

Cólera en África y América Latina ¿presente asiático?

Nancy I. López y Beatriz S. Méndez

Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. IQUBICEN-CONICET. Buenos Aires. Argentina

nan@qb.fcen.uba.ar | bea@qb.fcen.uba.ar

[Versión para imprimir](#) 

El cólera es una enfermedad cuyo agente es *Vibrio cholerae* bacteria Gram negativa descubierta por Filippo Pacini en 1854, si bien generalmente se atribuye a Robert Koch su aislamiento y caracterización durante un brote en Egipto [1]. Su hábitat principal es el agua. La enfermedad se caracteriza por ocasionar diarreas severas asociadas a vómitos, deshidratación, convulsiones y eventualmente la muerte. El tratamiento de elección ante una infección causada por *V. cholerae* es rehidratar al paciente mediante una solución de glucosa y sales.

Si bien a lo largo de la historia fue una enfermedad temible asociada a grandes epidemias, el cólera se da actualmente en brotes localizados y pandemias. Ejemplo de zonas endémicas son las aguas del Océano Atlántico que bordean el Golfo de México y el Gulf Coast en Estados Unidos, así como el Golfo de Bengala en Asia.

La primera pandemia, o epidemia mundial, comenzó en 1817 desde una zona de endemicidad en Asia sudoriental, específicamente la India, y posteriormente se propagó a otras naciones. A partir de entonces se produjeron otras seis pandemias que afectaron lugares de los cinco continentes. Uno de los serogrupos responsables de las epidemias es el llamado O1 que se presenta principalmente en dos biotipos el "Clásico" y el "El Tor". El primero dominó en las primeras seis pandemias y la séptima, 7P, se atribuye al segundo linaje, 7PET.

Rita Colwell, investigadora estadounidense, propuso una explicación plausible para la aparición y desaparición súbita de la enfermedad basada en su ocurrencia en zonas cercanas a ambientes marinos. Según esta teoría *V. cholerae* se encuentra en un estado viable pero no cultivable específicamente asociado al zooplancton y principalmente a un grupo de pequeños crustáceos, los copépodos. Cuando las condiciones ambientales son adecuadas i.e.: alta temperatura, aumento de nutrientes, *V. cholerae* prospera y da origen a la aparición de la enfermedad [2]. Como consecuencia de esta teoría es posible la predicción de epidemias mediante sensores remotos, como ser imágenes satelitales que podrían, por ejemplo, detectar aumento de clorofila en el fitoplancton, indicación de su crecimiento, que va normalmente seguido de un aumento del zooplancton [3].

Sorpresivamente América Latina se vio afectada por infecciones provocadas por *V. cholerae*. En 1991, después de casi un siglo, apareció una epidemia de cólera en la región. El origen se dio en Perú y se expandió a otros países sudamericanos. Ese mismo año tuvo lugar en México una epidemia que alcanzó su pico más alto en 1996. Por último en 2010, en Haití, surgió otra epidemia que ocasionó un gran número de víctimas.

En relación a la epidemia que afectó tan seriamente a Perú, Colwell sostuvo repetidamente que su causa era el calentamiento del océano en la costa de Perú debido al fenómeno de El Niño [4]. En un trabajo reciente analizó, mediante estudios filogenéticos, el genoma de un número limitado de cepas aisladas en México en el período 1991-2008, tomando como referencia a colecciones actuales y antiguas. Los resultados indicaron que esas cepas no presentaban similitud con aislamientos actuales provenientes de África, Asia o Haití [5].

Para estudiar las pandemias es necesario identificar y describir los microorganismos que las han producido. Considerando Perú 1991 la última estrategia utilizada fue la secuenciación y análisis del genoma de las cepas de *V. cholerae* presentes en la región incluyendo asimismo las aisladas en Haití durante 2010. En ambos casos era previsible hallar resultados sólidos ya que luego de 1991 se incrementó la ya intensa recolección de cepas de *V. cholerae* en América Latina dando lugar a colecciones amplias que permitieron no sólo identificar y relacionar a aquéllas provenientes de las pandemias sino también a las de origen local [6].

Las cepas en estudio comprendieron una colección heterogénea de 252 aislamientos provenientes de 14 países, recolectadas en el período 1974-2014 y de orígenes ambiental y clínico tanto pre- epidémico, como epidémico e inter epidémico. Sus genomas fueron secuenciados y su análisis filogenético dio como resultado que casi la mitad de ellas eran de origen pandémico pertenecientes al linaje 7PET. Se incluyó luego a los genomas de estas cepas en una filogenia que contenía los correspondientes a un alto número de cepas de origen americano. Los resultados confirmaron que las cepas aisladas en 1991 y 2010 pertenecían al linaje 7PET, y que los aislamientos causantes de brotes en tiempos y países diferentes comprendían 11 linajes, entre ellos el llamado Clásico aislado en México en 1991, el Gulf Coast, endémico en las costas de Estados Unidos y México, algunos aislados en Argentina y Brasil que constituían un linaje llamado ELA-1 (Endemic Latin American 1) como así otros que no pertenecían a linajes conocidos.

Los investigadores se circunscribieron entonces al linaje 7PET mediante un estudio filogenético robusto que abarcaba 518 genomas 7PET de distribución mundial, incluyendo aquellos relacionados con las epidemias de 1991 y 2010, y realizando también el análisis molecular detallado de distintos genes, serotipos e islas genómicas entre otros marcadores. Como consecuencia de este examen exhaustivo se pudo llegar a las siguientes conclusiones: 1) Los linajes que provocaron las epidemias de 1991 eran derivados de aislamientos responsables de epidemias en África Central y Occidental, más aun, algunas de ellas tuvieron lugar poco antes de que se declarara la que azoló a Perú y a otros países sudamericanos; 2) Los estudios filogenéticos de un clon que ese mismo año se introdujo en México y luego se expandió por América Central, indicaron su origen en el sur de Asia, si bien su transmisión pudo haber sido directamente de dicho continente o vía Europa; 3) Por último la epidemia de cólera en Haití 2010 que se extendió por América Central y Estados Unidos se debió a una cepa del Sur de Asia introducida por soldados de las Naciones Unidas que habían estado previamente en Yemen.

Considerando la distribución temporal de las cepas en estudio se vio que hay linajes que provocan brotes aislados de la enfermedad; otros como el linaje Gulf Coast en Estados Unidos, ocupan un extenso espacio sometido a un clima cálido propicio para la presencia endémica de cólera asociada a números bajos y persistentes de enfermos. En cuanto una epidemia está caracterizada por su aparición sorpresiva, el elevado número de casos que se ocasiona al comienzo y su relación con linajes asociados a eventos de características similares. Se pudo establecer que estas condiciones se cumplieron en Perú 1991, ya que hubo inicialmente 20.000 casos por semana y en Haití 2010, donde se produjeron 250.000 casos en un período de seis meses. En ambas situaciones las epidemias se debieron a linajes 7PET similares a los de cepas de origen africano y asiático.

¿Qué sucede en África?

África es el continente más afectado por la 7P y un enfoque similar al de América Latina se aplicó para entender su origen [7]. En este caso se secuenciaron solo los genomas de las cepas recolectadas durante la pandemia en una muestra que representaba el 46,8% de los casos informados a la Organización Mundial de la Salud. Es necesario aclarar que en África, a diferencia de América Latina, no se dispuso de un número significativo de cepas recolectadas ya sea en lo que concernía a la pandemia como a casos esporádicos. Los datos filogenéticos permitieron detectar 11 introducciones de 7PET pertenecientes al serogrupo O1. La primera introducción en África occidental, llamada T1, tuvo lugar en 1970 y luego se detectaron otras 3, siendo los aislamientos originarios de distintas zonas de Asia. En

1970 hubo una segunda introducción esta vez en África oriental correspondiente al aislamiento T3 que muestra similitudes con aislamientos encontrados dicho año en Jordania e Israel, lo que sugiere una transmisión desde Asia.

Desde 1970 hasta 2014 se observa un modo conservado de transmisión de los diferentes linajes de 7PET. A partir de Asia se introducen en África occidental y en el sur y el este de África y luego se propagan por todas las regiones del continente, en mayor o menor grado y en períodos que abarcan de 28 a pocos años. Algo sorprendente es la aparición a partir de 1980 de linajes que llevan genes de resistencia a antibióticos. La detección de los mismos fue en aumento y un caso emblemático fue la aparición a partir del año 2000 de sub-linajes originados en Asia que llevan la resistencia a antibióticos como, cloranfenicol, tetraciclina y estreptomina, en islas genómicas [8]. Los datos encontrados por su magnitud y la variedad de los ambientes en los cuales se desarrolla la enfermedad, frecuentemente en sitios lejanos de las costas, en África central, ponen en duda el enfoque centrado en el ambiente para explicar y prevenir “epidemias de cólera”.

Si bien en algunas ocasiones se detectó una relación entre los casos de cólera y el aumento de fitoplancton en zonas costeras [3] el bajo número de casos registrados no es evidentemente suficiente para justificar pandemias como las que se dieron en Perú y Haití explicadas anteriormente [6] o la repetición de epidemias en zonas de África central [7].

Las enfermedades y en especial el cólera, necesitan amigos. Entre los mejores figuran las guerras ya que provocan el desplazamiento de personas que pueblan los campos de refugiados en condiciones de extrema falta de higiene. A veces no son necesarias las guerras para provocar situaciones de enorme pobreza en las cuales ¡oh paradoja de *V. cholerae*! el agua suele ser un lujo, la comida un bien escaso y se da la abundancia de infecciones. Las personas afectadas se trasladan buscando un mejor ambiente y aportan con ellas múltiples enfermedades [9]. Dentro de este panorama es necesario no descuidar los brotes por más que afecten a pocas personas y en esos casos el uso de sensores remotos puede indicar su proximidad y prevenirlos mediante prácticas ambientales adecuadas [2].

Es de especular que tal vez el enfoque “colwelliano” y sus modificaciones pudiesen ser muy adecuados para entender la razón de la preferencia de *V. cholerae* por su “hogar” asiático y que acoplado al estudio de las conductas humanas [9] nos expliquen las razones de la permanencia y variabilidad del microorganismo en ese ambiente.

Referencias:

1. Barua D, Greenough WB editors (1992) Cholera. *New York: Plenum*.
2. Colwell, RR (1996) Global climate and infectious disease: the cholera paradigm. *Science* 274: 2025- 2031.
3. Constantin de Magny G et al. (2008) Environmental signatures associated with cholera epidemics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 17676-17681.
4. Seas C, Miranda J, Gil AI, Leon-Barua R, Patz J, Huq A, Colwell RR, Sack RB (2000) New insights on the emergence of cholera in Latin America during 1991: the Peruvian experience. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 62:513–517
5. Seon Young Choi et al (2016) Phylogenetic diversity of *Vibrio cholerae* associated with endemic cholera in Mexico from 1991 to 2008. *mBio* 7(e2):e02160-15
6. Dorman D, et al. (2017) Integrated view of *Vibrio cholerae* in the Americas. *Science* 358: 789-793.
7. Weill F-X et al. (2017) Genomic history of the seventh pandemic of cholera in Africa. *Science* 358:785- 789
8. Wozniak RAF et al. (2009) Comparative ICE Genomics: Insights into the Evolution of the SXT/R391 family of ICEs. *Plos Genetics* 5 e1000786
9. Rebaudet S, Sudre B, Faucher B, Piarroux R (2013) Environmental determinants of cholera outbreaks in inland Africa: a systematic review of main transmission foci and propagation routes. *The Journal of Infectious Diseases* 208: Issue suppl.1, S46–S54



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista Química Viva

Número 1, año 17, Abril 2018

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Critical assessment of structure prediction (CASP): 24 años evaluando predicciones de estructuras de proteínas

Luciano A. Abriata

Protein Purification and Structure Facility and Laboratory for Biomolecular Modeling, School of Life Sciences, École Polytechnique Fédérale de Lausanne and Swiss Institute of Bioinformatics. Laussane, Switzerland

luciano.abriata@epfl.ch

Recibido: 04/12/2017 - Aceptado: 21/01/2018

[Versión para imprimir](#) 

Resumen

Sin dudas, la predicción de estructuras de proteínas es esencial en la investigación moderna en biología, ya que permite abordar cuestiones estructurales de proteínas difíciles de trabajar en el laboratorio o inclusive de proteínas que son accesibles experimentalmente pero para las cuales el detalle requerido no justifica el tiempo y costo de experimentos. Es crítico, sin embargo, contar con evaluaciones y un marco de referencia sobre la calidad de las predicciones, las posibilidades, y las limitaciones. La *Critical Assessment of Structure Prediction* (CASP) se enfoca precisamente en ese objetivo de evaluar métodos, servidores y grupos de investigadores dedicados a predecir estructuras de proteínas. CASP se organiza en un formato de competición bianual donde los organizadores colectan estructuras que no han sido publicadas y dan a los predictores participantes sus secuencias aminoacídicas. Los predictores luego generan y envían sus modelos, y un grupo independiente de asesores los evalúa. Luego de prácticamente un cuarto de siglo desde la primera edición de CASP, este artículo introduce en forma sencilla las principales observaciones de la edición número 12 (2016-2017), resumiendo el progreso registrado, los métodos y grupos de predictores más destacados, el estado del arte de modelado, y las limitaciones actuales.

Palabras clave: modelado, proteínas, coevolución, predicción, bioinformática

24 years of evaluation of protein modeling strategies by the Critical Assessment of Structure Prediction contest

Summary

The ability to predict protein structures is essential in modern biology, as it allows researchers to approach structural details of proteins that are hard to work with in the wet lab, or even of proteins amenable to wet lab experimentation but where the questions at stake do not justify the costs and time required to solve the structure experimentally. It is critical, however, to have objective evaluations and reference frames about the accuracy of structure predictions, their potentials and limitations. The Critical Assessment of Structure Prediction (CASP) focuses on this aim of providing objective evaluations of methods and research groups for protein structure prediction. Every two years, CASP organizers secure new protein structures that have not been released to the public, provide predictors with their amino acid sequences, collect the models submitted by them, and then independent groups of assessors evaluate the submitted models along different tracks (here only the tertiary structure prediction track is reviewed). After roughly a quarter century of CASP, this article recaps in a lay manner the most important observations during CASP round 12 (2016-2017), summarizing progress over time and highlighting the

most successful methods and groups, the state-of-the-art of modeling strategies, and current potential and limitations.

Keywords: modeling, proteins, coevolution, prediction, bioinformatics

Introducción

La biología estructural intenta explicar los sistemas biológicos a nivel atómico. Para esto, la disciplina depende críticamente de la disponibilidad de estructuras de las moléculas involucradas, entre las cuales las más importantes suelen ser proteínas. Mientras que muchas estructuras pueden determinarse mediante técnicas experimentales como difracción de rayos X o neutrones, resonancia magnética nuclear, y ahora también crio-microscopía electrónica, existe también la alternativa de predecir, o “modelar”, estas estructuras usando métodos computacionales y a menudo algo de “intuición química” y datos estructurales de baja resolución.

Naturalmente, tales predicciones son esenciales para un gran número de moléculas biológicas que no se pueden producir en las cantidades y condiciones necesarias para los distintos experimentos. Pero predecir estructuras puede ser también útil para casos de moléculas que quizás no sean difíciles de producir y de manipular durante los experimentos requeridos para resolver estructuras, pero para las cuales la cantidad de información provista por la estructura no justifique los costos y tiempos. De hecho, si pudiéramos predecir estructuras de biomoléculas con suficiente confianza, podríamos enfocar los experimentos sólo en sistemas particularmente difíciles (esto es lo que de hecho persiguen los esfuerzos de genómica estructural) o en estudiar efectos de perturbaciones en la estructura, como por ejemplo el efecto de la unión de un ligando a la proteína en estudio. En el extremo, si pudiéramos predecir toda la fisicoquímica de un dado sistema a nivel atómico, podríamos prescindir totalmente de experimentos para la determinación de estructuras, y podríamos concentrar los esfuerzos directamente en entender mecanismos y todo lo que su conocimiento permite hacer: desarrollo de drogas, diseño de nuevas funciones, entender la evolución, etc.

Dado el impacto que pueden entonces tener las predicciones de estructuras sobre la biología estructural, generaciones de investigadores han trabajado en el problema desde mediados del siglo pasado, especialmente para proteínas ya que poseen un valor y una variedad estructural mucho mayores que otras macromoléculas biológicas. Muchísimos métodos han sido desarrollados, los cuales se pueden clasificar en dos grandes grupos. Por un lado, aquellos que utilizan estructuras ya conocidas para intentar predecir estructuras de proteínas de secuencia o plegamiento similar, lo cual se conoce como “modelado por homología”. Por otro lado, aquellos métodos que intentan “plegar” secuencias independientemente de cualquier homología con otras proteínas de estructura conocida, por ejemplo utilizando simulaciones basadas en principios fisicoquímicos básicos o utilizando información sobre la estructura de pequeños fragmentos de péptidos y/o de contactos entre residuos.

CASP: Evaluando métodos y grupos para predicción de estructuras de proteínas

El gran problema que surgió junto con los métodos, programas y expertos en modelar estructuras, es como evaluar la calidad de estas predicciones. A principios de los años 1990 nació la *Critical Assessment of Structure Prediction*, o CASP, una organización cuyo objetivo es proveer un seguimiento y evaluación constante de los métodos disponibles para predecir estructuras de proteínas [1]. La competición tiene lugar cada 2 años, durante los cuales los organizadores colectan estructuras experimentales (“*targets*”) que no han sido publicadas en el Protein Data Bank. Los organizadores proveen las secuencias de aminoácidos de estas proteínas a los grupos predictores, quienes luego de un período de tiempo determinado envían sus predicciones a los organizadores. Luego un grupo de asesores (independiente de la organización y que no participan como predictores) evalúa los modelos provistos por los predictores en comparación con las estructuras experimentales (a la que sólo los asesores tienen acceso). Cada competencia finaliza con una serie de artículos que describen la dificultad presentada por los *targets*, describen la calidad de los modelos proporcionados por los

predictores, generan un ranking “oficial” de los predictores, y discuten el “estado del arte” del modelado, especialmente qué métodos funcionaron, qué cuestiones estructurales fueron especialmente difíciles de predecir, etc. En todas las ediciones de CASP esta fue la competición principal, pero en cada edición hay otras vías que evalúan distintos aspectos, como predicción de complejos, refinamiento de detalles, predicción de función, etc.

En 2016 y 2017 tuvo lugar la CASP12, para la cual este autor y el grupo al que pertenece fueron asesores en la vía principal de la competición, enfocada en la predicción de estructuras terciarias para *targets* difíciles. En lo que sigue se describen las cuestiones más interesantes derivadas de esta experiencia, mientras que el lector puede acudir a las publicaciones principales [2,3] (*open access*) para obtener todos los detalles.

Estado del arte del modelado de proteínas con dominios clasificados como difíciles en CASP12

Normalmente, los *targets* disponibles en cada CASP se fraccionan en unidades de evaluación según varios criterios basados en métricas automáticas y en el análisis visual de las estructuras del *target*, de los posibles moldes (“*templates*”) disponibles en el *Protein Data Bank*, e inclusive de los modelos suministrados por los predictores. Las unidades de evaluación luego se clasifican de acuerdo a su dificultad; en CASP12 las clases fueron TBM, por “*template-based modeling*” (las cuales deberían ser fáciles de predecir ya que existen buenos moldes en el *Protein Data Bank*), FM por “*free modeling*” (significando que no hay moldes obvios, y FM/TBM que agrupa las unidades de evaluación para las cuales hay moldes similares ya sea a nivel de estructura o de secuencia, pero no ambas, o para las cuales a pesar de existir buenos moldes, las predicciones son de mediana calidad. En total, en CASP12 hubo 39 unidades de evaluación clasificadas como TBM, 19 como FM/TBM, y 38 como FM [2]. Las unidades FM y FM/TBM fueron evaluadas por un grupo de asesores que incluyó a este autor, donde el objetivo principal es determinar primero la calidad del plegamiento general y, en el caso de modelos que capturan el plegamiento muy bien, evaluar detalles más finos [3]. Las unidades de evaluación TBM son sujetas a análisis distintos que se enfocan específicamente en detalles, a cargo de otros asesores[4].

Las unidades de evaluación de CASP12 estuvieron entre los más difíciles en la historia de la CASP [2]. Para muchas no existen estructuras de proteínas homólogas en el *Protein Data Bank* (que los predictores pudieran utilizar para modelarlas); mientras que en algunos casos existen proteínas de plegamiento similar pero logrado mediante una secuencia totalmente distinta, lo cual dificultó a los predictores encontrarlas mediante búsquedas a nivel de secuencias. Fue reconfortante observar que para muchas de estas unidades de evaluación difíciles, hubo al menos un modelo de muy buena calidad. De hecho, anticipando un análisis del progreso en CASP, esta fue una ronda muy satisfactoria con un incremento importante en la calidad global de las predicciones respecto a ediciones previas.

Ejemplos de predicciones en CASP12

En CASP12 se utilizaron varios *scores* para evaluar objetivamente los modelos y guiar la evaluación visual por parte de los asesores, que es siempre esencial. El más importante de estos *scores* es el llamado GDTTS, por *Global Distance Test-Total Score*, que mide la fracción de residuos del modelo que pueden ser alineados (a nivel de su carbono alfa) con los correspondientes residuos en la estructura *target* dentro de los 1, 2, 4 y 8 Å. De esta forma, GDTTS captura tanto características globales del plegamiento como detalles finos, adoptando valores de ~10-20 para modelos totalmente incompatibles con el *target* hasta 100 para modelos cuyos residuos encajan todos perfectamente dentro de 1 Å de distancia del *target*, es decir esencialmente idénticos al *target*.

A continuación se describen brevemente los resultados para 6 unidades de evaluación interesantes, representativas de algunos de los casos encontrados. El lector interesado puede consultar el artículo oficial de CASP (*open access*) para conocer más detalles sobre la evaluación de modelos para todas las unidades, teniendo en cuenta varios *scores* además de GDTTS [3]. Además, todas las predicciones pueden ser consultadas en 3D interactivo en la siguiente web app [5,6] introducida en CASP12 para

facilitar la evaluación y abrirla a la comunidad en forma transparente:
http://predictioncenter.org/casp12/FM_assessors_app.html

T0866 (Figura 1A) es un caso de un *target* difícil para el cual muchos grupos de predictores produjeron buenos modelos. T0866 es un homohexámero del cual esta vía de la CASP sólo evaluó el monómero (otra vía se encargó de evaluar oligómeros), que constituye una sola unidad de evaluación. Comparado con los mejores posibles templates disponibles en el *Protein Data Bank*, el *target* tiene un plegamiento que guarda ciertas semejanzas, pero con numerosas inserciones y deleciones de tamaño importante. A pesar de ser un *target* difícil, la distribución de GDTTS muestra alrededor de 90 modelos con GDTTS entre ~70 y 81, es decir muy buenos. Los varios modelos de GDTTS > 80 son todos bastante parecidos entre ellos, capturando muy bien el corazón globular y mostrando diferencias entre sí y con el *target* principalmente en un bucle de unos 10 residuos. Debido al gran número de buenos modelos, no parece surgir ningún “ganador” claro para T0866.

Posibles razones del éxito en el modelado de T0866 incluyen la presencia de múltiples moldes, aunque todos con numerosas inserciones y baja similitud de secuencia. Pero además, se advierte para este *target* un gran número de secuencias homólogas que permitieron a algunos predictores aplicar una nueva serie de métodos útiles para la predicción de estructuras, basados en predecir contactos entre pares de residuos a partir de sus velocidades de coevolución. De hecho, una ejecución “naïve” (es decir sin ninguna intervención ni optimización) de la secuencia de este *target* en el servidor EVFold [7,8] para modelado de proteínas mediante contactos predichos por coevolución, resulta en un modelo con GDTTS de 39.7, es decir en el medio de la distribución de GDTTS de los modelos provistos por los predictores. Tal modelo es de calidad suficiente como para capturar la forma global del *target* (Figura 4).

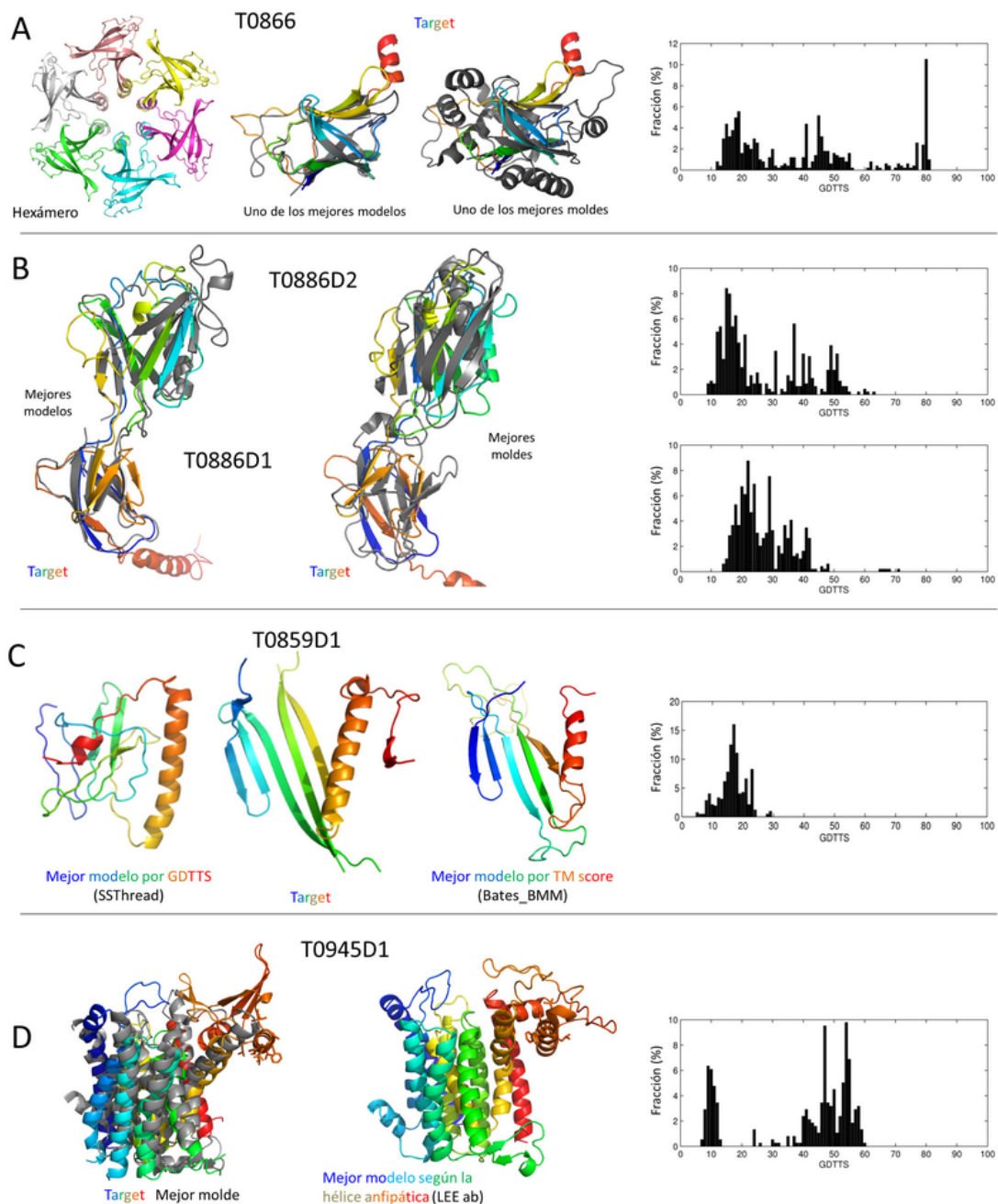


Figura 1: Resultados para las unidades de evaluación T0866 (A), T0886D1 y D2 (B), T0859(C) y T0945 (D). Para cada una se muestra la estructura target, los mejores modelos, los mejores moldes en los casos relevantes, y un histograma de los valores de GDTTS para todos los modelos enviados por los predictores.

T0886 (Figura 1B) es otro caso difícil, ejemplo de aquellos donde un grupo se destaca en especial. T0886 se evaluó como dos unidades, T0886D1 y T0886D2. La primera es discontinua en secuencia, es decir que está formada por dos segmentos de la secuencia separados entre sí por un segmento que corresponde a la segunda unidad.

Para T0886D1, las 5 predicciones del grupo de Baker tienen GDTTS entre 65 y 71, mostrando buena similitud global del plegamiento al compararlos con el *target*. Todos los otros modelos tienen GDTTS menor a 50, indicando que los modelos del grupo de Baker son sustancialmente mejores. Notablemente, los modelos de Baker capturan bien la discontinuidad de secuencia, lo cual ellos lograron mediante predicción de contactos a partir de medidas de coevolución en un gran alineamiento. Tal predicción de contactos muestra claramente una organización con un dominio discontinuo, que permitió al grupo de Baker encontrar buenos moldes de proteínas que tenían un plegamiento similar pero logrado mediante segmentos continuos de secuencia.

También para T0886D2, los 5 modelos del grupo de Baker fueron los mejores, aunque en este caso los modelos propuestos por otros grupos no estaban tan lejos en calidad.

T0859 (Figura 1C) es un ejemplo de un *target* con predicciones de mediana calidad. La dificultad en este *target* surge de que a pesar de existir en el Protein Data Bank una estructura similar, esta no guarda ninguna semejanza con el *target* al nivel de secuencia, con lo cual resultó prácticamente imposible para los predictores encontrarla, salvo para el grupo de Bates. Es importante que en este caso, búsquedas en base de datos de secuencias no encuentren otras secuencias con las cuales los predictores pudieran armar alineamientos para poder avanzar el modelado, como si fue el caso para T0866 y T0886 descritos arriba.

Los mejores modelos para T0859 resultan los de Bates, basados en el molde de estructura similar, y los del grupo SSThread. Ambos capturan la segregación de una alfa hélice respecto a una hoja beta, necesaria para un cambio de dominio que se verifica en el ensamblado biológico tanto del *target* como del modelo. Sin embargo, varios detalles inclusive el registro de las hojas beta son incorrectos, con lo cual todos los scores usados son relativamente bajos.

T0945 (Figura 1D) es una proteína de membrana que consiste en una sola unidad de evaluación, del tipo FM/TBM. La distribución de GDTTS muestra un grupo de predicciones razonables a buenas con GDTTS entre 40 y 60. Los modelos con GDTTS cercano a 60 muestran una muy buena región transmembrana, excepto en un pequeño bucle y en una inserción de unos 80 residuos. Esta última forma en el *target* una pequeña hoja beta con una alfa hélice anfipática que, dada su disposición, muy probablemente se recuesta sobre la superficie de la membrana en ese entorno. La mayoría de los grupos empacaron esta hélice contra el resto de la proteína, escondiendo su región hidrofóbica. Sólo dos grupos (Leey Zhang) propusieron modelos donde la hélice adopta una posición similar a la observada en el *target*, pero rotada de forma tal de esconder sus aminoácidos hidrofóbicos, con lo cual no capturaron su principal característica.

T0896 (Figura 2) es un ejemplo de aquellos targets para los cuales no hay buenas predicciones, especialmente si consideramos su unidad de evaluación T0896D3. Esta unidad es de la clase FM, ya que no hay proteínas con secuencia ni estructura similar en el Protein Data Bank. Encima, posee 80% de sus residuos en una conformación cristalográficamente definida pero sin estructura secundaria regular, y está dispuesto alrededor de la unidad de evaluación T0896D2. Las predicciones para T0896D3 son todas muy pobres, y de hecho la inspección visual no revela ningún modelo que capture al menos alguna característica gruesa. A su vez, la dificultad en modelar T0896D3 complica el modelado de las unidades T0896D1 y T0896D2, que deberían ser relativamente fáciles ya que existen moldes de secuencia y estructura similares en el *Protein Data Bank*.

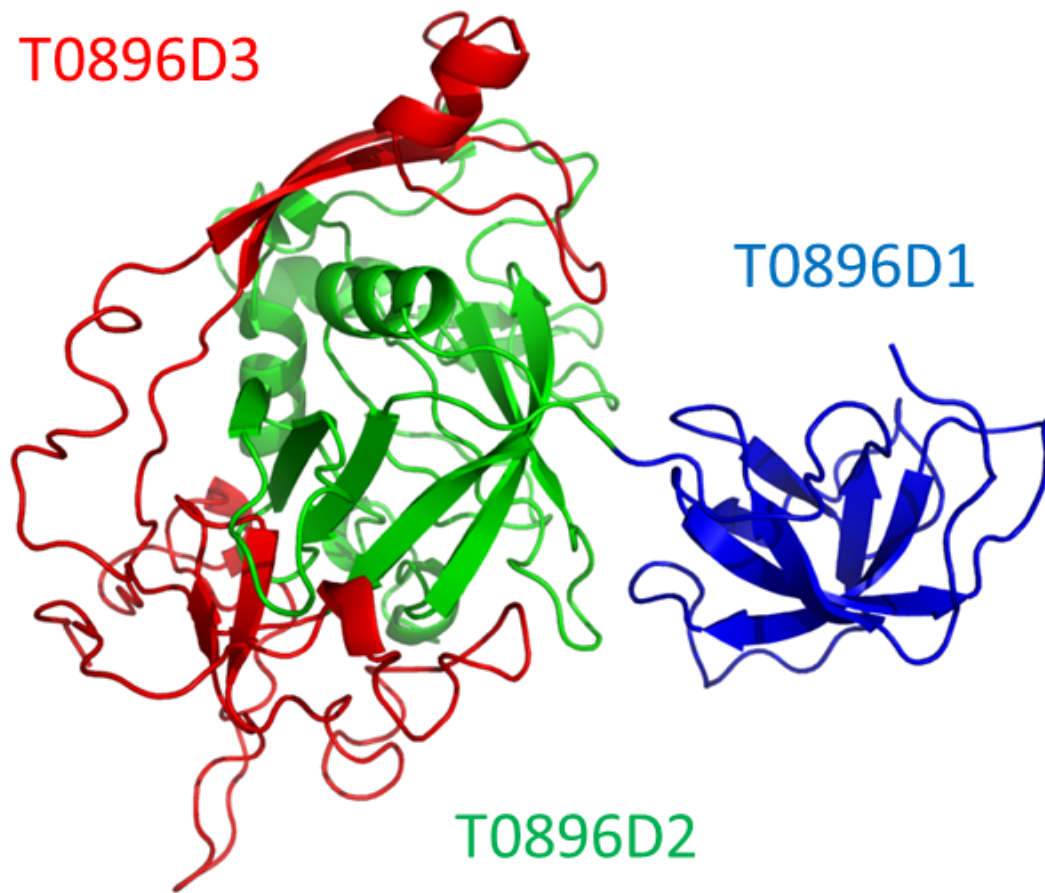


Figura 2: Target T0896, con sus 3 unidades de evaluación en distintos colores. Nótese como T0896D3 contiene una gran porción sin estructura definida (80%) que se envuelve alrededor de T0896D2.

Progreso, razones del progreso, y limitaciones actuales

A pesar de la alta dificultad de muchos *targets* de CASP12, la evaluación de los modelos indicó muchas buenas predicciones, a veces por varios grupos, a veces por grupos específicos. En particular, los grupos de Baker, Lee, Zhang, y el conjunto WeFold, propusieron muchos modelos buenos para varias unidades de evaluación.

Una pregunta importantísima en la comunidad de la CASP es cuanto progreso se observa realmente en función del tiempo. Esta es una pregunta compleja porque depende de la dificultad de los targets presentes en cada edición, de la cantidad de información y moldes disponibles para ellos, e inclusive de algunas cuestiones subjetivas sobre la evaluación de las unidades de evaluación e inclusive sobre su definición. Una primera aproximación utilizando los scores GDTTS de los mejores modelos contribuidos en cada CASP, promediados como la mediana con su desviación en la Figura 3A, muestra que entre CASP1 y CASP5 hubo una rápida mejora en los métodos de modelado de proteínas, seguido de una situación estable hasta CASP11 y luego un pequeño salto positivo de CASP11 a CASP12. Esto es interesante y sugiere que los métodos han evolucionado y/o incorporado nuevas fuentes de datos.

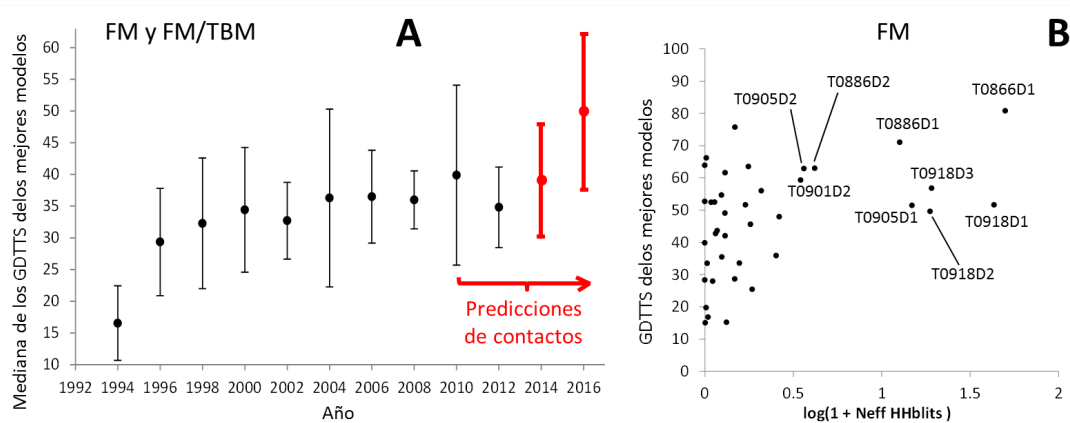


Figura 3: (A) Progreso en CASP, medido como la mediana de los valores de GDTTS de los mejores modelos para todas las unidades de evaluación difíciles (FM y FM/TBM). Las barras rojas indican las 2 últimas ediciones de CASP (11 y 12). (B) GDTTS del mejor modelo para cada unidad de evaluación, graficado contra el número de secuencias obtenidas con HHblits para cada unidad normalizada por su largo en número de residuos (Neff, graficado como el logaritmo desplazado en 1).

Como se mostró en algunos casos y se puede explorar en más detalle en el artículo original de la evaluación de CASP12 así como en literatura reciente, los métodos y grupos predictores más modernos están incorporando predicciones de contactos entre residuos para asistir sus predicciones de estructuras (Figura 4 ejemplificando con el *target* T0866). Estos métodos se basan principalmente en cálculos de coevolución de todos los pares de residuos posibles en una dada secuencia. Básicamente, la idea subyacente es que pares de residuos que están en contacto en la estructura tridimensional deben sufrir sustituciones en forma correlacionada durante la evolución, de forma tal de preservar su interacción. Entonces, dado un alineamiento, estos métodos descomponen las sustituciones de aminoácidos en cada posición de la secuencia y calculan cuánto co-evolucionan todos los pares de residuos. En CASP12 observamos que entre las unidades de evaluación más difíciles (FM), aquellas para las cuales se pueden armar alineamientos más profundos (es decir con más secuencias por residuo) logran obtener mejores modelos (Figura 3B). No es así para las unidades de evaluación clasificadas como FM/TBM y TBM, donde probablemente los grupos y programas predictores prefirieron utilizar métodos más convencionales basados en modelado por homología. En resumen, esto indica que en el estado del arte, para proteínas para las cuales no hay otras homólogas de estructura conocida, es todavía posible derivar modelos razonables mediante predicciones de contacto, al menos si es posible encontrar un número suficiente de secuencias homólogas. Esto abre una nueva puerta en el mundo del modelado de proteínas, que se ampliará a medida que los proyectos de secuenciación permitan armar alineamientos más grandes y a medida que los métodos de predicción de contacto mejoren (al respecto, el lector puede también referirse al artículo que evaluó predicciones de contactos en CASP12 [9]).

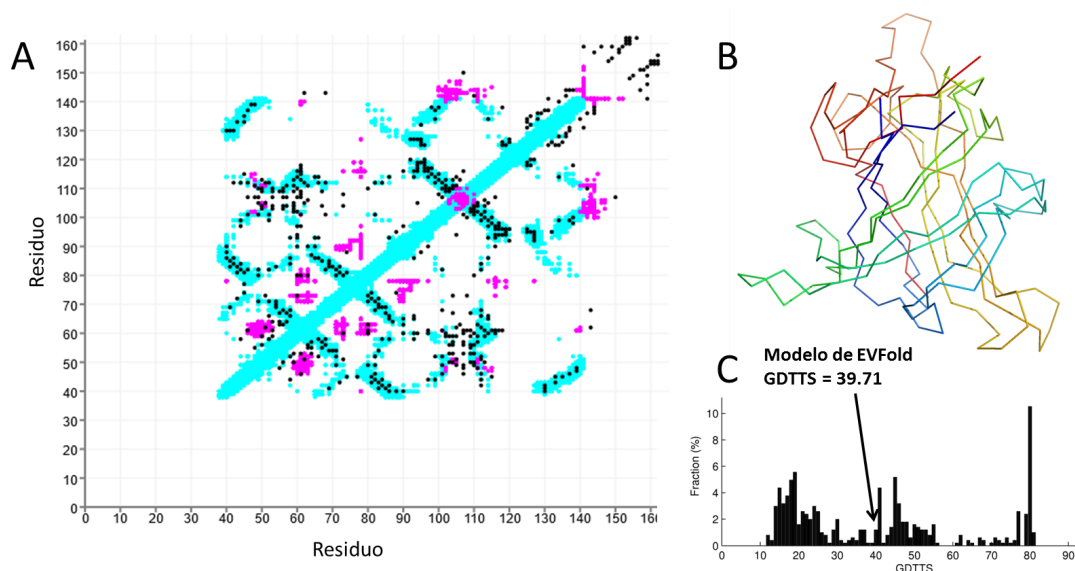


Figura 4: (A) Mapa de contactos entre residuos calculado a partir de la estructura cristalográfica del target T0866D1 dentro del monómero (celeste) y entre monómeros adyacentes (magenta), sobre el cual se marcan los residuos predichos en contacto por EVFold desde medidas de coevolución. (B) El modelo calculado por EVFold para T0866 a partir de los contactos predichos, alineado en 3D con la estructura conocida. (C) Distribución de valores de GDTTS para todos los modelos provistos por predictores para T0866D1, con una flecha que indica donde cae la predicción “naïve” de EVFold.

Limitaciones actuales

El análisis de las predicciones permitió también determinar cuáles son algunos de los problemas importantes, que ni métodos automatizados ni humanos expertos pudieron resolver.

Proteínas de más de 150 residuos son muy difíciles de modelar cuando no existen homólogos de estructura conocida para usarlos como molde ni suficientes secuencias como para predecir contactos en forma confiable. Por el contrario, varias proteínas de menos de 125 residuos pudieron ser predichas al menos globalmente, aun en casos donde no había homólogos de estructura conocida y unas pocas secuencias para predecir contactos.

Un problema recurrente es la existencia de homólogos estructurales sin similitud de secuencia, de forma tal que el molde pasa inadvertido y dificultando el modelado del *target*, como en T0859. La futura introducción de nuevos métodos para detectar similitud de secuencias, por ejemplo comparando propiedades fisicoquímicas [10], seguramente ayudará en este aspecto. También, algunos grupos utilizaron en CASP12 predicciones de contactos desde secuencias para derivar modelos de topología que permitieran encontrar moldes adecuados, y luego modelar el *target* en base al molde encontrado [11]. Por otro lado, aún en casos donde es posible encontrar moldes, resulta claro que eliminar inserciones del modelo respecto al *target* es mayormente satisfactoria, pero lo contrario, es decir la inserción de fragmentos del *target* inexistentes en el molde, suele resultar dificultosa. Otro problema es la falta de secuencias suficientes no sólo para calcular contactos entre residuos sino también para poder encontrar homólogos de estructura conocida pero poca similitud de secuencia.

Desde el punto de vista de las estructuras, problemas importantes son la existencia de “domain swaps”, es decir segmentos de secuencia que se intercambian con dominios adyacentes; bucles largos y dominios con un gran número de residuos sin adoptar una estructura secundaria, los cuales complican también el modelado de dominios adyacentes como en T0896; también dominios discontinuos como en T0886 descrito arriba. La oligomerización en algunos casos complica el modelado; y en proteínas de membrana, si bien los métodos son medianamente confiables para el corazón transmembrana, cuestiones detalladas como la hélice anfipática de T0945 son complicadas.

Conclusiones

La *Critical Assessment of Structure Prediction* (CASP), con su edición bianual número 12 recién terminada, provee a la comunidad de desarrolladores y usuarios de métodos de modelado de proteínas una evaluación constante del estado del arte. Esta última edición reveló una mejora importante en el modelado de sistemas difíciles, en gran parte debida a la introducción de métodos para la predicción de contactos entre residuos, que sirven para definir dominios, asistir la búsqueda de moldes, y en algunos casos directamente modelar la estructura. Las próximas ediciones de CASP mostrarán si estos métodos pueden mejorar aún más; probablemente lo hagan, pero además, la ampliación de las bases de datos de secuencias seguramente permitirá ampliar la aplicación de estos métodos a más proteínas.

Referencias:

1. Bourne PE (2003) CASP and CAFASP experiments and their findings. *Methods of Biochemical Analysis* 44: 501–507
2. Abriata LA et al (2017) Definition and classification of evaluation units for tertiary structure prediction in CASP12 facilitated through semi-automated metrics. *Proteins* DOI: 10.1002/prot.25403
3. Abriata LA et al Assessment of hard target modeling in CASP12 reveals an emerging role of alignment-based contact prediction methods. *Proteins: Structure Function and Bioinformatics*. DOI: 10.1002/prot.25423

4. **Kryshtafovych A et al** (2017) Evaluation of the template-based modeling in CASP12. *Proteins* DOI: 10.1002/prot.25425
5. **Abriata LA** (2017) Web Apps Come of Age for Molecular Sciences. *Informatics* 4,
6. **Abriata LA et al** (2017) Augmenting research, education and outreach with client-side web programming. *Trends in Biotechnology* DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.11.009>
7. **Marks DS et al** (2012) Protein structure prediction from sequence variation. *Nature Biotechnology* 30: 1072–1080
8. **Marks DS et al** (2011) Protein 3D structure computed from evolutionary sequence variation. *PLoS One* 6, e28766
9. **Schaarschmidt J et al** (2017) Assessment of contact predictions in CASP12: co-evolution and deep learning coming of age. *Proteins* DOI: 10.1002/prot.25407
10. **He Y et al** (2015) Alternative approach to protein structure prediction based on sequential similarity of physical properties. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112: 5029–5032
11. **Ovchinnikov S et al** (2017) Protein structure prediction using Rosetta in CASP12. *Proteins* DOI: 10.1002/prot.25390



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 1, año 17, Abril 2018

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de la Uva de Mar (*Coccoloba uvifera*)

Rafael MJ. Mex-Álvarez, Patricia M. Garma-Quen, María G. Maldonado-Velázquez, Francisco J. Aguirre-Crespo, Francisca M. Pantoja-Bolio y Yolanda G. Núñez-Pinto

Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Campeche. México

rafammex@uacam.mx

Recibido: 25/05/2017 - Aceptado: 16/01/2018

[Versión para imprimir](#) 

Resumen

Coccoloba uvifera, conocida comúnmente como uva de mar, es una planta perteneciente a la familia *Polygonaceae* que es conocida por sus propiedades medicinales y la producción de compuestos fenólicos; estos metabolitos secundarios son de interés farmacológico e industrial porque poseen actividad antioxidante por distintos y variados mecanismos como la neutralización de especies reactivas de oxígenos, reducción de radicales libres y de iones metálicos. El propósito de este trabajo de investigación fue determinar el contenido de compuestos fenólicos (fenoles totales, taninos y flavonoides) en tres partes vegetales (hoja, cáscara-pulpa, semilla) de *C. uvifera*, además de su actividad antioxidante. Los ejemplares de la planta se colectaron en la costa del municipio de Champotón (Estado de Campeche, México) y se extrajo por maceración empleando dos disolventes (metanol y acetona); se determinó la cantidad de fenoles totales, taninos totales, taninos condensados y flavonoides totales en cada uno de los extractos obtenidos y su actividad antioxidante por los métodos de inhibición del DPPH, reducción del H₂O₂ y poder reductor de iones férrico (FRAP). Se encontró un mayor contenido de polifenoles en los extractos de la semilla que se correlaciona bien con su actividad antioxidante. Todos los extractos mostraron actividad antioxidante en todos los métodos, pero tuvieron un mejor FRAP comparado con la capacidad de reducir al H₂O₂. Los resultados obtenidos demuestran que la semilla de *C. uvifera* es una fuente importante de compuestos fenólicos.

Palabras clave: actividad reductora, radicales libres, taninos

Summary

Polyphenol content and antioxidant activity of *Coccoloba uvifera*

Coccoloba uvifera, commonly known as sea grape, is a plant belonging to the family *Polygonaceae* that is known for its medicinal properties and the production of phenolic compounds; these secondary metabolites are of pharmacological and industrial interest because they possess antioxidant activity by different and varied mechanisms such as the neutralization of reactive species of oxygen, scavenging of free radicals and metal ions. The purpose of this research was to determine the content of phenolic compounds (total phenolic compounds, tannins and flavonoids) in three plant parts (leaf, husk-pulp, seed) of *C. uvifera*, in addition to its antioxidant activity. The specimens of the plant were collected on the coast of the municipality of Champoton (Campeche State, Mexico) and extracted by maceration using two solvents (methanol and acetone); the amount of total phenolic compounds, total tannins and total flavonoid content and condensed tannins and in each of the extracts obtained and their antioxidant activity were determined by the methods of DPPH radical scavenging, Hydrogen Peroxide Radical Scavenging and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP). It was found a higher content of polyphenols in the seed extracts than in the other extracts, which correlates well with their antioxidant activity. All

extracts showed antioxidant activity in all methods, but had a better FRAP compared to the ability to reduce H₂O₂. The results obtained demonstrate that the *C. uvifera* seed is an important source of phenolic compounds.

Keywords: reducing activity, free radicals, tannins

Introducción

El género *Coccoloba* pertenece a la familia *Polygonaceae* y contiene cerca de 400 especies de plantas herbáceas y arbóreas distribuidas desde el sur de los Estados Unidos y México hasta América del Sur, incluido el Caribe [1-3]. Las especies del género se emplean en etnomedicina para el tratamiento de insomnio, estrés, pérdida de memoria; los extractos de raíces y hojas se consumen como tintura o en infusiones; además se usan como cicatrizantes o para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Actualmente existen pocos estudios científicos sobre las especies del género *Coccoloba*, en la literatura científica se encuentran reportes de su actividad citotóxica, hipoglucemiante y antimicrobiana [1,4-7]. En este género destaca *Coccoloba uvifera*, conocida comúnmente como uva de mar que es una planta tropical que crece en suelos arenosos y rocosos de las costas de América e islas del Caribe y la cual se usa como ornato en parques y avenidas, además su fruto es comestible y en medicina tradicional se emplea para el tratamiento de lesiones en la piel y la mucosa oral por sus propiedades cicatrizantes [1-3,8].

Entre los metabolitos reportados para el género *Coccoloba* destacan los polifenoles, estos metabolitos secundarios presentan una gran diversidad de actividades biológicas derivada de su propiedad antioxidante; los compuestos polifenólicos se dividen en grupos de acuerdo a su estructura química destacando los flavonoides y taninos porque estos metabolitos presentan actividades biológicas de interés al contrarrestar los efectos nocivos del estrés oxidativo [8-10]. La generación de especies reactivas de oxígeno y su falta de control genera el estrés oxidativo que daña a biomoléculas (lípidos, proteínas y ácidos nucleicos) y está implicado en el desarrollo de distintas patologías como el cáncer, Alzheimer, Parkinson, aterosclerosis, accidentes cerebrovasculares y envejecimiento prematuro; además de complicar enfermedades cardiovasculares y la diabetes [8-10]. Los polifenoles por sus propiedades antioxidantes son capaces de inhibir los fenómenos oxidativos que dañan a las biomoléculas y pueden contribuir a la salud humana y animal al suministrarse en la dieta [8-12]. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue cuantificar el contenido de polifenoles y evaluar la actividad antioxidante de extractos metanólicos y acetónicos de la hoja, pulpa y semilla de la uva de mar que crece en el municipio de Champotón del Estado de Campeche (México) para conocer su potencial farmacológico y contribuir al conocimiento químico de una especie poco estudiada en la actualidad.

Materiales y métodos

Material biológico y químico.

La muestra de Uva de mar (*Coccoloba uvifera*) se recolectó en la Ciudad de Champotón en el Estado de Campeche México durante el mes de octubre del 2016 y se transportó al laboratorio para eliminar cualquier impureza mecánica; la planta fue identificada en el Herbario del Centro de Investigaciones Históricas y Sociales de la Universidad Autónoma de Campeche. La cáscara y la pulpa de los frutos de la uva de mar se separaron de las semillas antes del secado. Las muestras vegetales (hojas, cáscara-pulpa y semilla) se secaron en estufa a 50°C; posteriormente se realizó la extracción del material biológico por maceración con dos disolventes diferentes (metanol y propanona) durante 48 horas a temperatura ambiente. Los extractos se concentraron a seco en un rotaevaporador equipado con baño María a 40°C y se determinó la cantidad de extracto obtenido por gravimetría. Los extractos secos se suspendieron en etanol absoluto ajustándose las concentraciones de los extractos a 1000 ppm (1000mg de extracto vegetal crudo/1L de disolvente); los extractos resuspendidos se conservaron en refrigeración a 4° C. Todos los reactivos químicos empleados en este trabajo fueron grado analítico y se adquirieron de la compañía Sigma-Aldrich Company.

Cuantificación de compuestos polifenólicos totales [12].

Se empleó el método de Folin-Ciocalteu para la determinación de polifenoles totales, se adicionó 100µL del extracto a 1000µL de agua en un tubo de ensayo y luego se añadió 100µL del reactivo de Folin-Ciocalteu, se dejó reaccionar durante 30 minutos y posteriormente se adicionó 500µL de Na₂CO₃ 20%, se incubó a temperatura ambiente durante 90 minutos. Finalmente se leyó en un espectrofotómetro a 760 nm. Se realizó una curva de calibración con ácido gálico para determinar la concentración de polifenoles presentes en cada extracto.

Cuantificación de taninos totales [13].

Se preparó el reactivo de gelatina para la precipitación de taninos mezclando en un matraz volumétrico 5 mL de la solución de gelatina al 10% y 10 mL de solución de NaCl 10% en HCl 1%; se agitó bien la mezcla y se aforó a 50 mL con agua destilada, se dejó en reposo la mezcla por 30 minutos para dejar sedimentar los sólidos insolubles, posteriormente se filtró la mezcla y la solución filtrada se empleó como reactivo para el análisis de taninos totales. Se mezcló 500µL del extracto con 500µL del reactivo de gelatina y se incubó por 30 minutos a baño maría a 37°C, posteriormente se centrifugó a 5000 rpm durante 10 minutos y se tomaron 500µL del sobrenadante para la determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu (100µL del reactivo de Folin-Ciocalteu sin adición de agua destilada y 500µL de Na₂CO₃ 20%).

Cuantificación de taninos condensados [14].

Se mezcló 100mL del extracto con 2mL del reactivo de vainillina HCl (que se prepara al mezclar cantidades iguales de HCl 10% y vainillina 1% en metanol), se deja reaccionar y se mide la absorbancia después de 20 minutos a 500 nm. Se realizó una curva de calibración empleando catequina como estándar y los resultados se expresan como equivalente de catequina en mg por gramo de extracto.

Cuantificación de flavonoides totales [12].

Se determinó por el método colorimétrico del cloruro de aluminio. Se transfirió a un tubo de ensayo 1,0 mL de agua destilada y se añadieron 100µL de extracto y 100µL de NaNO₂ 5%, se mezcló y se dejó reaccionar 5 minutos, luego se añadió 100µL de AlCl₃ 10%, se homogenizó y se dejó reaccionar otros 5 minutos, finalmente se añadieron 100µL de NaOH 1,0 M y se leyó la absorbancia a 510 nm. Para calcular la concentración de los flavonoides se realizó una curva de calibración empleando quercitina como estándar. La concentración se expresa como mg equivalentes de quercitina/ gramo de extracto.

Actividad neutralizante de radicales libres (Método del DPPH) [14]

Se mezclaron 2,0 mL de una solución de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo. 150µM en metanol) y 100µL de extracto en tubos de ensayo, luego se incubó la mezcla de reacción en un lugar oscuro y a temperatura ambiente durante 30 minutos. Posterior al período de incubación se verificó que los tubos contuvieran radical DPPH (presencia de color morado) y se leyeron las soluciones en un espectrofotómetro a 520 nm ajustando a cero de absorbancia con metanol; también se leyó la absorbancia de la mezcla de 2,0 mL de la solución de DPPH con 100µL de metanol. Se empleó ácido gálico, disuelto en etanol, como solución estándar.

Actividad reductora de peróxido de hidrógeno [15,16]

Se empleó el método de la peroxidasa para determinar la concentración de peróxido de hidrógeno remanente; se mezcló en un tubo de ensayo 500µL del extracto con 500µL de una solución de H₂O₂ 700µM, se dejó incubar 30 minutos a 37°C en baño maría; terminado el tiempo de reacción se transfirieron 100µL de la mezcla a un tubo de ensayo que contenía el reactivo generador de color [Fenol 12mM, 4-aminoantipirina 0,5mM, peroxidasa de rábano picante 1,0 U/mL en solución buffer de fosfato (PBS) 84 mM pH=7,0], se mezcló y se dejó en incubación a 37°C por 30 minutos, se midió la

absorbancia a 504nm ajustando a cero de absorbancia con PBS; se corrigió la interferencia en la lectura usando todos los reactivos pero reemplazando el fenol por PBS, la absorbancia obtenida se restó a la absorbancia original.

Poder antioxidante reductor de ion férrico (FRAP) [17].

Se emplearon diferentes concentraciones de los extractos (de 50 a 200 ppm). Se mezclaron 100 µL del extracto con 2,5 mL de solución tampón de fosfatos (0,2M, pH=6.6) y se adicionó 2,5 mL de solución de ferricianuro de potasio [K₃Fe (CN)₆] al 1%; se incubó la mezcla a 50°C por 20 minutos; luego se adicionaron 2,5 mL de ácido tricloroacético al 10% y se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 min. Se tomaron 2,5 mL del sobrenadante y se adicionaron 2,5 mL de agua destilada y 500 µL de cloruro férrico al 1%. Finalmente se midió la absorbancia de cada mezcla en un espectrofotómetro a 700 nm.

Análisis estadístico [18].

Todos los ensayos se realizaron por triplicados y se expresan como la media ± desviación estándar. El análisis estadístico se realizó con la ayuda del programa computacional SPSS 22.0, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de comparación de medias de Tukey con un nivel de significancia del 95% (p≤0,05) para establecer diferencias estadísticas entre las diferentes muestras por su contenido de polifenoles o su actividad antioxidantes, el análisis de correlación se realizó mediante la prueba de Pearson.

Resultados

En total se obtuvieron seis extractos de *Coccoloba uvifera*, porque se emplearon dos disolventes y tres partes vegetales (Tabla I), los frutos se separaron en la cáscara y pulpa que se secaron juntos y se obtuvo un extracto de este material biológico, también se extrajo la semilla y la hoja.

Tabla I: Claves asignadas a cada extracto de las partes vegetales de *Coccoloba uvifera* estudiadas, obtenidas por maceración.

Clave	Parte Vegetal	Disolvente empleado
UHM	Hoja	Metanol
UHA	Hoja	Acetona
UCM	Cáscara y pulpa	Metanol
UCA	Cáscara y pulpa	Acetona
USM	Semilla	Metanol
USA	Semilla	Acetona

El contenido de compuestos fenólicos de los seis extractos estudiados de *C. uvifera* se reporta en la Tabla 2, los extractos de la semilla de *C. uvifera* tanto metanólico como acetónico mostraron la mayor cantidad de compuestos fenólicos (688,74 y 600,86 mg de ácido gálico/ g de extracto, respectivamente). En general el metanol y la acetona extrajeron cantidades similares de polifenoles, a excepción de los extractos obtenidos de la hoja donde la acetona extrajo una mayor cantidad de flavonoides (148,02 mg de quercitina/g de extracto) y el metanol una mayor cantidad de taninos (161,11mg de catequina/ g de extracto).

Tabla II: Concentración de Compuestos fenólicos en los extractos de *Coccoloba uvifera*

Extracto	Fenoles totales	Taninos totales	Taninos condensados	Flavonoides
UHM	239,61±4,76a	161,11±2,84a	7,82±0,59a	71,24±1,06a

UHA	224,45±6,63b	27,95±7,31b	9,33±0,84a	148,02±1,34b
UCM	102,56±1,65c	53,14±3,18c	1,5±0,10b	29,59±0,30c
UCA	186,21±7,82d	57,22±3,29d	4,17±0,26c	46,63±0,58d
USM	688,74±8,16e	477,52±7,48e	61,37±0,49d	59,8±0,59e
USA	600,86±5,78f	427,19±3,93f	37,56±0,62e	71,54±1,12a

Resultados expresados como el promedio \pm una desviación estándar ($X \pm S$, $n=3$) letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas; los valores representan mg de la sustancia de referencia/ g de extracto: ácido gálico para fenoles totales y taninos totales, catequina para taninos condensados y quercetina para flavonoides.

Los resultados de la actividad antioxidante se reportan en la Tabla 3, se puede observar que todos los extractos mostraron una capacidad de neutralizar el radical libre DPPH, reducir al peróxido de hidrógeno y a los iones férricos. Todos los resultados se reportan en función de la equivalencia de la actividad de ácido gálico empleado como estándar o sustancia de referencia. Los extractos obtenidos de la semilla mostraron una mayor actividad, particularmente los obtenidos con metanol como disolvente. En general, todos los extractos redujeron significativamente a los iones férricos y al DPPH más eficientemente que al peróxido de hidrógeno; en este último bioensayo se tuvo la menor actividad antioxidante de los extractos.

Tabla III: Actividad antioxidante de los extractos de *Coccoloba uvifera*.

Extracto	Inhibición del DPPH	Reducción del H_2O_2	FRAP
UHM	136,47±2,78a	124,35±3,75a	274,66±12,29a
UHA	93,41±5,91b	89,51±7,28b	202,83±15,16b
UCM	55,61±1,85c	35,94±1,53c	85,25±2,25c
UCA	110,38±3,31d	43,01±2,87d	177,12±3,97d
USM	515,28±4,58e	331,71±11,14e	595,27±5,96e
USA	242,06±8,25f	194,41±8,91f	323,83±4,59f

Resultados expresados como equivalentes de ácido gálico contenidos en el extracto, se reporta el promedio \pm una desviación estándar ($X \pm S$, $n=3$) letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas.

La actividad antioxidante de los extractos de *C. uvifera* evaluados se explica principalmente por el contenido de taninos, como se puede apreciar en las Figuras 1, 2, 3 y 4; porque en casi todos los extractos son los polifenoles mayoritarios en comparación con los flavonoides. La mayor correlación entre el contenido de taninos y la bioactividad se observó en la reducción del peróxido de hidrógeno, mientras que en la reducción del radical DPPH tuvo los menores valores del coeficiente de correlación.

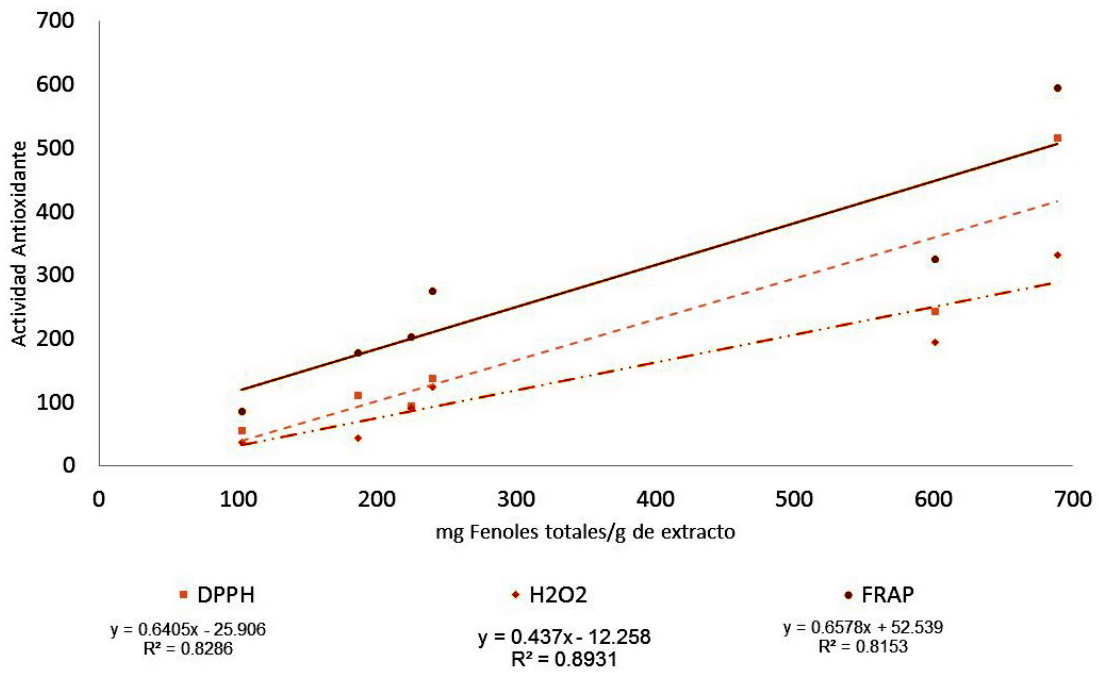


Figura 1: Correlación entre la cantidad de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante de los extractos de *Cocoloba uvifera*

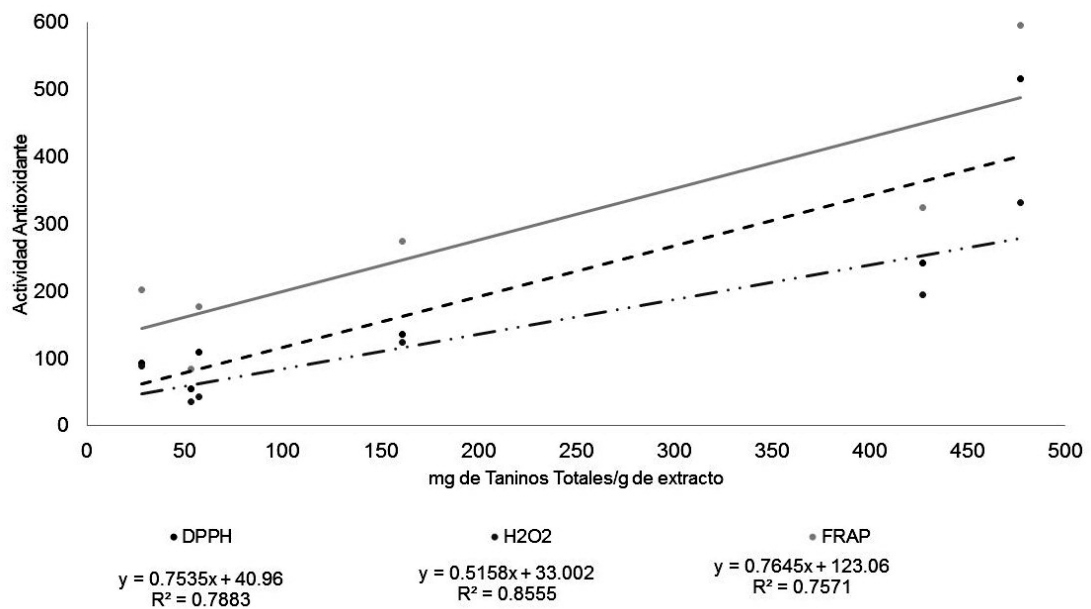


Figura 2: Correlación entre la cantidad de Taninos totales y la actividad antioxidante de los extractos de *Cocoloba uvifera*

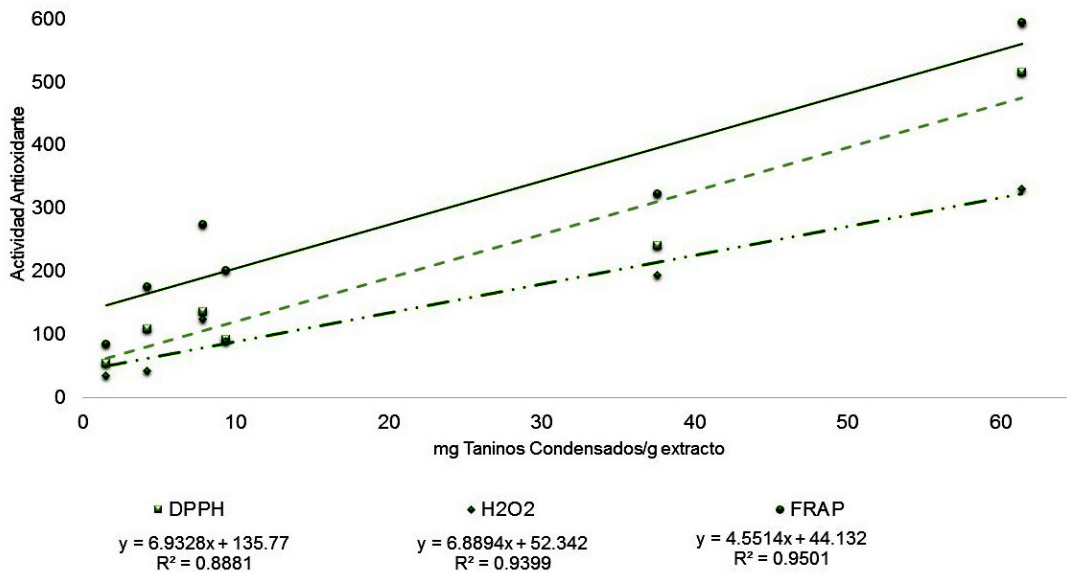


Figura 3: Correlación entre la cantidad de Taninos Condensados y la actividad antioxidante de los extractos de *Cocoloba uvifera*

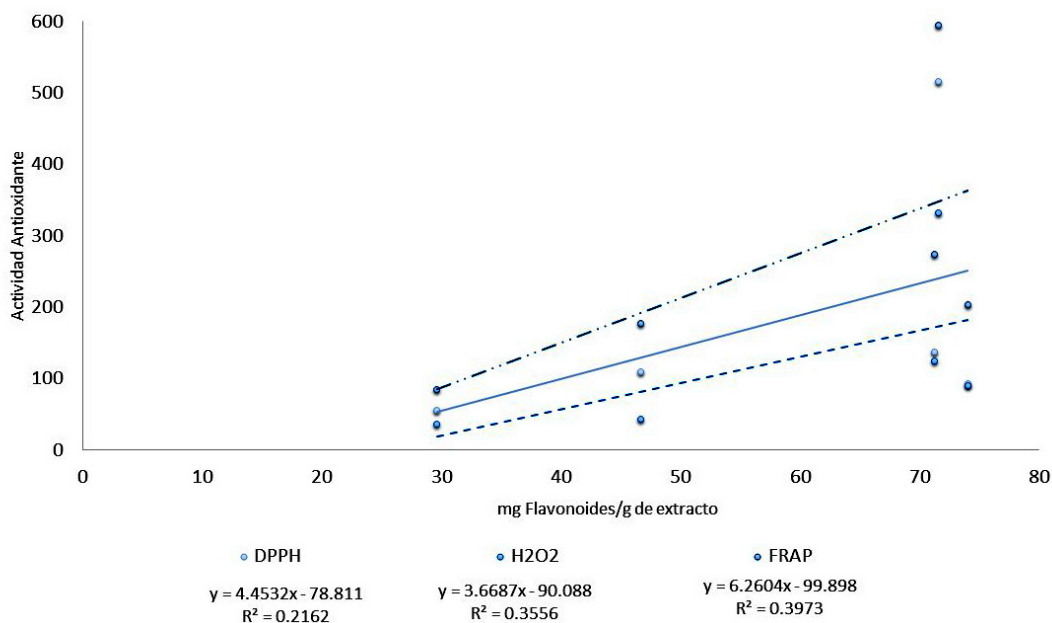


Figura 4: Correlación entre la cantidad de Flavonoides y la actividad antioxidante de los extractos de *Cocoloba uvifera*

Discusión

Según la Organización Mundial de la Salud aproximadamente el 80% de la población mundial usa la medicina alternativa, especialmente la medicina herbolaria para el tratamiento de sus afecciones [19]; este hecho se debe a que las plantas son fuente de metabolitos secundarios de interés biológico, farmacológico e industrial porque contienen una gran diversidad de estructuras químicas y actividad biológica [19-21]. Con el aumento en el estrés oxidativo por diversos factores como la contaminación, mala alimentación y el aumento en el consumo de sustancias tóxicas como el alcohol y cigarro se ha incrementado el número de pacientes que padecen enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo como el cáncer, la enfermedad de Parkinson, el asma, enfermedades cardiovasculares y la diabetes [20-22]. Los compuestos polifenólicos sintetizados por las plantas tienen una actividad antioxidante elevada y por ello sirven para la prevención y el tratamiento de diversas enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo [21,22]; estos compuestos generalmente son inocuos para el ser humano y pueden emplearse en la alimentación y por sus efectos benéficos para la salud humana y animal caracterizan a las plantas que las contienen como alimentos funcionales o para detectar fuentes vegetales potencialmente útiles

como suplementos alimenticios [20,23,24]. La cantidad de los compuestos fenólicos producidos por una determinada especie están determinados por distintos factores entre los que destacan la genética, las condiciones ambientales y la fenología de la plantas que causan variaciones intraespecíficas; pero también hay variación dentro de un mismo individuo por factores genéticos, ontogénicos, bióticos y abióticos; hay factores como la sequía, la poda, la defoliación y el ataque de plagas que causan daños fisiológicos y pueden influir en la cantidad de polifenoles presentes en la planta [21,23].

Los dos grupos principales de polifenoles son los taninos y los flavonoides; los taninos son compuestos fenólicos complejos que están ampliamente distribuidos en las plantas, químicamente se distinguen dos tipos de taninos (los hidrolizables y los condensados), estos compuestos fenólicos presentan actividades antioxidantes pero altas concentraciones de taninos pueden disminuir el valor nutricional de los productos alimentarios porque los taninos forman complejos con proteínas [19,22]. Los flavonoides son una extensa familia de compuestos polifenólicos que poseen diversas bioactividades entre las que destacan la disminución de lipoproteínas sanguíneas, disminución de la glucemia y mejoramiento de las funciones inmunológicas [19]. Debido a la gran variedad de las estructuras químicas de los polifenoles la composición de éstos en un extracto vegetal dependerá del disolvente empleado [19,24,25]; además, la distribución de los metabolitos polifenólicos no es uniforme en los diferentes órganos vegetales y la variación también depende de las diferentes poblaciones de la planta [22]. Los flavonoides poseen diferentes grados de polaridad dependiendo de su estructura química; existen flavonoides que están unidos químicamente con estructuras glicosídicas que los hacen más solubles en disolventes polares y menos solubles en compuestos orgánicos; sin embargo, las agliconas de los flavonoides altamente hidroxiladas son solubles en alcoholes (etanol, metanol y butanol) mientras que los pocos hidroxilados se disuelven mejor en acetato de etilo y acetona [22]. Algunos autores señalan que disolventes de alta polaridad como el agua y el etanol presentan un mejor rendimiento en la obtención de polifenoles en comparación con la acetona y el dietiléter [26]; otros indican que la acetona y el acetato de etilo son buenos disolventes para extraer la mayoría de taninos y otros polifenoles vegetales [24,25] por eso es conveniente emplear diversos disolventes para la extracción de los compuestos polifenólicos, los más usados son el agua, el metanol, el etanol, la acetona y el acetato de etilo; cada uno posee un poder extractor distinto tanto en la cantidad como en la composición de sustancias fenólicas obtenidas [27-30]. En el presente trabajo se estudiaron dos disolventes y tres partes vegetales de *C. uvifera* y se obtuvieron cantidades similares a las reportadas para las especies del género *Coccoloba*, particularmente con los estudios realizados en la misma especie [4,8,10], las semillas presentaron la mayor cantidad de compuestos fenólicos y el extracto metanólico en comparación con el extracto acetónico; en oposición, el extracto acetónico de la cáscara y la pulpa contenía mayor cantidad de polifenoles que el extracto metanólico, asimismo el extracto acetónico de la hoja presentó una mayor cantidad de flavonoides respecto al extracto metanólico.

Para evaluar la actividad antioxidante de un extracto vegetal se recomiendan que se ensayen diferentes métodos porque la diversidad y complejidad de los extractos de plantas es muy grande; se prefieren métodos sencillos, económicos y de fácil acceso y con alta reproducibilidad, entre ellos destaca el método del DPPH que mide la capacidad de los extractos para reducir al radical libre por donación de átomos de hidrógeno, este ensayo es una técnica de decoloración porque el radical DPPH es de color violeta y al reducirse se torna amarillo [21,31]. Uno de los principales problemas que existe en el análisis de los datos de la actividad antioxidante de los extractos de las plantas es la expresión de los resultados, porque se reportan de diversas maneras, por ello en este trabajo se prefirió expresar la actividad antioxidante de los extractos con la actividad antioxidante equivalente de la sustancia empleada como referencia (ácido gálico) aprovechando la capacidad de este polifenol de inhibir al DPPH, reducir al peróxido de hidrógeno y al ión férrico. Los fenoles han recibido mucha atención como antioxidantes por su capacidad de reducir radicales libres y de quelar metales; los compuestos polifenólicos son donadores de hidrógeno y por su propiedad redox son sustancias reductoras [32]; el ensayo del FRAP sirve para determinar la eficacia de los compuestos antioxidantes para reducir el ion férrico a ferroso; esto sirve para suprimir la formación de radicales y prevenir el daño oxidativo; el poder reductor indica

que hay compuestos en los extractos que son donadores de electrones y que pueden actuar como antioxidantes primarios y secundarios; la capacidad de reducir el hierro férrico se puede atribuir a la donación de hidrógenos de los compuestos fenólicos que se relaciona con la presencia de agentes reductores.

Igualmente, debido a que los polifenoles son buenos donadores de electrones pueden acelerar la descomposición del peróxido de hidrógeno a agua previniendo el daño tisular por especies reactivas de oxígeno. El peróxido de hidrógeno no es muy reactivo por sí solo pero puede ser tóxico para las células porque produce radicales hidroxilo que son muy dañinos, por esto es importante remover el peróxido en los sistemas celulares o de los alimentos [33,34]. En general, todos los extractos estudiados mostraron una actividad antioxidante significativa que se relaciona bien con el contenido de polifenoles, esto concuerda con estudios previos que reportan una correlación positiva entre la cantidad de polifenoles presentes en materiales vegetales y su actividad antioxidante medidas por distintos métodos como la neutralización del radical DPPH y la reducción de iones metálicos (FRAP) y especies reactivas de oxígeno (peróxido de hidrógeno) [20, 25,33]. Por ello, los extractos de la semilla de uva de mar mostraron el mayor contenido de polifenoles y la mayor actividad antioxidante; en general, los extractos de las partes vegetales de la uva de mar mostraron una mejor capacidad de reducir al ion férrico que al peróxido de hidrógeno. Los taninos totales y los taninos condensados fueron los metabolitos secundarios que mejor explican la actividad antioxidante de los extractos de *C. uvifera*; la mejor correlación se obtuvo con el ensayo de reducción de peróxido de hidrógeno.

Referencias:

1. **Melo E de** (2004) As espécies de *Coccoloba P. Browne* (Polygonaceae) da Amazônia brasileira. *Acta Amazonica* 34: 525–551.
2. **Vargas-Simón G, Pire R** (2010) Efecto de dos condiciones de almacenamiento en la germinación de semillas de uva de playa (*Coccoloba uvifera* (L.) Jacq.). *Revista de la Facultad de Agronomía LUZ* 27: 559-573.
3. **Madriz R, Ramírez N** (1996) Biología reproductiva de *Coccoloba uvifera* (Polygonaceae) una especie poligamodioica. *Revista de Biología Tropical* 44: 105-115.
4. **Barros IB de, Fidelis QC, Souza Daniel JF de, Pereira Pinto J, GarciaLonni AAS; Silva Ribeiro G, Braz-Filho R, Resende de Araújo N, Trevian Ferreira D** (2010) Toxicity, antioxidant activity and phytochemical characterization of *Coccoloba mollis* roots and leaves. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas* 31: 101-106.
5. **Tsuboy MS, Marcarini JC, Luiz RC, Barros IB, Ferreira DT, Ribeiro LR, Mantovani MS** (2010) In Vitro evaluation of the genotoxic activity and apoptosis induction of the extracts of roots and leaves from the medicinal plant *Coccoloba mollis* (Polygonaceae). *Journal of Medicinal Food* 13: 503-508.
6. **Tsuboy MS, Marcarini JC, Ferreira TD, Anastácio Ferraz ER, Drumond Chequer FM, Palma de Oliveira D, Ribeiro LR, Mantovani MS** (2010) Evaluation of extracts from *Coccoloba mollis* using the *Salmonella*/microsome system and in vivo tests. *Genetics and Molecular Biology* 33: 542-548.
7. **Barros Cota B, Braga de Oliveira A, Souza-Filho JD, Castro Braga F** (2003) Antimicrobial activity and constituents of *Coccoloba acrostichoides*. *Fitoterapia* 74: 729–731.
8. **Lawson-Evi P, Bakoma B, Titrikou Afi H, Ekl-Gadegbéku K, Aklíkoku K, Gbeassor M** (2015) Phytochemical screening, antioxidant and hypoglycemic activity of *Coccoloba uvifera* leaves and *Waltheria indica* roots extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 7: 279-283.
9. **Bezerra de Barros I, Souza Daniel de JF, Pereira Pinto J, Rezende MI, Braz-Filho R, Trevisan Ferreira D** (2011) Phytochemical and antifungal activity of anthraquinones and root and leaf extracts of *Coccoloba mollis* on phytopathogens. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 54: 535-541.
10. **Segura Campos MR, Ruiz Ruiz J, Chel-Guarrero L, Bentacur Ancona D** (2014) *Coccoloba uvifera* (L.) (Polygonaceae) Fruit: Phytochemical Screening and Potential Antioxidant Activity. *Journal of Chemistry* 2015: 1-9.
11. **Peñarrieta JM, Alvarado JA, Bergenstahl B, Åkesson B** (2007) Spectrophotometric methods for the measurement of total phenolic compounds and total flavonoids in foods. *Revista Boliviana de Química* 24: 5-9.
12. **Hajimahmoodi M, Moghaddam G, Ranjbar AM, Khazani H, Sadeghi N, Reza Oveisi M, Jannat B** (2013) Total phenolic, flavonoids, tannin content and antioxidant power of some Iranian pomegranate flower cultivars (*Punicagranatum L.*). *American Journal of Plant Sciences* 4: 1815-1820. DOI: 10.4236/ajps.2013.49223
13. **Velásquez Valderrama AM** (2004) Extracción de taninos presentes en el banano verde. *Revista Lasallista de Investigación* 1: 17-22.
14. **Sáenz-Esqueda MA, Rosales-Castro M, Rocha-Guzmán NE, Gallegos-Infante JA, González-Laredo RF** (2010) Contenido fenólico y acción antioxidante de extractos de acículas de *Pinus cooperi*, *P. durangensis*, *P. engelmannii* y *P. teocote*. *Madera y Bosques* 16: 37-48.
15. **Fernando CD, Soysa P** (2015) Optimized enzymatic colorimetric assay for determination of hydrogen peroxide (H₂O₂) scavenging activity of plant extracts. *MethodsX* 2: 283-91.
16. **Zhou B, Wang J, Guo Z, Tan H, Zhu X** (2006) A simple colorimetric method for determination of hydrogen peroxide in plant tissues. *Plant Growth Regulation* 49:113–118.

17. **Daniel A, Workneh M** (2017) Determination of total phenolic content and antioxidant activities of five different brands of Ethiopian coffee. *International Journal of Food and Nutrition Research* 1: 1-10.
18. **Alves Pontis J, Mendonça Alves LA, Reis da Silva SJ, Flach A** (2014) Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima, Brazil. *Food Science and Technology* 34: 69-73.
19. **Sultana M, Kumar Verma P, Raina R, Prawez S, Dar MA** (2012) Quantitative analysis of total phenolic, flavonoids and tannin contents in acetone and n-hexane extracts of *Ageratum conyzoides*. *International Journal of ChemTech Research* 4: 996-999.
20. **Fattahi S, Zabihi E, Abedian Z, Pourbagher R, Motevalizadeh Ardekani A, Mostafazadeh A, Akhavan-Niaki H** (2014). Total phenolic and flavonoid contents of aqueous extract of stinging nettle and In Vitro antiproliferative effect on hela and BT-474 Cell Lines. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine* 3: 102–107.
21. **Chandra Shekhar T, Anju G** (2014) Antioxidant activity by DPPH radical scavenging method of *Ageratum conyzoides* Linn. Leaves. *American Journal of Ethnomedicine* 1: 244-249.
22. **Pérez-Nájera VC, Lugo-Cervantes EC, Gutiérrez-Lomelí M, Del-Toro-Sánchez CL** (2013) Extracción de compuestos fenólicos de la cáscara de lima (*Citrus limetta* Risso) y determinación de su actividad antioxidante. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud* 15: 18-22.
23. **Pérez-Pérez E, Ettiene G, Marín M, Casassa-Padron A, Silva N, Raga J, González C, Sandoval L, Medina D** (2014) Determinación de fenoles y flavonoides totales en hojas de guayabo (*Psidium guajava* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía LUZ* 31: 60-77.
24. **Sungl SH, Hoon Kim K, Tae Jeon B, Hee Cheong S, Hyun Park J, Hyun Kim D, Kweon HJ, Moon SH** (2012) Antibacterial and antioxidant activities of tannins extracted from agricultural by-products. *Journal of Medicinal Plants Research* 6: 3072-3079.
25. **Pinheiro do Prado AC, Monalise Aragão AF, Roseane Block JM** (2009) Phenolic compounds and antioxidant activity of Pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] kernel cake extracts. *Grasas y aceites* 60: 458-467.
26. **Mladenović KG, Muruzović MŽ, Stefanović OD, Vasić SM, Čomić LR** (2016) Antimicrobial, antioxidant and antibiofilm activity of extracts of *Melilotus officinalis* (L.) Pall. *The Journal of Animal & Plant Sciences* 26: 1436-1444.
27. **Restrepo-Sánchez DC, Narváez-Cuenca CE, Restrepo-Sánchez LP** (2009). Extracción de compuestos con actividad antioxidante de frutos de guayaba cultivada en Vélez-Santander, Colombia. *Química Nova* 32: 1517-1522.
28. **Chavan UD, Amarowicz R** (2013) Effect of various solvent systems on extraction of phenolics, tannins and sugars from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) *International Food Research Journal* 20: 1139-1144.
29. **Paladino SC, Zuritz CA** (2011) Extracto de semillas de vid (*Vitis vinifera* L.) con actividad antioxidante: eficiencia de diferentes solventes en el proceso de extracción. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* 187-199.
30. **Padmalochana K, Dhana Rajan MS** (2014) Antimicrobial activity of aqueous, ethanol and acetone extracts of *Sesbania grandiflora* leaves and its phytochemical characterization. *International Journal of Pharma Sciences and Research* 5: 957-962.
31. **Nazari Formagio AS, Ferreira Volobuff CR, Santiago M, Lima Cardoso CA, Vieira M, Valdevina Pereira Z** (2014) Evaluation of antioxidant activity, total flavonoids, tannins and phenolic compounds in *Psychotria* leaf extracts. *Antioxidants* 3: 745-757.
32. **Pal R, Girhepunje K, Upadhayay A, Thirumoorthy N** (2012). Antioxidant and free radical scavenging activity of ethanolic extract of the root of *Morinda citrifolia* (Rubiaceae). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 6: 278-282.
33. **Wettasinghe M, Shahidi F** (1999) Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (*Boragoocinalis* L.) seeds. *Food Chemistry* 67: 399-414.
34. **Keser S, Celik S, Turkoglu S, Yilmaz Ö, Turkoglu I** (2012) Hydrogen peroxide radical scavenging and total antioxidant activity of hawthorn. *Chemistry Journal* 2: 9-12.
35. **Moniruzzaman M, Yung An C, Visweswara Rao P, Islam Hawlader MN, BintiMohdAzlan SA, AmrahSulaiman S, Hua Gan S** (2014) Identification of phenolic acids and flavonoids in monofloral honey from Bangladesh by high performance liquid chromatography: Determination of antioxidant capacity. *BioMed Research International* 2014: 1-11.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista Química Viva

Número 2, año 14, Agosto 2015

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

CHAGAS: una problemática compleja para abordar desde múltiples dimensiones.

Celeste Mateyca¹, Daniela Ruiz², Eugenia Boveda³, Andrea Rodríguez⁴, María Soledad Scazzola⁵,
Mariana Sanmartino¹, Carolina Carrillo^{2,6}

¹ Grupo de Didáctica de las Ciencias – IFLYSIB CONICET, Universidad Nacional de La Plata. ² Instituto de Ciencias y Tecnología Dr. César Milstein – CONICET, Buenos Aires. ³ Ministerio de Justicia y Derechos Humanos de la Nación, Buenos Aires. ⁴ Instituto Superior de Formación Docente y Técnica N°9, La Plata. ⁵ Museo de La Plata, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. ⁶ Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

mariana.sanmartino@conicet.gov.ar | ccarrillo@qb.fcen.uba.ar

Recibido: 19/02/2018 - Aceptado: 09/03/2018

[Versión para imprimir](#) 

Resumen

Hablar de Chagas es mucho más que hablar de una enfermedad, ya que en realidad se trata de una problemática de salud socio-ambiental compleja. Considerarla de esta manera implica abordar aspectos culturales, educativos, políticos, económicos, ambientales y sociales, además del tradicional abordaje biomédico. Por lo tanto, creemos fundamental pensar al Chagas de manera integral sumando diferentes perspectivas, resaltando la importancia multiplicativa de la educación en la prevención y sensibilización, para lo cual pensamos una propuesta interdisciplinaria e innovadora a través de la cual hemos ido articulando con diferentes instituciones. Contando con la participación de personas provenientes de distintas disciplinas conformamos el grupo “¿De qué hablamos cuando hablamos de Chagas?” (CONICET - UNLP - CIIE) mediante el cual apuntamos a difundir el tema en museos, escuelas y otros ámbitos institucionales. En este texto queremos compartir nuestra experiencia realizando el taller: ¿POR QUÉ, CUÁNDO Y CÓMO HABLAR DE CHAGAS EN EL AULA? que desarrollamos durante los años 2014, 2016 y 2017 en el marco de la Semana de la Enseñanza de las Ciencias (FCEN, UBA).

Palabras clave: Chagas, enseñanza, caleidoscopio

CHAGAS: a complex problem to approach from multiple dimensions.

Summary

When we discuss Chagas, we refer not only to a disease but also to a very complex health problem that involves social and environmental aspects as well. Considering this perspective of Chagas implies taking into account cultural, educational, political, economic, environmental and social aspects, besides the traditional biomedical approach. We consider it fundamental to think about Chagas in an integrated way, adding different perspectives including the important role of education in preventing and raising awareness. To achieve this goal, we have worked on an innovative and interdisciplinary pedagogical proposal that has allowed us to work together with different institutions. With the participation of people from different disciplines, we have created the group “¿De qué hablamos cuando hablamos de Chagas?” (CONICET - UNLP - CIIE) whose aim is to communicate this approach in museums, schools, and other institutional settings. In this text we want to share our experience doing the workshop “WHY, WHEN AND

HOW TO SPEAK OF CHAGAS IN THE CLASSROOM" that we developed during the *Semana de la Enseñanza de las Ciencias* in 2014, 2016 and 2017 (FCEN UBA).

Keywords: Chagas, teaching, kaleidoscope

Análisis de situación

El Chagas es uno de los problemas de salud pública más graves de América Latina ya que se trata de una de las endemias más expandidas del continente. Si bien las cifras reportadas no representan fielmente la realidad del problema, la Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que en el mundo hay entre 6 y 7 millones de personas infectadas con el parásito causante de la enfermedad de Chagas (*Trypanosoma cruzi*), la mayoría de ellas en América Latina[1]. El panorama en Argentina es preocupante ya que desde el Programa Nacional de Chagas se estima que existen al menos 1,5 millones de personas infectadas con *T. cruzi* y más de 7 millones de personas con riesgo de infección[2]. El parásito es transmitido al ser humano y a otros mamíferos principalmente a través de las deyecciones de insectos hemípteros hematófagos -conocidos en Argentina como "vinchucas" o "chinchas"- infectados. Otras formas de transmisión, menos frecuentes, son la transmisión congénita de madres infectadas, las transfusiones de sangre y los trasplantes de algunos órganos de donantes infectados/as, la contaminación de alimentos/bebidas con heces de vinchucas infectadas y los accidentes laborales. El 70% de las personas que tienen Chagas no desarrollan en ningún momento la enfermedad propiamente dicha, y se estima que solo el 10% de las personas infectadas conocen su situación. Más allá de la distribución geográfica de los insectos vectores, el Chagas se encuentra a lo largo de todo el país debido tanto a las vías de transmisión no vectorial como a las migraciones internas de las personas infectadas. Lo mismo ocurre a nivel mundial, considerándose actualmente al Chagas como una problemática que excede a nuestro continente [1].

Tanto en ámbitos académicos como en los medios de comunicación y materiales educativos, se suele "hablar de Chagas" haciendo referencia a los aspectos vinculados tanto a la biología del parásito y del insecto vector como a sus efectos sobre la salud de las personas. Sin embargo, desde nuestra perspectiva, consideramos al Chagas como una problemática de salud socio-ambiental compleja, que excede ampliamente su definición como "enfermedad". Por esta razón, proponemos una mirada multidimensional donde son variados los escenarios, los elementos y los actores implicados. En esta diversidad de espacios y sujetos consideramos que no existen algunos que sean más relevantes que otros, sino más bien, que todos forman un gran entramado donde (inter)actúan desde distintos roles y se (inter)relacionan de manera particular pero con la misma importancia.

Para abordar la complejidad de la problemática utilizamos la metáfora del "rompecabezas caleidoscópico" compuesto por -al menos- cuatro piezas: biomédica, epidemiológica, sociocultural y política. Cada pieza tiene el mismo tamaño, es decir, todas son igualmente importantes y, si falta una, no podemos entender al Chagas en su totalidad [3]. Según Alderoqui y Pedersoli (2011) "construir miradas caleidoscópicas es favorecer la observación de lo mismo, pero desde distintos puntos de vista, de forma que la superposición de diferentes imágenes parciales nos permitan construir una imagen más compleja y rica que la que teníamos sobre el tema" [4]

Objetivos

Debido a la relevancia de la problemática del Chagas en nuestro país, a la poca visibilización que tiene y a la estigmatización y discriminación a la que son sometidas las personas afectadas por el Chagas por parte de múltiples actores de la sociedad, vemos la necesidad de invitar e incluir a unas/os y otras/os en una reflexión conjunta en nuestras propuestas educativas.

Nuestro principal objetivo consiste en abordar la problemática del Chagas de manera integral, interdisciplinaria e innovadora, incorporando diferentes perspectivas y apelando al rol multiplicador de la educación tanto en la promoción de la cultura científica como en la promoción de la salud, la prevención

y la sensibilización. Proponemos fomentar la concepción de la salud como construcción social y comunitaria a partir del tratamiento de esta problemática en múltiples escenarios (museos, escuelas, centros culturales, universidades, bibliotecas, ferias, etc.); reflexionar de manera crítica entre destinatarios/as y equipo de trabajo; y promover el intercambio de saberes entre una amplia diversidad de actores de la comunidad.

Población destinataria

Desde un posicionamiento dinámico e innovador, considerando al Chagas como una problemática compleja de salud socio-ambiental cuyo abordaje requiere de diversas voces, miradas y lenguajes, hace siete años conformamos un colectivo multidisciplinario de extensión, comunicación, formación e investigación. Así, a comienzos del año 2011 iniciamos los primeros pasos de la conformación de lo que es hoy el Grupo *¿De qué hablamos cuando hablamos de Chagas?* En ese entonces para la organización de “La Semana del Chagas en el Museo” (La Plata) y otras actividades relacionadas con el Chagas, promovidas principalmente por integrantes del Grupo de Didáctica de las Ciencias (IFLYSIB, CONICET-UNLP) en colaboración con integrantes del Área Educativa y Difusión Científica del Museo de La Plata (FCNyM, UNLP), docentes e investigadores/as del Centro de Investigación e Innovación Educativas de la Región I (CIIE Región I -Dirección General de Cultura y Educación de la Provincia de Buenos Aires) y de la Universidad de Buenos Aires (UBA), e investigadores/as y becarios/as del CONICET (del Laboratorio de Triatomíneos CEPAVE-UNLP y del ICT Milstein-CABA).

A partir de ese momento comenzamos a consolidar las articulaciones para conformar un equipo de trabajo multidisciplinario, buscando desarrollar y promover un acercamiento crítico e integral a la problemática de Chagas. Desde 2012, nuestro trabajo grupal se enmarca formalmente en un Proyecto de Extensión Universitaria de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la UNLP (acreditado ininterrumpidamente hasta la actualidad) y en un Proyecto de Investigación del Fondo para la Investigación Científica y Tecnológica ANPCyT-MinCyT (acreditado en 2013).

En nuestra propuesta general, transitamos actividades para diversos públicos y contextos variados. Sin embargo, dado que la experiencia que compartimos en estas páginas se enmarca en la Semana de la Enseñanza de las Ciencias que organiza año tras año el Programa de Popularización de las Ciencias que depende de la Secretaría de Extensión, Cultura Científica y Bienestar de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires, la población destinataria de la misma está conformada -principalmente- por docentes de escuelas secundarias y estudiantes de institutos terciarios y universitarios.

Dispositivo de intervención

El dispositivo de intervención que queremos compartir aquí es el Taller *¿POR QUÉ, CUÁNDO Y CÓMO HABLAR DE CHAGAS EN EL AULA?* que desarrollamos -con matices particulares- en las ediciones 2014, 2016 y 2017 de la Semana de la Enseñanza de las Ciencias (FCEN, UBA).

A partir de una propuesta de taller en la que intercalamos momentos de reflexión individual y colectiva, un teórico dialogado con el apoyo de recursos de diferente naturaleza y una producción grupal, nos propusimos alcanzar los siguientes objetivos:

- Fomentar el abordaje de la problemática de Chagas de manera integral e innovadora en diferentes contextos educativos.
- Favorecer una mirada crítica frente al discurso tradicional referido al tema (traducido en el tratamiento del tema en los medios, en los contenidos y lenguajes de algunos recursos didácticos, etc.).
- Reflexionar sobre la necesidad de desarrollar propuestas interdisciplinarias para comprender problemáticas complejas y abordarlas en diferentes espacios educativos.

La metodología implementada en cada edición de taller (de una duración aproximada de 150 minutos) tuvo sus particularidades, pero puede resumirse del siguiente modo:

- *Ediciones 2014 y 2016*: En ambas ediciones propusimos una actividad diagnóstica inicial que consistió en responder de forma individual a la siguiente consigna: ¿Qué es lo primero que piensan cuando escuchan la palabra “Chagas”? destacando que podrían ser palabras sueltas, o bien, una frase corta. Luego, se proyectó el video "**CHAGAS. Reconocer miradas, sumar voces, acortar distancias**" que aborda, a través del arte, generalidades de la problemática del Chagas. Se trata de la presentación de cinco obras en acrílico realizadas por el artista plástico Néstor Favre-Mossier que -acompañadas de un relato en off- muestran diferentes aspectos de la problemática (Figura 1). Acto seguido, nos tomamos un tiempo para re-pensar las ideas que se plantean en el video, mediante un diálogo con los/las participantes utilizando recursos como vinchucas, diversas imágenes y representaciones del parásito, entre otros. Así, trabajamos sobre las diferentes dimensiones del Chagas, a medida que se va nutriendo la discusión sobre la problemática. Ya con un enfoque más amplio, retomamos las ideas iniciales para agruparlas en cuatro dimensiones: biomédica, sociocultural, epidemiológica y política, y construir un diagnóstico general de saberes y percepciones. El resultado fue la construcción de una mirada caleidoscópica del Chagas así como de otras problemáticas de salud socio-ambientales, en donde se ve reflejado el entramado de causas y consecuencias de diferentes escenarios y con actores también distintos y a varias escalas.



Figura 1: Foto del Taller de Chagas – Edición 2016. La imagen muestra el momento de re-pensar la problemática del Chagas en diálogo activo entre todas las participantes, con una imagen de una vinchuca – mapa de Sudamérica (Favre-Mossier).

- *Edición 2017*: En esta oportunidad invertimos el orden de la propuesta de los años anteriores. Comenzamos con la pregunta *¿Qué es lo primero que piensan cuando escuchan la palabra “Chagas”?* y agrupamos las palabras que surgían en las cuatro dimensiones previamente explicadas, construyendo una primera imagen del Chagas según las/os participantes. A continuación, utilizamos los ocho capítulos de la serie animada “*Juana y Mateo contra el Chagas*”, coproducción de CONICET Documental y PakaPaka. Luego de cada capítulo iban apareciendo reflexiones individuales y colectivas sobre los conceptos planteados al inicio del taller, las cuales fueron aprovechadas para enriquecer/complejizar la imagen inicial. Para cerrar, al igual que en las ediciones anteriores, discutimos sobre los elementos de las dimensiones planteadas e hicimos énfasis en la construcción de la mirada caleidoscópica (Figura 2).

- Olvido y silencio y complicidad.

¿Qué me llevo?

- Cambio de actitud con respecto a la enfermedad.
- Diferentes maneras de abordar “el Chagas”.
- Aumento de la capacidad imaginativa y creatividad.
- Aumento de la sensibilidad y compromiso.
- Más y mejor información y material.

Participante II

Traje...

- Dudas, ganas de generar otras durante el taller, escuchar preguntas de otros.
- Ganas de llevarme nueva información para difundir a mis alumnos.
- Expectativas de generar debates.

Me llevo...

- Motivación para seguir aprendiendo.
- Motivación para difundir.
- Ganas de continuar hablando del tema.
- Ganas de continuar en un taller próximo.
- El placer de haber participado.

¡Gracias!

Participante III

- **Entré al taller** acompañada de una compañera con la que estamos dando un taller similar, pero sobre dengue, en Barracas. Vine con curiosidad, ganas de aprender, ganas de participar.
- **Salí del taller** con mucha energía para poner en la difusión del Chagas... ¡Salí con ganas de hablar de Chagas! Conocí mucho sobre lo básico y lo complejo de la enfermedad. Me entusiasmó saber que se investigan estas cuestiones de manera integrada, incluyendo actores de muchas dimensiones. Me encantó el material que mostraron y me voy con muchas ideas en la cabeza para usar en mis futuras clases. Me voy muy agradecida. ¡Muchas gracias!

Estas palabras compartidas dan cuenta de algunas de las respuestas que nos motivan a seguir trabajando en el sentido en el que venimos haciéndolo desde hace ya 7 años, construyendo colectivamente *nuevas formas de hablar de Chagas*, sumando voces, (re)configurando y enriqueciendo la mirada caleidoscópica en múltiples contextos educativos.

Referencias:

1. **Organización Mundial de la Salud** (2017): www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/ [consultado el 22/12/17]
2. **Ministerio de Salud** (2012) www.msal.gob.ar/chagas/index.php/informacion-para-ciudadanos/el-chagas-en-el-pais-y-america-latina [consultado el 25/08/17]
3. **Sanmartino M** (Coordinación) (2015). Hablamos de Chagas. Aportes para (re)pensar la problemática con una mirada integral. Contenidos: Amieva, C., Balsalobre, A., Carrillo, C., Marti, G., Medone, P., Mordegliá, C., Reche, V.A., Sanmartino, M., Scazzola, M.S. *Buenos Aires: CONICET.*
4. **Alderoqui S, Pedersoli C** (2011) La educación en los museos. De los objetos a los visitantes. *Buenos Aires: Paidós*



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista Química Viva

Número 1, año 17, Abril 2018

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar