 1 y 2, como se muestra en la Figura 3.

## Conclusiones

Las sucesivas operaciones en la elaboración de la yerba mate afectan marcadamente la flora inicial, notándose una disminución más acentuada luego de la etapa del Secado, manteniéndose en algunos casos más bajos o iguales durante la etapa de Canchado y algo más variado durante el Estacionamiento.

El desarrollo de las Bacterias consideradas patógenas (productoras de enfermedades) para los humanos, como *Escherichia coli* y *Anaerobios sulfitos* reductores tanto mesófilas como termófilos, son más predominantes en las etapas de hojas verdes (Planchada) y en el Zapecado, no observándose su desarrollo en las etapas de Secado, Canchado o en el Estacionamiento. Por lo tanto, estos microorganismos no influirían en la calidad final del producto.

En cuanto a los Recuentos de Hongos y Levaduras, se observa un descenso significativo entre las etapas de Planchada (hojas verdes) y el de Estacionamiento, debido probablemente a las condiciones ambientales en el depósito durante la estiba.

De acuerdo a lo observado; de los valores de recuentos obtenidos, se podrían tomar como referencia aquellos obtenidos en la etapa del Canchado y durante el Estacionamiento, para poder comparar con los valores que se observen en la yerba mate elaborada (lista para el consumo humano). Teniendo en cuenta los posibles cambios que se pueden producir durante el envasado y acondicionamiento para la venta, se deducen valores de referencia de los distintos grupos microbianos a tener en cuenta en la Reglamentación del Código Alimentario Argentino, que regule la calidad higiénico-sanitaria de la yerba mate, desde el punto de vista microbiológico.

## Bibliografía

1. Giberti, G. C. *Las especies argentinas del género Ilex L. (Aquifoliaceae)*. Darwiniana 22: p 217-240.1979.
2. Ramallo, L.A.; Schmalko, M.E. y Känzig, R.G. *Variación de la concentración de ácido ascórbico (Vitamina C) en el procesamiento de la Yerba Mate*. Rev de Cienc y Tecnol; 1: p 25-29. 1998.
3. <http://www.cocinerosargentinos.com/recetas/19/756/Regionales/Original-torta-misionera-de-yerba-mate.html> (verificada 19/04/2015).



4. Filip, R. *Yerba mate, de bebida tradicional a alimento funcional. Perspectivas para el siglo XXI*. 5<sup>o</sup> Congreso Sudamericano de la Yerba Mate, Posadas, Misiones, Argentina. Conferencia. Libro de Actas p. 25) 2011.
5. <http://www.lanacion.com.ar/843074-crearon-un-perfume-a-base-de-yerba-mate> - 2006 – (verificada 19/04/2015).
6. Hartwig, Vanessa Graciela. *Obtención de extractos secos de yerba mate con alto contenido de polifenoles y alta capacidad antioxidante*. Tesis Doctoral en Química Industrial 2015-Universidad de Buenos Aires [On-line].
7. Brumovsky, L. *Programa Regional de Asistencia al Sector Yerbatero del INYM (PRASY)*.; En <http://www.kraus.com.ar/esp/yerba-mate/que-es-la-yerba-mate/informacion-nutricional> (verificada 19/04/2015).
8. De Bernardi, L.A. y Prat Kricun, S.D. *Cadena Alimentaria de la Yerba Mate. Diagnóstico de la Región Yerbatera*. En [www.sagpya.mecon.gov.ar/0-3/infusion/diagnostico\\_YM.htm](http://www.sagpya.mecon.gov.ar/0-3/infusion/diagnostico_YM.htm). 2001.
9. Prat Kricun, S. D. *Yerba Mate. Guía para la aplicación de buenas prácticas agrícolas y buenas prácticas de manufactura*. INTA EEA Cerro Azul. Ed. Araucaria Producciones SRL. Misiones Argentina. 2011.
10. Mossel, D.A.A. y García Moreno, B. *Capítulo 3: Alteraciones de los Alimentos por los Microorganismos*. En *Microbiología de los Alimentos. Fundamentos ecológicos para garantizar y comprobar la inocuidad y calidad de los alimentos*. Editor Acribia: Zaragoza. P. 54-89. 1983.
11. Jay, J.M. *Capítulo 3: Parámetros intrínsecos y extrínsecos de los Alimentos que influyen en el crecimiento de los microorganismos, en Microbiología Moderna de los Alimentos*, 4<sup>o</sup> Ed. Acribia, Zaragoza, España. P. 45-62. 2002.
12. Tonón, S. y Marucci, R. *Flora fúngica contaminante de la yerba mate estacionada. Presencia de hongos productores de aflatoxinas*. La Alimentación Latinoamericana, 206. P. 23-32. 1995.
13. Spegazzini, C. *Hongos de la yerba - mate*. Anales del Museo Nacional de Buenos Aires: Serie 3a, Buenos Aires, N° 10, p. 111-141. 1908.
14. *Código Alimentario Argentino. Cap. XV; Productos Estimulantes o Fruitivos*. Art. 1193.
15. Norma IRAM 20517: 2007. *Yerba mate canchada y yerba mate elaborada. Análisis Microbiológicos*. 1<sup>o</sup> Ed. Instituto Argentino de Racionalización de los Materiales. Buenos Aires, Argentina. 2007.
16. ICSMF 2. *Microorganismos de los Alimentos*. Métodos de muestreo para análisis microbiológico. Principios y aplicaciones específicas. 2<sup>o</sup> Ed. Acribia, Zaragoza, España. p 19-104. 1999.
17. ICSMF. *Microorganismos de los Alimentos I*. Su significado y Métodos de enumeración. Ed. ICSMF. 2<sup>o</sup> Ed. Acribia, Zaragoza, España. p 111-146. 2000.
18. ICSMF. *Ecología microbiana de los Alimentos. Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos de los Alimentos*. U.O.T. Press, Editor. Ed. Acribia, Zaragoza, España. P. 1-38. 1983.
19. Marucci, R.S.; Jerke, G.; Naidich, A. y Knass P.S. *Estudio bacteriológico en yerba mate envasada comercializada en la ciudad de Posadas provincia de Misiones, Argentina*. 2<sup>o</sup> Congreso Sul Americano da Erva Mate. III Reunião Técnica da Erva mate. Encantado. Brasil. Libro de resúmenes. P. 162. 2000.
20. Horiánsky, M; Castrillo, M; Tayagui A.; Jerke, G. *Calidad Microbiológica de Yerba Mate Canchada*. Rev de Cienc y Tecnol 14. N°17. P. 30-33. 2012.

Recibido: 17/08/2016.

Aprobado: 23/03/2016.

# Desarrollo de un prototipo sensor de biomasa basado en algoritmos de procesamiento de imagen

## Development of a biomass sensor prototype based in image processing algorithms

Carolina S. Díaz<sup>1,\*</sup>, Jorge H. Barón<sup>2</sup>

1- CONICET. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Cuyo. Centro Universitario Edificio 6, M5502KAF, Mendoza. Argentina.

2- Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Cuyo. Centro Universitario Edificio 6, M5502KAF, Mendoza. Argentina.

\* E-mail: carodiazb78@gmail.com

### Resumen

Este trabajo muestra las evaluaciones iniciales para el desarrollo de un prototipo de sensor portátil de biomasa, basado en el procesamiento de imágenes digitales. Fundamentado en la variación del color que se observa durante el desarrollo del cultivo de microalgas. Esta diferenciación del color se debe principalmente a la variación en la composición del cultivo, a medida que las microalgas van creciendo y capturando la energía solar, esto se relaciona directamente con el crecimiento y la producción de biomasa microalgal. La variación del color es evaluada usando tres colores (rojo, verde y azul), utilizando un algoritmo basado en el modelo de color RGB. Este algoritmo busca extraer las variables que determinan las características del cultivo. Lo que permite fundamentar las bases y el desarrollo de un prototipo de sensor de biomasa que permita estimar la producción de biomasa y las distintas fases de cultivo basado en visión.

Palabras clave: Microalgas; Procesamiento de Imágenes; Modelo RGB; Biomasa.

### Abstract

The initial concerns of a new biomass prototype portable sensor, using digital image processing are shown in this paper. It is based on the color variation that is observed during the cultivation of the microalgae culture. This color differentiation is mainly due to the variation in the composition of the culture, as microalgae grow and capture solar energy; this is directly related to the growth and production of microalgae biomass. The color variation is evaluated using three primary colors (red, green and blue) using an algorithm based on the RGB model. This algorithm seeks to extract the variables which determine the characteristics of the culture. This allows establishing the basis and the development of a biomass sensor prototype that allows estimating the production of biomass and the different phases of culture based on vision.

Keywords: Microalgae; Image Processing; RGB model; Biomass.

### Introducción

Dentro de este equipo de trabajo una de la línea de investigación prioritaria que se viene desarrollando es el cultivo de microalgas en condiciones no estériles para cultivos abiertos, donde la variable principal que determina la productividad del proceso es la biomasa [1]. En el mercado actual existen sensores que permiten medir esta variable, pero en su mayoría están pensados para características de biorreactores cerrados, con todas sus variables externas e internas controladas y dentro de un rango específico, que además son de alto valor económico y en su mayoría no son portables [2].

Con este objetivo global en mente se analizaron las distintas alternativas para el desarrollo inicial del sensor que entregara una medida cualitativa del cultivo en forma

rápida y eficaz, y el estado del mismo, crecimiento, decrecimiento, punto óptimo de la curva, momento de repique o de inicio de cultivo continuo. Basándonos en el color que es una de las características principales que otorga información del estado del cultivo, se buscó mediante procesamiento de imágenes cuantificar con una medida esta característica, establecer una relación con la fase de crecimiento y etapa del cultivo.

Las microalgas y particularmente la *chlorella sp*, son organismos que capturan eficientemente la luz solar, al ocurrir esto la composición, principalmente de clorofila, va cambiando y el cultivo se torna de un color verde más intenso. Como ya es bien sabido la eficiencia fotosintética está relacionada con el crecimiento celular y la biomasa microalgal obtenida como se fundamenta en las referencias bibliográficas [3]; [4]; [5] y [6] entre otros.

En este trabajo se presenta un método basado en el procesamiento de imágenes para extraer un valor en relación a la intensidad de los tres colores primarios presentes en cada muestra para un cultivo de *chlorella sp.* Esta especie de microalga es conocida para la producción de biodiesel dado su alto coeficiente fotosintético y acumulación de lípidos [7]. La variación del color ha sido estudiada e investigada previamente [8]; [9]; debido a la variación en la composición bioquímica del cultivo [10], esta variación se puede medir utilizando colorimetría [11], [12], [13].

**Metodología**

La metodología usada es la extracción de muestras fotográficas en las diferentes fases de cultivos para aislarla de las condiciones lumínicas externas e internas se construye un dispositivo tipo cámara oscura [14]. El método consiste en una caja oscura de dimensiones 35cmx20cmx20cm, pintado su interior de color negro para evitar reflejos, se coloca una fuente constante de 12 Volts para alimentar la fuente de luz incandescente de 60Watts con, con un circuito estabilizador de tensión. Se coloca además un filtro para que la luz sea homogénea y difusa. Las muestras se colocan en un vaso de precipitado de marca BT®GC-17, se colocan en envases idénticos todas las muestras para que tengan las mismas características de vidrio, grosor y por lo tanto de imagen reflejada. La cámara utilizada es una cámara digital Cannon Power Shot 610® de 14,7 Mpixels, está es colocada dentro de la cámara oscura a una distancia focal de 0,28 cm de la muestra (Figura 1).

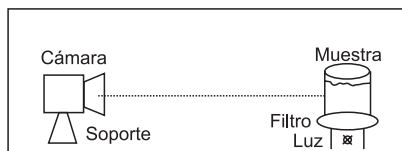


Figura 1: Esquema del dispositivo desarrollado.

Luego de varias pruebas las condiciones seleccionadas para tomar la imagen de cada muestra son las siguientes: Modo P: Programable, ISO = 400, Punto Focal = 2,8 mm, Tiempo de Exposición = 1/50 segundos, AF modo evolutiva continuo, Flash apagado.

Se realizan pruebas con las imágenes teniendo en cuenta los distintos modelos de color. Para este prototipo luego de ensayos se utiliza el modelo RGB que se basa se en las componentes de los tres colores primarios ROJO, VERDE y AZUL para formar cada color. La imagen RGB se representa como un grupo de tres matrices para el software de procesamiento de imagen utilizado MATLAB®, cada matriz representa un plano con las componentes para cada color RED, GREEN y BLUE. En este modelo de color cada pixel de la imagen es representado por una composición aditiva de los tres colores primarios rojo, verde y azul, el número de colores que puede representar cada pixel está determinado por el número de bits usados

para representar cada elemento RGB. En este caso se usan 8 bits por cada color primario esto se denomina el tipo de dato unit8.

Teniendo en cuenta la representación de una imagen en MATLAB® [11], son tres planos, uno para cada color primario, según el esquema mostrado a continuación en de la Figura 2.

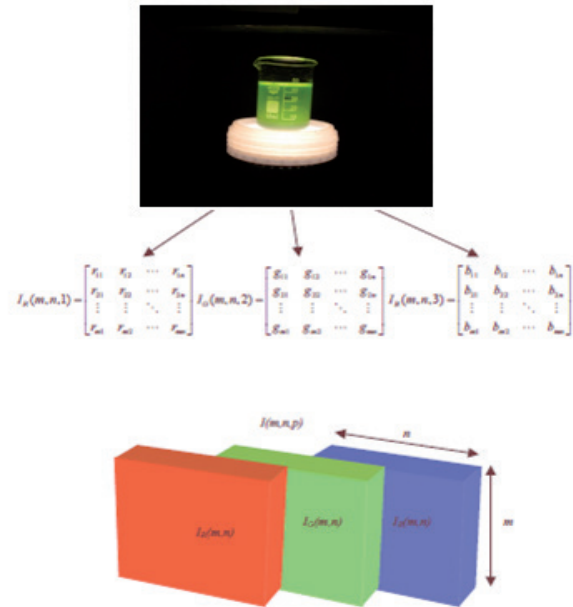


Figura 2: Representación de una imagen RGB en MATLAB®.

Se procesan las imágenes siguiendo el diagrama de flujo del algoritmo desarrollado mostrado en el siguiente esquema para imágenes en RGB (Figura 3).

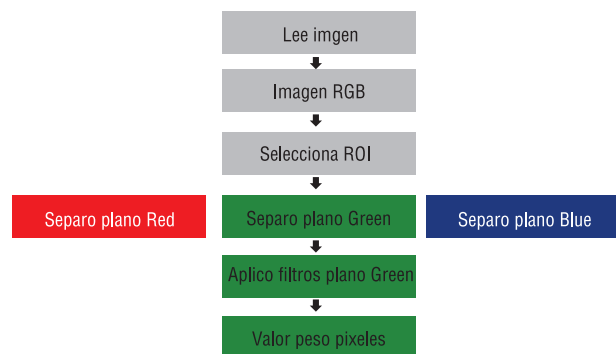


Figura 3: Diagrama de flujo procesamiento imagen.

Se lee la imagen obtenida para cada muestra, la imagen del tipo RGB es representada cada plano RED GREEN y BLUE por una matriz de mxn elementos para este caso es el tamaño de la región de interés o ROI se define de 150x75 pixeles. Se separan los tres planos y se trabaja con el plano GREEN una vez que la imagen ha sido homogeneizada. A este plano se le aplican filtros morfológicos y de mediana que entrega como resultado una matriz de valores. Luego procesando esta matriz se obtiene un valor que será proporcional a la biomasa obtenida.

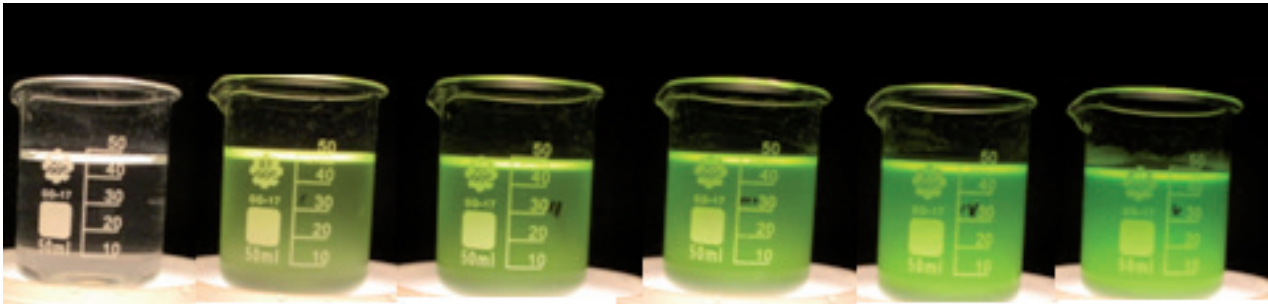


Figura 4: Imágenes tomadas para las diferentes muestras.

**Resultados y Discusión**

Se realizaron pruebas experimentales con muestras diluidas de un inoculo cultivado de *Chlorrella sp* a lo largo de 12 días, partió con el 20% Inoculo, 10% BBM (Bold Basal Medium), 70% Agua. Se tomaron 5 muestras diluidas 1/5, 2/5, 3/5, 4/5, 5/5, más una con agua pura para establecer como referencia.

Las imágenes procesadas se muestran en la Figura 4 y los resultados obtenidos para cada muestra se observan en la Tabla 1.

Tabla 1: Tabla de resultados

	Green	Red	Blue	Bs (mg/L)	Cond.
0	34,7010	41,0980	26,4527	0	CI-100%
I	116,6551	108,2507	34,8099	80	CI-80%
II	119,5015	89,3071	11,6478	156	CI-60%
III	133,1827	92,5052	3,2038	182	CI-40%
IV	152,9956	93,6316	1,8380	230	CI-20%
V	155,5276	81,2516	1,7785	294	CI

Los valores mostrados de biomasa en la Tabla 1 son obtenidos mediante centrifugado, secado y pesado de las muestras. Graficando los resultados se muestran las siguientes líneas de tendencias en las Figuras 5 y 6 para este ensayo:

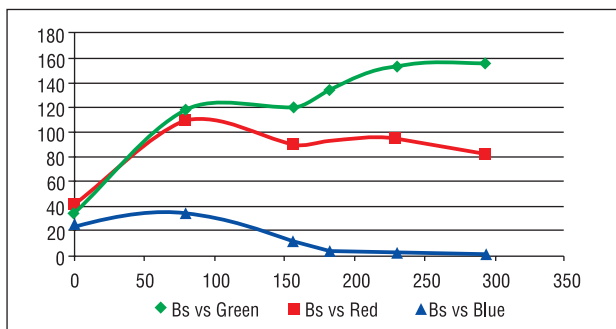


Figura 5: Grafica Biomasa vs RED, GREEN y BLUE.

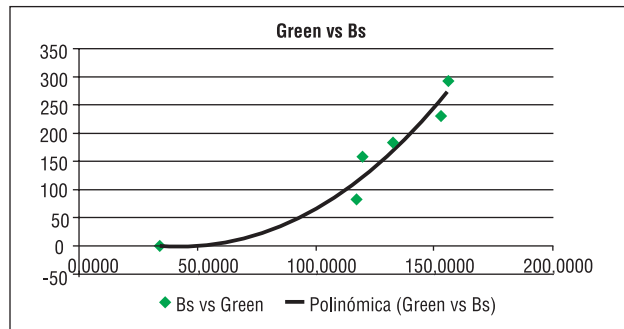


Figura 5: Gráfica valor GREEN vs biomasa.

Según la ecuación obtenida y teniendo en cuenta los valores de GREEN y biomasa que, como se observa, tienen un alto coeficiente de relación cercano a uno, de donde se infiere que lo componente de mayor peso para el desarrollo del algoritmo es la variable GREEN.

Se desarrolla ensayo cultivando *chlorella* durante 24 días en condiciones no estériles en frascos de volumen final 4 litros. Se parte de una concentración inicial de 20% inóculo, 10% BBM, 70% agua. Fotoperiodos de iluminación 12 hs. – 12 hs., inyección de CO2 a demanda según variación de pH. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3.

Tabla 2: Ensayo curva de crecimiento.

Día	pH	Conductividad (mS)	BLUE	RED	GREEN	Bs. (mg/L)
0	7,3	1	51,14	118,39	124,12	76
3	6,9	1,5	33,83	92,27	101,13	96
7	6,7	1,7	5,85	92,17	134,12	191
10	6,6	2	1,44	90,15	168,45	330
14	7	1,7	4,43	49,91	127,65	492
17	6,9	2,1	3,11	50,27	132,18	641
24	7,1	2,5	12,48	15,01	15,74	550

Se grafican los resultados obtenidos y se muestran en las figuras 6 y 7. Como se puede observar la relación entre la biomasa contenida en el cultivo y el valor GREEN se mantiene directamente proporcional hasta el día diez de cultivo, a partir de ahí el algoritmo utilizará las componentes de los valores RED y BLUE haciendo un análisis multivariable basado en el historial de ensayos del grupo para estimar el valor aproximado de biomasa. Se puede observar que cuando los valores GREEN, RED y BLUE convergen a un valor bajo menor de 50, se considera que

el cultivo ha entrado en fase de decrecimiento y muerte. Observando los valores de RGB el algoritmo permite estimar en qué fase de la curva de crecimiento está el cultivo, exponencial, lineal o de decrecimiento y muerte. Lo que permite tomar decisiones de repique o cosecha en el momento óptimo.

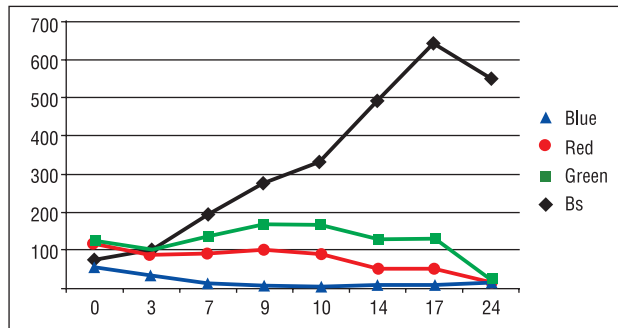


Figura 5: Biomasa y valores RGB en función de días de cultivo.

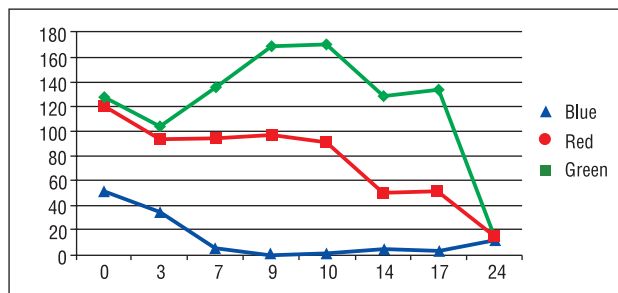


Figura 6: Valores RGB en función de días de cultivo.

## Conclusiones

En las pruebas realizadas, observando las gráficas y los resultados obtenidos, se puede establecer la relación entre el color y la biomasa contenida en el cultivo. Esto permite definir y actuar según las fases principales de crecimiento de las microalgas, debido a la variación de las características del cultivo a medida que van desarrollándose. Los resultados alcanzados en las primeras pruebas experimentales muestran una relación directa: entre el valor obtenido al procesar la imagen y la biomasa contenida en el cultivo, comparada con el procedimiento de peso seco. El espectro de colores en las distintas fases de desarrollo del cultivo se puede diferenciar detectar y cuantificar. Los valores de RED GREEN y BLUE, como se observa en la Figura 5 y 6, convergen a cero cuando las microalgas alcanzan su máximo valor de saturación, brillo e intensidad de color y comienza la fase de muerte. En las fases de crecimiento exponencial el valor de GREEN aumenta proporcionalmente. Determinar estos puntos para cada cultivo es de alta importancia, ya que permite trabajar en la zona de máximo rendimiento, evitando la fase de muerte para obtener mayor productividad. Este desarrollo resulta muy atractivo para implementar en la industria del biodiesel, dado su bajo coste económico, portabilidad, y que permite obtener una

característica cualitativa del cultivo en sus diferentes fases, proporcionando mayor rentabilidad a todo el proceso.

## Bibliografía

1. Rodolfi, L.; Zittelli, G.; Bassi, N.; Padovani, G.; Biondi, N.; Bonini, G.; Tredici, M. *Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor*. *Biotechnology Bioengineering*. Volume 102, pp. 100–112. 2009
2. Havlik, I.; Linder, P.; Scheper, T.; Reardon, K. *On-line monitoring of large cultivations of microalgae and cyanobacteria*. *Trends of Biotechnology*. Volume 31, Issue 7, pp 406–414, Elsevier 2014.
3. MacIntyre, H.L.; Kana, T.M.; Anning, T.; Geider, R.J. *Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigment in microalgae and cyanobacteria*. *Journal of Phycology*. Volume 38 Issue 1, pp. 17-38. 2002.
4. Silva, J.; Santos R.; Serodio J.; Melo R. *Light response curves for *Gelidium sesquipedale* from different depths, determined by two methods: O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence*. *Journal of Applied Phycology*. Volume 10, Issue 3, pp 295-301, Springer Editorial 1998.
5. Masojidek, J.; Torzillo, G.; Kopecky, J.; Koblizek, M.; Nidiaci, L.; Komenda, J.; Lukavska, A.; Sacchi, A. *Changes in chlorophyll fluorescence quenching and pigment composition in the green alga *Chlorococcum s.* grown under nitrogen deficiency and salinity stress*. *Journal of Applied Phycology* Volume 12, pp 417-426. Springer Editorial 2000.
6. Tremblin, G.; Cannuel, R.; Mouget, J.L.; Rech, M. *Change in light quality due to a blue-green pigment, marennine, released in oyster-ponds: effect on growth and photosynthesis in two diatoms, *Haslea ostrearia* and *Skeletonema costatum**. *Journal of Applied Phycology*. Volume 12, Issue 6, pp 557-566. Springer 2000.
7. Y. Chisti. *Biodiesel from microalgae*. *Biotechnol. Adv.*, Volume 25, pp. 294–306.2007.
8. Chia-Hung, Su.; Chun-Chong, Fu.; Yet-Chung, Chang; Giridhar, R. Nair; Jun-Liang, Ye; Ming, Chu y Wen-Teng, Wu. *Simultaneous estimation of chlorophyll a and lipid contents in microalgae by three-color analysis*. *Biotechnology and Bioengineering* Volume 99, Issue 4, pages 1034–1039, 1 March 2008.
9. Carvalho, JCM; Fransisco, FR.; Almeida, KA.; Sato, S.; Converti, A. *Cultivation of *Arthrospira (spirulina) platensis* (Cyanophyceae) by fed-batch addition of ammonium chloride at exponentially increasing feeding rates*. *Journal of Phycology*. Volume 40, pp 587-597. Springer 2004.
10. Lopez, MCGM.; Sanchez, ED.; Lopez, JLC.; Fernandez, FGA.; Sevilla, JMF.; Rivas, J.; Guerrero, MG.; Grima, EM. *Comparative analysis of the outdoor culture of *Haematococcus pluvialis* in a tubular and bubble column photobioreactors*. *Journal of Biotechnology*. Volume 123, pp. 329-342. Elsevier 2006.

11. **Mohammad, H.; Hyun-Joon, La.; Jae-Yon, Lee; Dae-Hyun, Cho; Sang-Yoon, Shin; Woo-Jin, Kim; Hee-Mock, Oh.** *Biomass quantification by digital image processing and RGB color analysis*. Journal of Applied Phycology. Volume 27, Issue 1, pp 205-209. Springer 2014.
12. **Kumar, K.; Sirasale, A.; Das, D.** *Use of image analysis tool for the development of light distribution pattern inside the photobioreactor for the algal cultivation*. Bioreour. Technol., Volume 143, pp. 88–9. Elsevier 2013.
13. **Murphy, TE.; Macon, K.; Berberoglu, H.** *Rapid algal culture diagnostics for open ponds using multispectral image analysis*. Biotechnology Progress Volume 30, Issue 1, pp. 233-24, American Institute of Chemical Engineers 2014.
14. **Miguel V. Córdoba-Matson, Joaquín Gutiérrez, Miguel Ángel Porta-Gándara.** *“Evaluation of Isochrysis galbana (clone T-ISO) cell numbers by digital image analysis of color intensity”*. Journal of Applied Phycology. Volume 22, Issue 4, pp. 427-434, Springer 2010.

Recibido: 06/10/2016.

Aprobado: 20/03/2016.

RECYT

Año 19 / N° 27 / 2017 / 63–68

## Experimentando prácticas de enseñanza. El ABP, sus implicancias para el desempeño del rol del tutor

### Experimenting teaching practices. The ABP, their implications for the performance of the role of tutor

Miriam G. Acuña<sup>1</sup>, Nora M. Sosa<sup>1,\*</sup>

1- Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Félix de Azara 1552, CP 3300, Posadas, Misiones. Argentina.

E-mail: noramsosa@gmail.com

#### Resumen

El presente trabajo comunica los resultados de enseñar mediante el enfoque pedagógico del aprendizaje basado en problemas (ABP) en la cátedra Química Orgánica de la Licenciatura en Genética y Profesorado de Biología de la UNaM. Las prácticas de enseñanza que promuevan el aprendizaje activo tienen efectos beneficiosos sobre la apropiación de contenido del alumnado. El planteo de la situación o caso problema permite que el alumno realice el análisis y la posterior discusión en torno al conjunto de elementos teórico-conceptuales recuperando los principios que les dan sentido. El estudiante es estimulado a aceptar los retos que los contenidos de la asignatura presenta, a generar vínculos entre lo que se aprende y la experiencia; propiciando espacios para la construcción de nuevos saberes. En cada cuatrimestre se modifica la situación problemática, permitiendo al estudiante aprender desde la exploración, investigación y el descubrimiento, para el ejercicio profesional en equipos de trabajos multidisciplinares. Con la presentación del problema se hacen explícitos los requerimientos para la actividad, describiendo la evaluación en proceso mediante rúbrica. La actividad en conjunto impone evaluación de los docentes tutores y de los pares, ambos mediante una encuesta con escala Likert de 4 puntos desde total desacuerdo a total acuerdo. En el transcurso de los años de aplicación, se observa que docentes y alumnos transitan el proceso de consolidación de la metodología, teniendo claro que es una práctica compleja, conflictiva y situada que conduce a la continua indagación y los alumnos aceptan experiencias y contextos que hagan crecer los deseos de aprender resultando un aprendizaje que se caracteriza por resolver tareas reales, contextualizadas y realizadas por equipos de personas que trabajan juntas. El trabajo colaborativo incentiva al aprendizaje y se incrementa la cantidad de aprobados.

Palabras clave: Aprendizaje basado en problemas; Universidad; Enseñanza.

#### Abstract

The present work communicates the results of teaching, with the pedagogical approach, the problem-based learning technique (PBL) in the subject Organic Chemistry in the Bachelor Degree in Genetics and the Biology Teacher Training at the National University of Misiones. The teaching practices that promote the active learning have profitable effects on the students' appropriation of the content. The raising question of an issue allows the student to carry on the analysis and the subsequent discussion about the theoretical and conceptual elements, retrieving the framework that gives them sense. The student is stimulated to accept the challenges that the subject contents represent, as well as to create a link between what is learnt and the experience, providing a space for the construction of the knowledge.

In each semester the disruptive situation is modified, allowing the students to learn from the exploration, research and discovery which prepare them for the future professional activity in multidisciplinary work groups. With the introduction of the dilemma, the requirements for the activity are defined, and the ongoing evaluation is carried out by means of rubrics. The whole activity involves an evaluation conducted by the tutoring teachers and their peers, both of them following a four point Likert scale survey that goes from total agreement to complete disagreement. Over the years, since the PBL practice implementation, it has been observed that teachers and students have undergone the process of reinforcement of the methodology, bearing in mind that it is a complex, conflictive and practice that leads to a continuous inquiry. Moreover, the students embrace the experiences that help their learning desires develop, resulting in a learning that is characterized by solving real and contextualized tasks within a group of people that work together. The collaborative work boosts learning and increases the number of passing scores.

Keywords: Learning based on problems; University; Teaching

## Introducción

En la búsqueda de alternativas para incentivar a los alumnos a abandonar la situación de aprendices imitativos, en la que muchas veces los hemos puesto los docentes y que pasen a conquistar la posición de autogestores de los conocimientos, los docentes de la cátedra de Química Orgánica de la Licenciatura en Genética (LG) y Profesorado de Biología (PB) de la UNaM, enfocaron la enseñanza desde el ABP para el desarrollo de los contenidos. Este enfoque permite a los estudiantes relacionar lo aprendido, atender un problema particular presente en la situación conflictiva. Desde el análisis deben extraer principios y conceptos que pueden ser aplicados a otros problemas. La mirada en perspectiva permite la constante revisión de las hipótesis, como así también evaluar la necesidad de cambios, ratificaciones, reformulaciones. Admite identificar contenidos que no se desarrollaron o se trataron superficialmente y que deben ser profundizados para aumentar la comprensión e integración de conocimientos básicos. Al examinar el problema desde diferentes puntos de vista, pueden identificar y establecer las prioridades de sus propias necesidades de aprendizaje, cuestionar lo que han aprendido; sintetizar el conocimiento resultante de su propio aprendizaje [1]. El alumno debe, participar en el proceso con compromiso y responsabilidad para constituirse en parte del círculo transformador que conduzca a la resolución de las dificultades cognitivas presentes durante el proceso de aprendizaje.

Los docentes, al aplicar el ABP toman una posición de consultores o tutores ante los requerimientos que se presenten, diferente a la acostumbrada. Durante el transcurso de las clases el tutor estimula la discusión acerca de los contenidos esenciales, evitando ser la fuente de información a donde los estudiantes recurren. Facilita el proceso de aprendizaje a partir de preguntas generadoras de nuevas ideas promoviendo el intercambio entre los alumnos, quizás la pregunta que exprese con mayor asiduidad será ¿por qué? Esto permite aplicar los conocimientos previos para construir nuevos saberes durante el análisis del problema en discusión. Contribuye a identificar los principios básicos necesarios para resolver el conflicto cognitivo y lograr que al final de la actividad los aprendices mínimamente se cuestionen ¿en qué medida los conceptos aprendidos, ayudarán a identificar y solucionar diferentes problemas en el futuro? Las preguntas del tutor buscarán alentar el debate de la información relacionada con el problema y los principios y conceptos implicados.

Debido a la potencialidad del enfoque de enseñanza conocido ABP, los docentes de la cátedra Química Orgánica la seleccionaron para desarrollar los contenidos de la asignatura. Durante la aplicación del ABP se genera un ambiente de aprendizaje colaborativo. Es una actividad promotora de la participación y, durante su aplicación, resulta esencial poder expresar las ideas y los conocimientos

en forma libre. El grupo de trabajo lleva adelante la metodología desde el año 2008 con revisiones permanentes de la práctica y con el propósito de comunicar entusiasmo por la disciplina [2, 3, 4]. Del mismo modo, se busca establecer con responsabilidad los temas prioritarios, estos surgen como resultado del proceso colaborativo de construcción de una lista de situaciones posibles según los objetivos generales de aprendizaje, previa evaluación del impacto de los temas sobre situaciones semejantes que se podrían presentar durante la carrera [5, 6, 7]. En el transcurso de la aplicación, se intenta resolver los conflictos, pulir aristas para establecer relaciones entre estos y la dinámica de la cognición individual y grupal de los alumnos. Desde este enfoque didáctico se muestra la aplicación de la disciplina a problemas reales cercanos y estimular el pensamiento crítico (PC). Este pensamiento, se caracteriza por la presencia de determinadas habilidades que se utilizan para tomar decisiones y resolver problemas, tales como: razonamiento verbal y análisis de argumento; comprobación de hipótesis; probabilidad y de incertidumbre, para programar y llevar a cabo un plan estratégico de trabajo.

Con este recurso didáctico, el ABP, el alumno desarrolla procesos de aprendizaje para lograr resultados, apropiándose del contenido, mediante las condiciones que el profesor organice para facilitarlos; cumpliendo con las premisas de la nueva cultura de aprendizaje [8].

En este contexto, los objetivos del presente trabajo son comunicar los resultados de los ajustes a la estrategia áulica ABP adoptada para los trabajos prácticos de laboratorio de la asignatura Química Orgánica. Los rendimientos alcanzados y el seguimiento del desempeño de los docentes como tutores del ABP.

## Materiales y Métodos

Se trabajó con todos los alumnos inscriptos de la asignatura Química Orgánica del primer año de la LG y del PB. Se les solicitó la formación de grupos de 4 personas de acuerdo a sus afinidades. Se intentó que todos los integrantes del grupo tengan la misma condición académica ante la cátedra, regular, regular con trabajos prácticos aprobados y promocionales; cada grupo seleccionó, adaptó y llevó adelante las actividades necesarias para plantear la solución al problema.

Los docentes diseñaron el problema organizándolo a partir de una narración que dio sentido a la propuesta. La presentación y el contenido variaron cada año, por ejemplo en el año 2012: *Sabemos de la importancia del cuidado del medio ambiente e involucrarnos como ciudadanos responsables nos lleva a participar en actividades que contribuyan a minimizar el daño ambiental, reduciendo desde nuestra facultad al mínimo posible los residuos que se generan como resultado de las clases y las actividades de investigación. En la cátedra nos encontramos con tres recipientes cuya etiqueta indica la palabra ácido y*



*nada más, del inventario surgen probables nombres, es necesario identificar las sustancias, elementos que la componen, purificarlos si fuese necesario. Además un laboratorio de servicios produce efluentes con un porcentaje de cloroformo, proponer los métodos de aislamiento, purificación y caracterización. Son cuatro recipientes, tres de ellos contienen sólidos y uno contiene el efluente citado. Podrían ser: Alcohol etílico, Cloroformo, Alcohol ter butílico, Agua, Ácido benzoico, Ácido Bórico. Ácido ascórbico, Ácido salicílico, Ácido oxálico.* La narrativa utilizada pretendió desencadenar en los alumnos el conflicto cognitivo acerca de los contenidos principales a desarrollar e intentó la reconceptualización de los temas que los alumnos consideran complicados y extensos. Mediante argumentos sencillos, se aproximaron los principios, procesos y reacciones que responden al problema. A partir del enunciado, los estudiantes investigaron sobre cada uno de los compuestos y propusieron el trabajo experimental en el laboratorio. El proceso se inició a partir de las normas de seguridad de cada uno de los compuestos.

La evaluación se hizo mediante rúbrica, Anexo I, y por tratarse del aprendizaje autodirigido, se consideraron los conocimientos, habilidades, destrezas y las actitudes. En cuanto al conocimiento, son importantes la adquisición tanto como la comprensión y el criterio al aplicar en la solución del problema. La justificación de las propuestas a partir del análisis crítico de la información recogida. Entre las habilidades, se evaluaron la organización y la gestión del tiempo. Además, las destrezas en el manejo del material durante la experiencia en el laboratorio. En cuanto a las actitudes, se observaron entre otros, el modo en que los alumnos establecen las relaciones interpersonales, el respeto por los horarios consensuados y por los compromisos asumidos, relevantes en cuanto a prepararlos para el ejercicio profesional en grupos interdisciplinarios.

La evaluación del rol del docente tutor y a los compañeros de grupo se realizó mediante una encuesta de 12 preguntas con 4 puntos a todos los alumnos; Anexo II y III. La escala de cuantificación va desde la posición más desfavorable a la más favorable. Cada afirmación se evaluó mediante una escala de estimación que presenta toda la variedad de posibilidades entre totalmente de acuerdo y totalmente en desacuerdo (rating scale), y a cada una de estas posibles respuestas se le asignó un puntaje.

Para evaluar la posible incidencia de la metodología sobre el rendimiento, se compararon los porcentajes de aprobación de la asignatura y de los trabajos prácticos, confrontando los datos surgidos desde la implementación del ABP con los correspondientes a la modalidad histórica utilizando los datos del sistema SIU Guaraní.

## Resultados y Discusión

La presentación del problema sobre el que se trabajó todo el cuatrimestre se realizó en la primera clase de la

asignatura, se exhibió la rúbrica de evaluación junto a las encuestas sobre el rol del docente tutor y la evaluación a los compañeros de grupo, se asignó los horarios de tutoría y se esperó la reacción de los estudiantes, todos los materiales se pusieron a disposición en el aula virtual de la asignatura. A partir de la lectura se observó en los estudiantes sorpresa ante la estrategia de enseñanza, que en principio se presenta carente de exigencias relacionadas con el seguimiento de los pasos de una guía secuencial preestablecida; esta característica constituye la diferencia con la modalidad en las asignaturas anteriores y produjo desconcierto inicial que posteriormente se transformó en entusiasmo para organizarse y emprender el trabajo. El cambio de modelo docente, dejó de ser el que indica el texto a seguir o la fuente de la información necesaria para resolver la situación problemática. Iniciaron las actividades integrando los grupos, distribuyéndose las tareas, la construcción partió desde la contribución individual en la búsqueda de la información para aportar al grupo o generando dentro del mismo la necesidad de realizar búsquedas bibliográficas exhaustivas fundadas. La estrategia didáctica intentó ser un método eficiente y amigable de introducción, pudo actuar como disparador, motivando a los alumnos hacia la lectura. Se promovió en el estudiante el rescate de sus saberes y el direccionamiento conveniente de acuerdo con sus habilidades y capacidades. La utilización adecuada de los saberes previos facilitó que los estudiantes resuelvan el conflicto presentado, estimulándolo a establecer relaciones poco evidentes entre los contenidos desarrollados en las clases teóricas y las actividades realizadas en el laboratorio, tanto en el aula como durante las instancias de evaluación. Los contenidos previos esenciales desarrollados en otras asignaturas se utilizaron de acuerdo con la profundidad con la que plantearon la resolución del conflicto presentado.

La tarea de procesamiento de la información se dificulta por la profusión de datos disponibles en internet que debe ser analizada criteriosamente para separar lo importante de lo accesorio. La modalidad de trabajo exigió aportes de los alumnos para resolver las cuestiones y por lo tanto cada contribución individual adquirió importancia dentro del grupo para presentar la solución del problema o intervenir en las discusiones grupales. La modalidad de trabajo demandó consensuar dentro del grupo para proponer las soluciones del caso en estudio. Los integrantes de cada grupo seleccionaron lo relevante y apropiado para el nivel de conocimientos de acuerdo con los contenidos de la asignatura.

Se asignó un horario específico de tutoría para la evaluación, siguiendo pautas o criterios establecidos en una rúbrica cuya grilla los alumnos conocían desde la presentación de la estrategia.

Durante la evaluación, los docentes observaron el comportamiento individual del alumno cotejando sus competencias para: identificar los objetivos de aprendizaje, los

conocimientos previos, la selección de los contenidos más importantes, el ¿por qué? de la selección; las fuentes de información, búsqueda y selección de información relevante, aplicación de la información a la situación planteada. Del mismo modo, se observó si los alumnos demuestran comprensión y validez del conocimiento aplicado para resolver el problema.

En las entrevistas tutoriales los docentes observaron que los grupos utilizaron diversidad de recursos visuales como por ejemplo: láminas representando a las moléculas, mapas conceptuales, cuestionarios, diagramas de flujo para el diseño experimental. En la puesta grupal, se observó que en algunos casos, lograron integrar los conceptos, establecer las relaciones existentes y construir la explicación durante la presentación. La integración de conceptos lograda por los alumnos, les permitió arribar a la comprensión o a conclusiones individuales y/o grupales enriquecedoras.

Durante la clase experimental, se evaluó especialmente la relación e integración de los conocimientos, se observó el modo en que los diferentes grupos de alumnos lograron asumir la responsabilidad sobre sus aprendizajes, demostraron mayor entendimiento del problema. El proceso permitió a los estudiantes manejar el problema planteado. Les permitió trabajar sobre aquellas áreas de conocimiento en las que presentan mayores limitaciones o les resulten más interesantes.

Según se observa en el cuadro N° 1, la experticia de los docentes A y B se incrementó, aportando la pericia necesaria para realizar una autoevaluación sobre la propuesta. Se consideró la posibilidad de redefinir sus propios marcos de referencia. Se establecieron relaciones con la dinámica de la cognición individual y grupal de los alumnos.

**Cuadro N°1:** Evaluación a los docentes tutores del ABP.

Categorías de Evaluación	% total desacuerdo		% en desacuerdo		% de acuerdo		% total acuerdo	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Docentes Tutores								
1. Muestra un interés activo en mi grupo, es honesto, amigable y se interesa por participar en los procesos del grupo.	1	3	16	9	70	65	13	22
2. Crea un ambiente relajado y abierto para iniciar una discusión.	5	3	19	15	54	59	22	23
3. Escucha y responde adecuadamente a mis problemas y preguntas.	3	1	8	9	70	64	19	25
4. Admite los conocimientos que él no sabe.	1		9	8	59	68	30	24
5. Ayuda a mi grupo a identificar la importancia de aprender temas y a describir temas aprendidos, para poderlos discutir.	1	1	17	14	55	53	25	32
6. Guía e interviene para mantener a mi grupo por el camino correcto además para seguir adelante a pesar de los problemas.	1	1	17	25	60	52	21	22
7. Sugiere recursos de aprendizaje apropiados y ayuda a mi grupo a aprender cómo encontrarlos.	3	3	21	11	55	63	21	23

8. Provee comentarios constructivos acerca de la información presentada.		1	16	7	60	45	22	45
9. Presenta buenos juicios acerca de cuando proveer y responder a una pregunta, y cuando orientar la pregunta a los miembros del grupo.	2	1	18	13	64	57	16	25
10. Plantea preguntas que estimulan mi pensamiento y mi habilidad para analizar el problema.	2	2	14	13	60	41	24	44
11. Impulsa a los miembros del grupo para afinar y organizar sus presentaciones.	2	1	22	18	60	66	16	14
12. Guía a mi grupo en planear que es lo que podemos hacer mejor la próxima vez.	2	1	16	18	53	54	29	26

Cuando los alumnos evaluaron a sus pares que conforman el grupo de trabajo, se observó que la variable más evaluada en desacuerdo para el 80% de los grupos corresponde a la utilización del pizarrón para mejorar su explicación. Se puso en evidencia la mejor preparación de los alumnos en el manejo de otros recursos durante sus exposiciones, como láminas, dibujos, esquemas elaborados con antelación y utilizados como ayuda memoria al momento de realizar las exposiciones ante los docentes.

No existen diferencias significativas entre la cantidad de alumnos que alcanzaron los objetivos de aprobación de los trabajos prácticos con la metodología convencional y la nueva. Del análisis de los datos referidos a la cantidad de alumnos que aprueban los trabajos prácticos resulta que no existen diferencias significativas al comparar los aprobados mediante la metodología tradicional que utilizaba guías preestablecidas de trabajos prácticos y esta nueva propuesta.

## Conclusiones

En la práctica, la estrategia didáctica del ABP demandó al estudiante un esfuerzo intencionado, contando con la colaboración de los integrantes del grupo, puede llevarlo a alcanzarla máxima potencialidad de aprendizaje. Consecuencia de asumir el aprendizaje como un problema que requiere de estrategias elaboradas y de toma de decisiones. Los estudiantes invirtieron una mayor cantidad de tiempo dirigiendo sus esfuerzos hacia el aprendizaje combinatorio y en consecuencia al incremento de la significatividad del mismo.

Al involucrarse en sus aprendizajes, los alumnos, reconocen una práctica docente abierta y funcional [9]. Encontraron que sin recurrir a la clase expositiva tradicional los docentes, se desenvuelven con solvencia sin asumirse como propietario del saber acabado. El docente facilitador actuó para favorecer la reconciliación integradora tan necesaria en ciencias incluyendo experiencias y contextos que incrementaron en el alumno los deseos de aprender. La mayor aspiración docente es propiciar condiciones que conduzca a los aprendices a lograr independencia

de pensamiento con la apertura suficiente para reconocer y recuperar los saberes disciplinares que le permitirán, durante el ejercicio profesional, solucionar los problemas que se le planteen.

En cuanto a los incrementos en el rendimiento, se observó que el porcentaje de aprobación de la asignatura no es significativo. Sin embargo, en lo que se refiere a la aprobación de los trabajos prácticos, solo un 10% de los alumnos que llegan al final de la cursada desaprobaron los trabajos prácticos cuando se utilizó la estrategia didáctica del ABP con respecto a la modalidad tradicional.

Reflexionando desde el punto de vista de la didáctica, con la estrategia del ABP se abordó al aprendizaje desde una dimensión cognitiva y una de conducta, puesto que se produjeron modificaciones en las formas de comportarse y de relacionarse con el entorno, produciendo en conjunto un enriquecimiento del individuo que acumuló experiencias, observó y participó de la realidad, asoció toda la información y reconstruyó sus representaciones.

### Bibliografía

1. **Branda, Luis A. (2009).** *El aprendizaje basado en problemas. De herejía artificial a res popularis.* Educ. méd. v.12 n.1 Barcelona. <http://dx.doi.org/10.4321/S1575-18132009000100004>.
2. **Acuña, M. G.; Sosa, N. M.; Valdez, E. C. (2011).** *Innovando en los trabajos prácticos de química orgánica.* Ajustes en la utilización del aprendizaje basado en problemas como estrategia didáctica. VI Encuentro Iberoamericano Colectivo Argentino de Educadores y Educadoras que hacen investigación desde la escuela. 17 a 22 de Julio de 2011. Córdoba. Argentina.
3. **Acuña, M.G., Sora, N.M.; Valdez, E.C.** *Evaluación del Desempeño del Docente Tutor del Aprendizaje Basado en Problemas desde la percepción del alumnado*. VX REQ Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad Nacional de Buenos Aires. 4, 5, 6 de Mayo de 2011. Buenos Aires, Argentina.
4. **Acuña, M.G.; Sosa, N.M. y Valdez, E. C. (2010).** *Innovando en los trabajos prácticos de química orgánica.* Utilización del aprendizaje basado en problemas como estrategia didáctica (ACI1026-10). Revista Avances en Ciencias e Ingeniería. Chile. P. 89-96.
5. **Campaner, G.; Gallino, M. (2008).** *Aportes didácticos sobre estrategias de enseñanza y el Aprendizaje basado en Problemas (ABP).* 1º Ed, Córdoba. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba. P. 127.
6. **Chiecher, A. (2006).** *Autorregulación en estudiantes universitarios. Estudio comparativo en contextos presenciales y virtuales. Colección Ensayos y Experiencias.* Ed. Noveduc. Nº 63. Buenos Aires. Argentina. p 39-52.
7. **Morales Bueno, P.; Landa Fitzgerald, V. (2004).** *Aprendizaje basado en problemas. Theoria. Vol 13. Universidad de*

*Bio-Bio, Chillan Chile, pp. 145-157. Red Alyc.* La hemeroteca científica en línea en ciencias sociales. [www.redalyc.com](http://www.redalyc.com) (consultado en Abril de 2010).

8. **Pozo, J. I. (2008).** *Aprendices y Maestros. La psicología cognitiva del aprendizaje.* (2º ed). Madrid, España: Alianza Editorial.
9. **Martínez Geijó, P. (2009).** *Estilos de Enseñanza. Conceptualización e investigación (en función de los Estilos de Aprendizaje de Alonzo Gallego y Honey).* Revista Estilos de Aprendizaje, 3(3).

Recibido: 06/07/2015.

Aprobado: 08/11/2016.

### Anexo I: Rubrica de Evaluación

Criterios	Excelencia	Aprobación	Regularización	Insuficiente
Estructura molecular	Identifica a los compuestos, representa la molécula, distingue los elementos, su electronegatividad.	Identifica a los compuestos, representa la molécula, distingue los elementos	Identifica a los compuestos, representa deficientemente a la molécula, distingue los elementos	Identifica a los compuestos, no representa la molécula, distingue los elementos
Tipos de enlaces, hibridación de los enlaces, ángulos de enlace, fuerzas intermoleculares.	Detallados y representados.	Detallados y representados parcialmente.	Detalle y representación incompletos	Solo lo menciona.
Relaciona las fuerzas con las propiedades químicas y físicas de los compuestos.	Detallados y representados.	Detallados y representados parcialmente.	Detalle y representación incompletos	Solo lo menciona.
Interacciones moleculares presentes.	Detallados y representados.	Detallados y representados parcialmente.	Detalle y representación incompletos	Solo lo menciona.
Tipos de reacciones que pueden presentarse.	Detallados y representados.	Detallados y representados parcialmente.	Detalle y representación incompletos	Solo lo menciona.
Métodos de purificación y/o separación	Detallados y con diagrama de flujo.	Detallados y con diagrama de flujo parcial.	Detalle y diagrama incompletos	Solo lo menciona.
Seguridad en el laboratorio	Tiene muy en cuenta las normas.	Tiene en cuenta las normas.	Enumera las normas.	No considera las normas.
Bibliografía	Variada y citada correctamente.	Escasa y citada correctamente	Limitada	Improcedente

### Anexo II. Encuesta sobre el rol del docente

Las categorías que se podían seleccionar fueron: Total Desacuerdo, En Desacuerdo, De Acuerdo y Total Acuerdo. Los ítems son los que se detallan a continuación:

1. Muestra un interés activo en mi grupo, es honesto, amigable y se interesa por participar en los procesos del grupo.

2. Crea un ambiente relajado y abierto para iniciar una discusión.
3. Escucha y responde adecuadamente a mis problemas y preguntas.
4. Admite los conocimientos que él no sabe.
5. Ayuda a mi grupo a identificar la importancia de aprender temas y a describir temas aprendidos, para poderlos discutir.
6. Guía e interviene para mantener a mi grupo por el camino correcto además para seguir adelante a pesar de los problemas.
7. Sugiere recursos de aprendizaje apropiados y ayuda a mi grupo a aprender cómo encontrarlos.
8. Provee comentarios constructivos acerca de la información presentada.
9. Presenta buenos juicios acerca de cuándo proveer y responder a una pregunta, y cuando orientar la pregunta a los miembros del grupo.
10. Plantea preguntas que estimulan mi pensamiento y mi habilidad para analizar el problema.
11. Impulsa a los miembros del grupo para afinar y organizar sus presentaciones.
12. Guía a mi grupo en planear que es lo que podemos hacer mejor la próxima vez.

### **Anexo III. Encuesta sobre los pares**

Las categorías que se podían seleccionar fueron: Total Desacuerdo, En Desacuerdo, De Acuerdo y Total Acuerdo. Los ítems son los que se detallan a continuación:

1. Asiste a las actividades de grupo, aunque se retrase un poco en la hora de llegada a la actividad.
2. Termina todos los trabajos asignados al grupo a tiempo.
3. Asiste a clase con el material leído y necesario para avanzar satisfactoriamente en las discusiones de grupo.
4. Escucha atentamente las presentaciones de los demás.
5. Contribuye a las discusiones en grupo.
6. Tiene dominio sobre la información que se discute.
7. Aporta información nueva y relevante en las discusiones que realiza el grupo.
8. Utiliza el pizarrón para hacer más clara la presentación.
9. Utiliza recursos apropiados para investigar sobre sus presentaciones.
10. Presenta ideas lógicas y argumentos.
11. Realiza preguntas que promueven un entendimiento con mayor claridad y profundidad en lo que respecta a la comprensión.
12. Comunica ideas e información claramente.
13. Te ayuda a identificar e implementar técnicas en las que el grupo pueda funcionar mejor.

RECYT

Año 19 / Nº 27 / 2017 / 69–74

## Niveles de actividad física y su asociación con factores de riesgo cardiometabólico en empleados hospitalarios

### Physical activity levels and the risk of cardiometabolic factors in hospital employees

Gabriela C. Gauvry<sup>1</sup>, María S. Castillo Rascón<sup>2,3,\*</sup>, Williams R. Pedrozo<sup>2</sup>, Carlos Castro Olivera<sup>3</sup>, Alicia C. Guzmán<sup>1</sup>, Ramón A. Sánchez<sup>2,4</sup>, Elba C. Malarczuk<sup>2,3</sup>, Graciela A. Bonneau<sup>2,3</sup>

1 - Facultad de Humanidades y Ciencias Sociales, Tucumán 1946, Posadas, Misiones, Argentina. 2 - Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Félix de Azara 1552, Posadas, Misiones, Argentina. 3 - Hospital Dr. Ramón Madariaga, Av. López Torres 1177, Posadas, Misiones, Argentina. 4 - Hospital Provincial de Pediatría, Mariano Moreno 110, Posadas, Misiones, Argentina.

\* E-mail: scastillorascon@yahoo.com.ar

#### Resumen

El objetivo del presente trabajo consiste en conocer los hábitos activos totales en empleados públicos hospitalarios y su relación con el Índice de Masa Corporal (IMC), Perímetro de Cintura (CC) y Factores de Riesgo Aterogénico Modificables. Sobre un total de 989 trabajadores, fueron evaluados 432 individuos. Se realizaron encuestas personales, mediciones antropométricas, de presión arterial y extracción sanguínea. El nivel de actividad física se midió utilizando el cuestionario internacional de actividad física (IPAQ). El 57,2% presentó bajo nivel, 22,9% nivel moderado y 19,9% nivel intenso. El bajo nivel fue mayor en mujeres (60,3%) que en varones (48,2%) ( $p = 0,067$ ) y en trabajadores con nivel de instrucción más bajo (65%) con respecto al nivel medio (58,8%) y alto (48,1%) ( $p = 0,016$ ). No se encontró asociación significativa con IMC, CC y Factores de Riesgo Aterogénico Modificables. Se recomienda implementar una pista de salud a fin de propiciar la actividad física en el ámbito de trabajo.

Palabras clave: Actividad física; Empleados públicos; Índice de masa corporal; Perímetro de cintura; Factores de Riesgo Aterogénico Modificables.

#### Abstract

The aim of this study is to know the total physical activity habits in hospital civil servants and their relationship to the Body Mass Index (BMI), waist circumference (cc) and modifiable atherogenic risk factors. 432 individuals were evaluated out of 989 workers. Personal interviews were conducted and anthropometric measurements, blood pressure and blood collection were controlled. The level of physical activity was measured using the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ). 57% had low level, 22.9% moderate level and 19.9% high level. The lowest level was higher in women (60.3%) than in men (48.2%) ( $p = 0.067$ ) and in workers with lower level of education (65%) compared to the average level (58.8%) and high (48.1%) ( $p = 0.016$ ). No significant association with BMI, WC and modifiable atherogenic risk factors was found. It is recommended to implement a health track in order to promote physical activity in the workplace.

Keywords: Physical activity; Employed public; Body-mass index; Waist circumference; Modifiable Atherogenic Risk Factors.

#### Introducción

Las enfermedades del aparato circulatorio constituyen la primera causa de muerte en la provincia de Misiones representando el 36,4% del subtotal de causas definidas correspondiente al año 2014. Nuestra provincia presenta un patrón de mortalidad similar al de países desarrollados, sin embargo la pirámide poblacional corresponde a una provincia joven, donde coexiste la alta tasa de mortalidad por enfermedades cardiovasculares con una relativamente

alta frecuencia de mortalidad por otras patologías como enfermedades infecciosas y parasitarias [1].

Teniendo en cuenta que dentro de las enfermedades del aparato circulatorio la aterosclerosis coronaria es la principal causa de la enfermedad isquémica del corazón, existen numerosos factores de riesgo que intervienen para su silencioso desarrollo a través del tiempo. El tercer reporte del panel de expertos sobre detección, evaluación y tratamiento de la hipercolesterolemia en adultos (ATPIII), incluye como factores de riesgo modificables al colesterol

total  $\geq$  a 200 mg / dl, el tabaquismo, la hipertensión arterial (HTA) y el colesterol HDL disminuido [2].

La obesidad, particularmente la asociación de alto perímetro de cintura con alto Índice de Masa Corporal (IMC) es un factor de riesgo independiente para Enfermedad Cardíaca Coronaria (ECC) y diabetes *mellitus* tipo 2 [3]. El IMC mide el exceso de peso total, pero no evalúa la distribución del tejido adiposo en exceso. De particular interés es la evaluación de la adiposidad abdominal, a través de la medición de la circunferencia de cintura (CC), por su asociación con el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles [4].

La American Heart Association en el año 1992 incorpora el sedentarismo como un factor de riesgo para la ECC y establece claramente el rol que le cabe a la actividad física en la promoción de la salud y la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles [5]. Se considera que la actividad física regular es la mejor manera de prevenir el desarrollo de enfermedades y trastornos crónicos que se observan en personas sedentarias, como enfermedad coronaria, HTA, hipercolesterolemia, obesidad, alteraciones músculo esqueléticas y cáncer [6, 7, 8].

Actualmente, los cuestionarios de actividad física son la forma más práctica y ampliamente utilizada para definir niveles de actividad física en investigaciones epidemiológicas [9, 10]. A efectos de medir el nivel de actividad física se desarrolló el Cuestionario Internacional de Actividad Física (IPAQ) en Ginebra en el año 1998 [11]. En el año 2000 se obtuvieron estudios de confiabilidad y validez en 12 países, por lo cual se aprobó en muchos de ellos su utilización para investigaciones de prevalencia de participación en actividad física [12].

Es importante conocer el patrón de hábitos activos en la población adulta y saber en qué medida algunos factores del estilo de vida y los niveles de formación condicionan la realización de prácticas activas. Esto permitirá diseñar estrategias de promoción y prevención a nivel comunitario dirigidas específicamente a los grupos más vulnerables, a través de políticas de acción más eficaces en términos de costo-efectividad. Los objetivos del presente trabajo consisten en conocer los hábitos activos totales, relacionarlos con el nivel de instrucción alcanzado, el IMC, la circunferencia de cintura y los factores de riesgo aterogénico modificables en los empleados de dos Hospitales Públicos de la Ciudad de Posadas, Misiones.

## Material y Métodos

### Población en Estudio

Como parte de un proyecto general a diez años, destinado a evaluar sistemáticamente cada dos años los factores de riesgo cardiovascular y los hábitos de vida relacionados con aquellos sobre una población de empleados públicos hospitalarios, se evaluó a mitad de período el nivel de

actividad física de estos trabajadores.

La población estuvo constituida por los empleados de planta permanente de los Hospitales Dr Ramón Madariaga y Hospital Provincial de Pediatría de la Ciudad de Posadas Misiones. Sobre un total de 989 trabajadores, 432 cumplieron todas las etapas de muestreo y no presentaban diagnóstico de enfermedad cardiovascular, neoplasia, enfermedad renal o hepatopatía al momento del estudio. Todos los empleados accedieron a participar en forma voluntaria, de acuerdo a los preceptos éticos de la declaración de Helsinki y dieron su consentimiento por escrito. El trabajo cuenta con el aval del Comité de Bioética de los dos hospitales públicos.

### Procedimiento de Trabajo

Se cumplió a través de una secuencia predeterminada: a) reunión explicativa con personal del hospital; b) determinación de presión arterial (PA); c) encuesta personal; d) medidas de peso, talla y cintura; e) extracción de sangre; f) procesamiento de las muestras; g) entrega personalizada de resultados de laboratorio; h) ingreso de información en base de datos; i) devolución escrita integral al personal; j) charlas educativas.

### Muestras

Se extrajo sangre con ayuno de 12 horas y estado metabólico estable. La glucemia y el colesterol total se realizaron por métodos enzimáticos colorimétricos. El colesterol-HDL se determinó por precipitación selectiva con ácido fosfotúngstico y medición enzimática del colesterol en el sobrenadante. Todas las muestras fueron procesadas en analizador automático Metrolab 2100 (Buenos Aires, Argentina) con controles de calidad interno y externo (Fundación Bioquímica Argentina).

### Variables Analizadas y Criterios Diagnósticos

**Nivel de actividad física:** se evaluó la actividad física total considerando los siguientes ítems: actividad física en el trabajo, la vida cotidiana, el tiempo libre, el transporte y otras actividades. Se clasificó la información en tres categorías de acuerdo a las recomendaciones del cuestionario IPAQ [11].

1-Nivel bajo: sin actividad reportada o no incluido en niveles moderado o alto.

2-Nivel moderado: a) 3 o más días de actividad intensa de al menos 20 minutos por día o b) 5 o más días de actividad moderada y/o caminata de al menos 30 minutos o c) 5 o más días de cualquier combinación de caminata, moderada o intensa llegando a 600 METS-minutos por semana.

3- Nivel intenso: a) actividad moderada al menos 3 días acumulando 1.500 METS-minuto por semana o b) 7 o

más días de cualquier de caminata moderada a intensa o actividad vigorosa alcanzando un mínimo de actividad física total de 3.000 METS-minutos por semana.

Sexo: variable nominal, categorías: femenino/masculino

Edad: variable cuantitativa continua. Se obtuvo a través de la encuesta personal.

Nivel de instrucción: variable categórica. Se obtuvo a través de encuesta personal consignando el máximo nivel alcanzado. Categorías: 1-Primaria Completa, 2-Secundaria Completa y 3-Universitaria Completa.

Índice de Masa Corporal (IMC): variable cuantitativa continua. Se calculó a través del cociente Peso (kg)/talla<sup>2</sup> (mt). El peso y la talla fueron medidos en balanza de pié con altímetro; sin calzado, con ropa liviana, talones juntos, hombros relajados y ambos brazos al costado del cuerpo.

Circunferencia de Cintura (CC): variable cuantitativa continua. Se midió en centímetros con cinta métrica inextensible en el punto medio de la zona abdominal entre el último arco costal y la cresta ilíaca.

Presión arterial (PA): variable nominal. La PA se midió con esfigmomanómetro de mercurio, con el individuo sentado, luego de 15 minutos en reposo, realizando dos mediciones en el brazo derecho. Se consideró HTA cuando dos mediciones de PA fueron  $\geq 140/90$  mm de Hg o recibían medicación anti hipertensiva. Categorías: a) Hipertenso, b) Normotenso.

Tabaquismo: variable nominal. Se obtuvo el dato a través de la encuesta. Categorías: a) *no fumador* (aquel que nunca ha fumado o dejó de fumar) y b) *fumador* (fumador actual independientemente del número de cigarrillos).

Hipercolesterolemia: variable nominal. Categorías: a) *Hipercolesterolemia*: cuando el colesterol total era  $\geq 200$  mg/dl, b) *Normocolesterolemia*: colesterol total  $< 200$  mg/dl.

Col-HDL disminuido: variable nominal. Categorías: a) *Col-HDL normal*: varones con Col-HDL  $\geq 40$  mg/dl, mujeres con Col-HDL  $\geq 50$  mg/dl y b) *Col-HDL disminuido*: varones Col-HDL  $< 40$  mg/dl, mujeres Col-HDL  $< 50$  mg/dl.

## Análisis Estadístico

Para la comparación entre grupos de las variables nominales y categóricas se utilizó  $X^2$ ; para variables cuantitativas continuas la prueba de Kruskal Wallis. Los resultados se analizaron mediante el programa Epi Info 6,04. Se empleó un nivel de significación  $p \leq 0,05$ .

## Resultados

Al evaluar el nivel de actividad física entre los 432 empleados públicos estudiados se encontró que el 57,2%

correspondían a la categoría de nivel bajo, el 22,9% al nivel moderado y el 19,9% al nivel intenso. No se observaron diferencias significativas entre sexos, sin embargo, los varones fueron más activos que las mujeres (tabla 1).

**Tabla 1:** Nivel de actividad física total y distribución según sexo en empleados públicos hospitalarios

Nivel de actividad física	Total (n=432)	Varones (n=112)	Mujeres (n=320)
Bajo	57,2% (n=247)	48,2% (n=54)	60,3% (n=193)
Moderado	22,9% (n=99)	29,5% (n=33)	20,6% (n=66)
Intenso	19,9% (n=86)	22,3% (n=25)	19,1% (n=61)
$\chi^2=5,395$ $p=0,067$			

No se observaron diferencias significativas entre grupos con respecto a la edad; nivel bajo (47 $\pm$ 10 años), nivel moderado (45,9 $\pm$ 9,6 años) y nivel intenso (45,4 $\pm$ 8,1) ( $p=0,296$ ), lo que permite la comparación entre grupos.

Al relacionar el nivel de actividad física con el nivel de instrucción alcanzado, se observa que a medida que aumenta el nivel de instrucción, aumenta el nivel de actividad física ( $p=0,016$ ) (Tabla 2).

**Tabla 2:** Nivel de actividad física según nivel de instrucción alcanzado en un grupo de empleados públicos hospitalarios

Nivel de actividad física	Nivel de instrucción		
	Primario (n=117)	Secundario (n=182)	Universitario (n=133)
Bajo	65% (n=76)	58,8% (n=107)	48,1% (n=64)
Moderado	23,9% (n=28)	19,2% (n=35)	27,1% (n=36)
Intenso	11,15% (n=13)	22,0% (n=40)	24,8% (n=33)
$\chi^2=12,247$ $p=0,016$			

En la Tabla 3 se presenta la comparación de los niveles del IMC y perímetro de cintura entre los tres grupos de empleados públicos según nivel de actividad física. Tanto el IMC como el perímetro de cintura fueron superiores en el grupo de bajo nivel de actividad física, sin embargo las diferencias no fueron significativas.

**Tabla 3:** Índice de Masa Corporal y Perímetro de Cintura según nivel de actividad física en un grupo de empleados públicos hospitalarios.

Nivel de actividad física	Índice de masa corporal(kg/m <sup>2</sup> ) Mediana (p25-p75)	Perímetro de cintura(cm) Media(ds)
Bajo	26,52 (23,81-31,06)	87,9 (13,2)
Moderado	26,27 (23,96-30,04)	87,8 (13,3)
Intenso	25,47 (22,66-28,29)	84,8 (12,2)
$p=0,087$		$p=0,198$

Al relacionar el nivel de actividad física con la presencia de factores de riesgo aterogénico modificables no se observa asociación significativa con ninguno de ellos (HTA, tabaquismo, hipercolesterolemia y colesterol HDL disminuido).

**Tabla 4:** Relación entre el nivel de actividad física y la presencia de factores de riesgo aterogénico modificables en un grupo de empleados públicos hospitalarios.

NIVEL DE ACTIVIDAD FÍSICA	HTA (%)	TABAQUISMO (%)	HIPERCOLESTEROLEMIA (%)	C-HDL DISMINUIDO (%)
BAJO	40,9	24,3	49,8	37,2
MODERADO	29,3	23,2	51,5	33,3
INTENSO	31,4	17,4	39,5	38,4
X <sup>2</sup>	5,245	1,728	3,274	0,616
p	0,073	0,421	0,195	0,735

## Discusión

Al conocer los hábitos activos totales de este grupo de empleados públicos hospitalarios, se observó una alta frecuencia de bajo nivel de actividad física. Las diferencias entre sexos observada, podría deberse a que los varones fueron más activos por realizar tareas más intensas en el ámbito laboral como maestranza o camilleros además de realizar mayor actividad física en su tiempo libre con respecto a las mujeres. El aumento de la actividad física genera reducción de peso, tiene efectos beneficiosos sobre los factores de riesgo metabólicos y fundamentalmente reduce el riesgo de enfermedad cardiovascular, con una acción protectora frente al riesgo de cardiopatía isquémica siendo este beneficio similar en ambos sexos [6, 7].

El estudio de “Hábitos Deportivos de la Población Argentina - 2000”, investigación realizada por la Secretaría de Turismo y Deporte de la Nación con el soporte calificado del Instituto Nacional de Estadística y Censos, encuentra que en nuestro país aproximadamente el 60% de los varones y el 75% de las mujeres de 25 años y más, no realizan prácticas regulares [13]. Una encuesta realizada por el Ministerio de Salud y Ambiente de la Nación en la ciudad de Olavarría, provincia de Buenos Aires, encuentra una prevalencia de sedentarismo del 32,3%, mayor en mujeres (38,9%), que en varones (26,0%) [14]. Es de señalar que el instrumento de recolección de datos utilizado en estos dos estudios es diferente al utilizado en el presente trabajo.

La inactividad física en Argentina medida a través del cuestionario IPAQ, fue del 46,2% en el año 2005, de acuerdo a datos aportados por la primera encuesta nacional de factores de riesgo [15], incrementándose al 54,9% en la segunda encuesta realizada en el año 2009 [16], estas últimas cifras son similares a las encontradas en los trabajadores hospitalarios de Posadas.

Roldan Aguilar y otros en su trabajo con empleados y docentes de una Institución educativa de Medellín, manifiestan que de acuerdo con los resultados del IPAQ, el mayor porcentaje (45,3%) son sedentarios, seguidos de los activos (33,7%) y por último los muy activos (20,9%) [17]. En una institución prestadora de servicios de salud en Popayán, Colombia, se encuentra que el 56,3% de los trabajadores son sedentarios [18]. Un estudio realizado en trabajadores hospitalarios de Sud África refiere que solo el

25% del personal reporta realizar actividad física de forma regular, siendo en su mayoría del sexo masculino, médicos, con menos de 40 años de edad y con peso normal [19].

Al relacionar el nivel de actividad física con el grado de instrucción alcanzado se observó que los trabajadores hospitalarios con menor nivel de formación eran los más sedentarios. La segunda encuesta nacional de factores de riesgo refiere resultados similares, siendo las personas de menor nivel educativo las más desfavorecidas. En esta encuesta, los varones manifiestan realizar actividad física principalmente por gusto o diversión y en segundo lugar por razones de salud, mientras que en las mujeres el orden es inverso [16].

Se observó un incremento en el IMC y el perímetro de cintura a medida que disminuía el nivel de actividad física en los trabajadores hospitalarios, sin embargo la asociación no fue significativa. Resultados similares se encuentran en los trabajadores de la Universidad de Medellín, Colombia, donde el 43,8% de los obesos y el 45,7% de los no obesos son sedentarios [18].

No se encontró asociación significativa entre los factores de riesgo aterogénico y el nivel de actividad física en los empleados hospitalarios. En el personal docente de Medellín se encuentra que los valores más bajos de colesterol LDL corresponden a las personas físicamente activas o muy activas [17]. El ejercicio físico promueve la pérdida de peso corporal, normaliza la presión arterial, incrementa los niveles de lipoproteínas de alta densidad y mejora la sensibilidad de los tejidos a la insulina [20].

Con respecto al colesterol HDL, los estudios realizados han resultado confusos por la gran cantidad de variables que, independientemente del ejercicio, modifican el perfil lipídico. Diversos polimorfismos relacionados con la Apo-AI, la lipasa hepática, la lipoproteinlipasa, la CETP y otros, modifican la respuesta al ejercicio, la actividad y función de las HDL, con un efecto poco claro sobre el riesgo de enfermedad cardiovascular. El concepto actual es que el ejercicio ha demostrado una modesta asociación con el colesterol HDL, sus sub clases y su función, quedando aún pendientes muchas áreas de investigación [21].

Resultados provenientes del estudio Framingham encuentran que niveles moderados y altos de actividad física conducen a 1.3 y 3.7 años más de expectativa de vida total y 1.1 y 3.2 años más de vida libre de ECV, respectivamente para hombres de 50 o más años de edad comparados con aquellos que mantienen un bajo nivel, encontrando resultados similares en mujeres [22].

Resaltamos la utilidad del test de medición de actividad física usado en el presente trabajo, el cual contempla las dimensiones de actividad en el tiempo libre, el trabajo, el transporte y las tareas domésticas. Además requiere menos tiempo, es menos costo y disminuye el riesgo asociado con el test de ejercicio máximo [10, 12].

La incorporación de un programa de actividad física en el trabajo en forma regular mejora la flexibilidad, previene



dolores, disminuye el peso corporal, rompe la rutina, incrementa la concentración en las tareas, disminuye el estrés y mejora el clima laboral, siendo por lo tanto beneficioso tanto para el trabajador como para el empleador [23].

Se concluye que el nivel de actividad física en el grupo de trabajadores hospitalarios estudiado fue bajo, donde los varones y los individuos con mayor nivel de instrucción fueron más activos. No se encontró asociación entre el nivel de actividad física y los factores de riesgo cardiometabólico. Se recomienda implementar en el Parque de la Salud de la ciudad de Posadas una pista de salud, a fin de propiciar la actividad física en el ámbito de trabajo, como así también realizar un programa de actividad física y nutrición saludable, en donde su objetivo principal sea la adherencia en el tiempo de los trabajadores hospitalarios.

#### Agradecimientos

-A todos los miembros del proyecto de investigación que a lo largo de estos diez años han trabajado activamente para llevar a cabo la labor emprendida;

-A los trabajadores de los Hospitales de adultos Dr. Ramón Madariaga y de Pediatría Dr. Fernando Barreyro por la buena predisposición a participar del presente trabajo, especialmente al personal de los laboratorios;

-A la Lic. Rosa López por colaborar en la búsqueda bibliográfica;

-A Laboratorios Wiener por contribuir con parte de los reactivos utilizados en el presente trabajo.

#### Bibliografía

1. **Estadísticas vitales.** Dirección de Estadísticas de Salud del Ministerio de Salud Pública de la provincia de Misiones, año 2014.
2. **Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III).** JAMA, 285(19):2486-2509. 2001.
3. **Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO expert committee.** World Health Organization, Geneva (Technical Report Series 854): 368-369. 1995.
4. **Farinola, M.; Rodríguez Papini, H.** Utilización de la circunferencia de cintura como indicador del riesgo de padecer enfermedades asociadas a exceso de grasa intra-abdominal. Rev. Soc. Argentina de Diabetes, 38(4): 225-231. 2004.
5. **Fletcher, GF.; Balady, CG.; Blair, SN.; Blumenthal, J.; Caspersen, C.; Chaitman, B.; Epstein, S.; Sivarajan Froelicher, ES.; Froelicher, VF.; Pina, IL. Pollock ML.** Statement on Exercise: Benefits and Recommendations for Physical Activity Programs for All Americans. A Statement for Health Professionals by the Committee on Exercise and Cardiac Rehabilitation of the Council on Clinical Cardiology, American Heart Association. Circulation, 86:340-344. 1992.
6. **Thompson, PD.; Buchner, D.; Piña, IL.; Balady, GJ.; Williams Bess, MA.; Marcus, HA.; Berra, K.; Blair, SN.; Costa, F.; Franklin, B.; Fletcher, GF.; Gordon, NF.; Pate, RR.; Rodriguez, BL.; Yancey, AK. and Wenger, NK.** Exercise and Physical Activity in the Prevention and Treatment of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. A Statement From the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity) Arterioscler Thromb Vasc Biol, 23:e42-e49. 2003.
7. **2013 AHA/ACC Guideline on Lifestyle Management to Reduce Cardiovascular Risk A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines.** Circulation; 129 (suppl 2):S76-S99. 2014.
8. **Boraita Pérez, A.** Ejercicio, piedra angular de la prevención cardiovascular Rev Esp Cardiol; 61 (5):514-528. 2008.
9. **Booth, M.** Assessment of Physical Activity: An International perspective. Research Quarterly for Exercise and Sport; 71:114-120. 2000.
10. **La Porte, R. Montoye H and Caspersen C.** Assessment of physical activity in epidemiological research: problems and prospect. Public Health Rep, 100: 131-146. 1985.
11. **Guidelines for Data Processing and Analysis of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)—Short and Long Forms,** (www.ipaq.ki.se/scoring.pdf). 2005(verified 21 Sep 2015)
12. **Myers, J.; Bader, D.** Validation of a specific activity questionnaire to estimate exercise tolerance in patients referred for exercise testing. Am Heart J; 142:1041-1046. 2001.
13. **Erdosiain, L.; Solís, D.; Isa, R.** Hábitos deportivos de la población Argentina. Secretaría de Turismo y Deporte de la Nación. 2001.
14. **Pitarque, R.; Bolzan, A.; Gatella, M.; Echaide, M.; Guanuco, S.; Arias, M.; Murillo, M.; Ortiz, Z.** Factores de riesgo de enfermedad cardiovascular en la población adulta de la ciudad de Olavarría, Buenos Aires. Rev Argent Cardiol; 74:447-452. 2006.
15. **Ferrante D, Virgolini.** Encuesta nacional de factores de riesgo 2005: resultados principales. Prevalencia de factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares en la Argentina. Rev Argent Cardiol; 75:20-29. 2007.
16. **Ferrante, D.; Linetzky, B.; Konfino, J.; King, A.; Virgolini, M.; Laspieri, S.** Encuesta nacional de factores de riesgo 2009: Evolución de la epidemia de enfermedades crónicas no transmisibles en Argentina. Estudio de corte transversal. Rev Argent Salud Pública; 2(6):34-41. 2011.
17. **Roldan Aguilar, E.; Lopera Zapata, MH.; Londoño Giraldo, F.; Cardeño Tejada, J. y Zapata Vidales, S.** Análisis descriptivo

- de las variables: nivel de actividad física, depresión y riesgos cardiovasculares en empleados y docentes de una institución universitaria en Medellín, Colombia. *Apunts: Medicina de l'esport*; 43(158): 55-61. 2008.
18. Díaz Realpe, JE.; Muñoz Martínez, J. y Sierra Torres, CH. *Factores de Riesgo para Enfermedad Cardiovascular en Trabajadores de una Institución Prestadora de Servicios de Salud*, Colombia. *Revista de Salud Pública*; 9 (1): 64-75. 2007.
  19. Skaal, L.; Pengpid, S. *Physical activity, fitness level and health problems of healthcare workers in South Africa: The transtheoretical model as an explanatory framework- African Journal for Physical, Health Education, Recreation and Dance*; 17(4):612-623. 2011.
  20. Foy, G.; Foley, K.; D'Agostino, R.; Goff, D.; Mayer-Davis, E. and Wagenknecht, J. *Physical Activity, Insulin Sensitivity and Hypertension among US Adults: Findings from the Insulin Resistance Atherosclerosis Study*. *Am J Epidemiol*; 163:921-928. 2006.
  21. Blazek, A.; Rutsky, J.; Osei, K.; Maiseyeu, A. and Rajagopalan, S. *Exercise mediated changes in high-density lipoprotein: Impact on form and function*. *Am Heart J*; 166: 392-400. 2013.
  22. Franco, O.; de Laet, C.; Peeters, A.; Jonker, J.; Mackenbach, J.; Nusselder, W. *Effects of Physical Activity on Life Expectancy With Cardiovascular Disease*. *Arch Intern Med*; 165:2355-2360. 2005.
  23. Dugdill, L.; Brettle, A.; Hulme, C.; Mc Cluskey, S. and Long, AF. *Workplace physical activity interventions: a systematic review*. *International Journal of Workplace Health Management*; 1 (1): 20-40 (<http://eprints.whiterose.ac.uk/3578/>). 2008 (verified 2 Nov 2015).

Recibido: 08/11/2015.

Aprobado: 18/10/2015.