

Adaptación del Test de Micronúcleos al curso Organización Celular y Tisular del Profesorado de Educación Media, especialidad Ciencias Biológicas

VIRGINIA PELLEGRINO

Instituto de Profesores "Artigas" (IPA), Consejo de Formación en Educación (CFE), Administración Nacional de Educación Pública.

Palabras clave: aprendizaje basado en proyectos, control del ciclo, micronúcleos, Organización Celular y Tisular

Resumen

El Test de Micronúcleos es un bioensayo ajustado para estudiar la salud de la población estandarizado en el proyecto internacional "HUMAN MICRONUCLEUS XFO LIATED CELLS". En este artículo se presenta una propuesta de trabajo práctico aplicable a cursos de Formación Docente, donde se promueve que el estudiante conozca el test y su alcance a partir del análisis de artículos originales. Esto implica aprender a registrar, estandarizar e interpretar la presencia de micronúcleos en las células de la mucosa bucal. La elaboración del protocolo para realizar los registros y el informe correspondiente exigen dominio del marco teórico, trabajo colaborativo y capacidad de comunicación. Se plantea en paralelo al trabajo de laboratorio, tomar esta actividad como un ejemplo más, que permita a los estudiantes de profesorado redimensionar y reflexionar sobre el valor de los trabajos prácticos en el aprendizaje. Dichos trabajos se pueden plantear como una estrategia educativa integral, fomentando el aprendizaje significativo en un marco constructivista, lo cual implica un trabajo interdisciplinario y multicultural, como se plantea en la enseñanza basada en proyectos.

Introducción

La formación de profesores es un gran desafío, es el punto clave para lograr una educación de calidad en todas las áreas de conocimientos. Dicha formación, exige replantearse la metodología y estrategias de enseñanza utilizadas, en busca de alternativas que permitan contribuir a mejorar la formación inicial de profesionales de la educación, entendiendo que los mismos deben "saber y saber enseñar, conocer a quién enseña, en qué medio enseña y para qué enseña" Maestro Julio Castro (SUNFD, 2008).

A esta búsqueda se le suma una de las dificultades propias de la asignatura y es que en las últimas décadas se disparó un crecimiento exponencial del conocimiento en el ámbito de la Biología Celular y Molecular. Es así que se torna muy difícil para los estudiantes de nivel terciario poder aprender todos los conocimientos que los contenidos programáticos indican. De acuerdo con esto los mismos deben ser repensados de modo que promuevan un aprendizaje globalizador, planteando como tarea la aplicación y el descubrimiento y como operaciones mentales además de las relacionales y descriptivas, las productivas. Se pretende incentivar así la elaboración de procedimientos y principios antes que de hechos y clasificaciones, esto requerirá el manejo de dos grupos de conceptos y una operación que los relacione (Rodríguez Palermo et al., 2003). En este encuadre el rol del profesor será el de guiar al estudiante en la elaboración de modelos mentales que le permitan, en un futuro, seguir acrecentando sus saberes, orientarlos en la adquisición de conocimientos científicos que aumentan exponencialmente y organizar los medios para que los estudiantes aprendan a aplicar principios científicos que podrán luego emplear en su práctica profesional. (García Irlles et al., 2013)

Como una posible forma de enfrentar estos cambios se plantea la enseñanza basada en proyectos la cual supone una estrategia educativa integral, no como un

complemento de las prácticas habituales sino fomentando el aprendizaje significativo en un marco constructivista, lo cual implica un trabajo interdisciplinario y multicultural. (Antelo, et al 2016 y Tardif, 2008).

En ese marco las actividades experimentales son una buena práctica, puesto que favorecen la estimulación del desarrollo de procesos cognitivos tales como observar, recolectar datos, analizar y organizar la información, interpretar los resultados y elaborar conclusiones (Lorenzo, 2012). De este modo se propone la implementación de trabajos prácticos como actividades de investigación para dar a los estudiantes la oportunidad de trabajar en la resolución de problemas, construir conocimiento y comprender los procesos de la ciencia (Caamaño, 2004; Gonzalez Galli, et al. 2015 y Etxabe Urbieta 2001). Al mismo tiempo se entiende necesario el abordaje en paralelo del concepto de ciencia como una actividad humana sometida a ciertos condicionantes y de analizarla como una construcción social determinada por la sociedad en que se desarrolla (Hodson 1986; Jiménez Aleixandre et al. 1990 y Quintanilla Gatica 2000).

En este artículo se presenta una propuesta para abordar la enseñanza en los paradigmas antes planteados, ubicando al estudiante en un contexto donde será el principal protagonista del aprendizaje. Se orienta a que el estudiante redimensione y reflexione acerca del valor de los trabajos prácticos en los procesos de aprendizaje, acceda al dominio de los saberes académicos, adquiera la capacidad de comunicación de los mismos y valore la riqueza del trabajo colaborativo; aspectos éstos relevantes del aprendizaje profundo.

Propuesta de trabajo

Los antecedentes de esta propuesta se encuentran en el anexo 1.

Dado que la exposición del epitelio que tapiza la boca es continua, el análisis de las células exfoliantes muestran el efecto de los distintos agentes a los que están expuestos los individuos. En acuerdo con esto es que la proporción de micronúcleos (MN) en la población de células de la mucosa yugal (*buccal micronucleus cytome assay* o BMCyt) ha sido estandarizada a través de un proyecto denominado “*HUMAN MicroNucleus Xfoliated cells*” (HUMN_{xl}) lanzado en la “*Conference on Environmental Mutagens in Human Populations*” realizado en Turquía en la ciudad de Antalya en el año 2007 (Bonassi et al. 2011). Varios laboratorios distribuidos en el mundo se comprometieron a participar

colaborativamente en dicho proyecto. Los primeros resultados fueron comunicados en el año 2013, Bonassi y colaboradores (Bonassi et al. 2011 y Holland et al. 2008) presentaron la proporción de MN en distintas situaciones, como por ejemplo: en personas con distintos hábitos como fumar y consumir alcohol y distintas dietas alimenticias; en pacientes expuestos a terapias y/o a sustancias genotóxicas: tanto clastogénicas como aneugénicas en distintas concentraciones; en enfermedades crónicas como diabetes (anexo 2).

En base a esta información, se propone una actividad práctica que consiste en contar la proporción de MN en las células de la mucosa bucal de los distintos integrantes de la clase, con el objetivo de indagar los posibles motivos de las diferencias en las cantidades de los MN relevados.

Como disparador y marco teórico se propone el artículo de Torres-Burgarín O. y Ramos-Ibarra M.L. (2013): “*Utilidad de la Prueba de Micronúcleos y Anormalidades Nucleares en Células Exfoliadas de Mucosa Oral en la Evaluación de Daño Genotóxico y Citotóxico*”, donde encontrarán el marco teórico necesario para avanzar en el planteo de un posible estrategia para abordar el tema.

Objetivos generales

- Relacionar la presencia de MN y las posibles causas de su formación, con los efectos de distintos hábitos de vida y con la exposición a contaminantes medio ambientales.
- Confirmar la correspondencia de los micronúcleos como indicadores en Bioensayos para evaluar sustancias genotóxicas, exposiciones ambientales tanto agudas como crónicas y agentes cancerígenos y anti-cancerígenos.
- Desarrollar destrezas para la manipulación experimental, reafirmando los conocimientos sobre el manejo del microscopio de luz y sus potencialidades.
- Conocer y aplicar estrategias de análisis, que permitan desarrollar herramientas para distinguir situaciones normales de situaciones que revelen cambios significativos.
- Incorporar la indagación en la búsqueda de información complementaria empleando buscadores y/o plataformas, como por ejemplo Timbó.
- Promover la lectura de fuentes de información primaria para comenzar el ejercicio de su interpretación.

Objetivos específicos

- Analizar la morfología y tamaño del núcleo interfásico.
- Reconocer morfologías nucleares anómalas.
- Conocer estrategias experimentales para obtener valores comparables con los estándares mundiales.
- Reconsiderar el ciclo celular, dado que los MN analizados pueden revelar una alteración del huso mitótico, afectando la resolución de la mitosis (origen de MN en eventos aneugénicos).
- Reflexionar acerca de las posibles consecuencias de los daños en el ADN y los cromosomas, tomando como ejemplo la formación de fragmentos cromosómicos sin centrómero los cuales pueden producir MN (origen de MN en eventos clastogénicos).
- Analizar e implementar el protocolo estandarizado propuesto por los laboratorios que participan del proyecto HUMN_{XL}.

Conocimientos previos

Para poder llevar adelante este práctico los estudiantes deben poseer los siguientes conocimientos:

- Estructura del ADN.
- Estructura y función del núcleo interfásico.
- Mecánica y control de la Mitosis.
- Ciclo Celular y su regulación.
- Manejo básico del microscopio de luz

Metodología

En primera instancia se propone trabajar y discutir en clase el artículo *“Utilidad de la Prueba de Micronúcleos y Anormalidades Nucleares en Células Exfoliadas de Mucosa Oral en la Evaluación de Daño Genotóxico y Citotóxico”* Torres-burgarín O. y Ramos-Ibarra M.L. (2013). El trabajo de aula estará pautado por preguntas desafiantes que conduzcan a la reconsideración de los conocimientos previos, la revisión de la lectura disparadora y/o a la búsqueda de nuevas fuentes de información.

Esta primera instancia además de acercar a los artículos originales, intenta evitar que fracasen en el mo-

mento de analizar los resultados, sacar conclusiones y reflexionar sobre ellas. El conocimiento teórico orienta la forma de efectuar las observaciones, ya que tendrán claro dónde y cómo observar. (Meinardi 2010 y Sanmartí et al. 2007)

En segunda instancia se propone realizar la manipulación experimental, con un protocolo elaborado por los estudiantes y discutido previamente en clase. La propuesta de trabajo en el laboratorio podría ser: fijar con alcohol al 80% las células de un extendido de mucosa bucal y colorearlas con un colorante básico, de preferencia Giemsa.

Luego se procederá al análisis de los preparados, en el microscopio óptico, buscando identificar primero los MN (fig. 1), y luego contando los que hay en 50 células.

Los datos serán recabados en tablas, las cuales se analizarán de acuerdo a lo que se haya decidido, por ejemplo fumadores y no fumadores, pudiéndose llegar a diferenciar la cantidad de cigarrillos fumados por día. También se podría estudiar el número de MN en cuanto a la ingesta de alcohol en los últimos 15 o 20 días. Otro posible análisis podría ser en cuanto a la alimentación atendiendo a las características de la dieta alimentaria.

Los registros hechos durante el trabajo práctico serán analizados en la conclusión y contrapuestos a los presentados en las tablas de referencia (anexo 2).

Resultados de aprendizaje esperados y evaluación

Entendiendo que la evaluación también es una instancia de formación se propone compartirlo con el alumnado. “No es suficiente que el que enseña “corrige” los errores y “explique” la visión correcta, debe ser el propio alumno quien se evalúe, proponiéndole actividades con este objetivo específico” (Sanmartí, et al. 2007 p3).

La evaluación será continua y se hará a través de una matriz de evaluación que los estudiantes conocerán desde el comienzo de la actividad. Dicha matriz reflejará los resultados esperados y se empleará para medir el grado de alcance de los mismos.

A continuación se presentan, en una rúbrica, los puntos a evaluar durante el desarrollo del práctico y su ponderación (Tabla I).

CRITERIOS 100%	MUY BUENO 100 a 90	BUENO 90 a 80	REGULAR 70 a 60	INSUFICIENTE 50 a 0
Marco teórico 20%	Leyó y discutió la bibliografía sugerida. Aportó datos nuevos luego de haber hecho una búsqueda bibliográfica	Leyó y discutió la bibliografía sugerida	Leyó la bibliografía sugerida	No leyó la bibliografía sugerida
Planteamiento del Problema 20%	Delimita de manera precisa el problema y determina las variables que se van a someter a prueba	Delimita el planteamiento del problema y considera parcialmente las variables	Delimita el problema sin considerar las variables y está fuera de contexto	No tiene claridad ni, precisión
Desarrollo y Experimentación 25%	Solicita todo el material necesario Tanto equipos como sustancias Conoce el procedimiento	Indica parcialmente (en un 80%) el material, equipo y sustancias utilizadas y el procedimiento seguido	Refiere parcialmente (60%) el material, equipo y sustancias empleado y el procedimiento seguido Omite aspectos relevantes	Menciona de manera incompleta (50% o menor) el material usado y el procedimiento seguido
Interpretación, Análisis y discusión de los resultados 35%	Recopila y ordena los datos en relación al procedimiento, presentándolos en tablas y/o gráficas y en dibujos claramente identificados. Interpreta los datos y los analiza comparativamente con la información bibliográfica consultada	Presenta datos ordenados en relación al procedimiento, en tablas y/o gráficas y en dibujos Interpreta y analiza los resultados parcialmente haciendo escasa mención a la bibliografía	Tiene datos parcialmente ordenados, presenta algunas tablas y/o gráficas, los resultados se interpretan sin tomar en cuenta la bibliografía recomendada	Presenta datos en forma desorganizada e incompleta con respecto al procedimiento. No interpreta ni analiza los datos obtenidos con respecto a la información consultada

Tabla I: Rúbrica de evaluación del Test de MN

Bibliografía

- Antelo, M.; Diamant, A.; Klimavicius, S.; Pellegrino, V.; Vique, M. I. & Vomero, I. (2016). Aprendizaje Basado en Proyectos (ABP): nueva tendencia con reminiscencias del pasado. *Educación en Ciencias Biológicas*, Vol. 1(1).
- Bonassi S., Coskun E., Ceppi M., Lando C., Bolognesi C., Burgaz S., Holland N., Kirsh-Volders M., Knasmueller S., Zeiger E., Carnesoltas D., Cavallo D., da Silva J., de Andrade V.M., Demircigil G.C., Dóminguez Odio A., Donmez-Altuntas H., Gattas G., Giri A., Giri S., Gómez.Meda B., Gómez-Arroyo S., Hadjidekova V., Haveric A., Kamboj M, Kurteshi K., Martino-Roth M.G., Montero Montoya R., Nersesyan A., Pastor-Benito S., Favero Salvadori D.M., Shaposhnikova A., Stopper H., Thomas P., Torres-Burgarín O., Yadav A.S., Zúñiga Gonzalez G. & Fenech M. (2011) The HUMAN MicroNucleus project on exfoliated buccal cells (HUMNXL): The role of life-style, host factors, occupational exposure, health status, and assay protocol. *Mutation Research*, 728, 88-97.
- Caamaño A. (2004). Experiencias, experimentos ilustrativos, ejercicios prácticos e investigaciones: ¿una clasificación útil de los trabajos prácticos?. *Alambique. Didáctica de las Ciencias Experimentales*, 39, 8-19.
- Etxabe Urbieta J. M. (2001). Trabajos prácticos como recetas y como investigaciones. *Revista de Psicodidáctica*, 011.
- Fawcett D. W. (1995). *Tratado de Histología – Bloom Fawcett*. Madrid, España: Mc Graw Hill-Interamericana.
- García Irlas, M.; Segovia Huertas Y. y Sempere Ortells J. M. (2013). Aprendizaje basado en problemas en Biología Celular: una forma de explorar la ciencia Problem-Based Learning in Cell Biology: A Way to Explore Science. *Revista de Educación en Biología*, 16 (2).
- González Galli L. y Meinardi E. (2015). Obstáculos para el aprendizaje del modelo de evolución por selección natural, en estudiantes de escuela secundaria de Argentina. *Ciênc. Educ., Bauru*, 21(1), 101-122.
- Hodson, D. (1986). *Philosophy of Science and Science Education. Journal of Philosophy of Education*, 20 (2).
- Holland N. Nina Holland. Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Stefano Bonassi, D., Errol Zeiger, E., Siegfried Knasmueller, F, Fenech, M. (2008). The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research*, 659, 93–108.
- Jiménez Aleixandre M^a P. & Otero Gutiérrez, L. (1990) La ciencia como construcción social [extractos del artículo]. *Cuadernos de Pedagogía* n° 180.
- Lorenzo. M. G. (2012). Los formadores de profesores: el desafío de enseñar enseñando. *Profesorado. Revista de Currículum y Formación de Profesorado*, 16 (2), 295-312.
- Meinardi E. (2010). *Educación en Ciencias*, Barcelona, España: Paidós.
- Quintanilla Gatica M. R., (2000). Bases Epistemológicas y Didácticas del currículum en Ciencias Biológica. Extracto de la Conferencia presentada en el *Primer Seminario Taller de Didáctica de la Biología* Valparaíso, Chile.
- Rodriguez Palermo M^a L. & Marreo Acosta J. (2003). Un análisis y una organización del contenido de biología celular. *Revista electrónica de la Enseñanza de las Ciencias*, 2 (1), 67-69.
- Sanmartí N. & col. (2007). *Evaluar para aprender, Ideas clave*. Barcelona, España Edit. Graó Recuperado de <http://www.xtec.cat/~ilopez15/materials/ambitpedagogic/avaluacio/evaluarparaaprender.pdf>
- Sistema Único Nacional de Formación Docente 2008. Consejo de Formación en Educación. Recuperado de: <http://floridadigital.com.uy/cerpcentro.edu.uy/IMG/pdf/SUNFD2008.pdf>
- Tardif, J. (2008). Desarrollo de un programa por competencias: De la intención a su implementación. *Profesorado. Revista de currículum y Formación de Profesorado*, 12 (3), 1-16.
- Torres-Burgarín O. & Ramos-Ibarra M.L. (2013). Utilidad de la Prueba de Micronúcleos y Anormalidades Nucleares en Células Exfoliadas de Mucosa Oral en la Evaluación de Daño Genotóxico y Citotóxico. *Int. J. Morphol.* 31(2), 650-657.

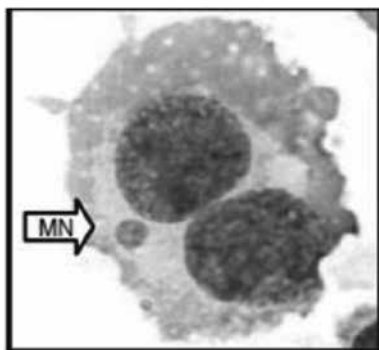


Figura I: Imagen de microscopía óptica de una célula binucleada coloreada con Giemsa donde se observa un micronúcleo (MN) x600

Anexo 1

Antecedentes vinculados al Tema: Test de Micronúcleos

El test de micronúcleos (MN) en una población celular se realiza para estudiar la presencia de alteraciones cromosómicas e inestabilidad del genoma. Se emplea como Bioensayo para evaluar sustancias genotóxicas, exposiciones ambientales tanto agudas como crónicas y agentes cancerígenos y anti-cancerígenos. Dicho test realizado en las células exfoliantes del epitelio pluriestratificado que reviste la cavidad bucal, es un muy buen indicador de posible daño genético a causa de agentes nocivos en poblaciones humanas, esta es una de las razones por la que se “ha descrito la cavidad oral como el espejo que refleja la salud del individuo” (Torres-Burgarín et al. 2013)

Acerca de los micronúcleos (MN):

Los MN son pequeños cuerpos extra-nucleares que se forman cuando cromosomas o fragmentos de cromosomas quedan rezagados durante la anafase en la división celular y no son incorporados en los núcleos hijos, originando pequeños núcleos con un radio de entre una tercera y una dieciséis parte de los núcleos centrales.

Se originan como consecuencia de eventos clastogénicos y aneugénicos. Los primeros son causados por agentes que dañan el ADN y los cromosomas, lo cual promueve cambios estructurales en los cromosomas con formación de fragmentos cromosómicos sin centrómero que no pueden unirse al huso mitótico, y los segundos son causados por agentes que afectan la segregación cromosómica lo cual provoca cambios en el número de cromosomas por reparto no equitativo de los mismos en los núcleos hijos. Por lo tanto los MN permiten evaluar, a nivel celular, daños en el ADN (en las dos cadenas) a lo largo de toda la interfase y en la segregación cromosómica durante la anafase en la mitosis.

Acerca de las células descamantes de mucosa bucal:

El revestimiento de la boca actúa como una potencial filtro contra agentes genotóxicos y si bien no permite su paso, es susceptible de sufrir daños, algunos de los cuales pueden ser evaluados estudiando las células descamantes. Por esta razón el epitelio de la mucosa bucal es considerado un buen indicador de la acción de agentes genotóxicos.

Dicho epitelio en la región de la mejilla es un epitelio estratificado no queratinizado (anexo 2), de rápido recambio (3 semanas) con características propias: no presenta los estratos típicos de un epitelio de revestimiento; las células al avanzar desde la capa basal a la superficie van aumentando de tamaño, no se aplanan a pesar de que aumenta la cantidad de desmosomas y se cargan de filamentos de queratina (Fawcett 1995)

Las células exfoliantes son grandes con abundante citoplasma y núcleo intacto, de fácil acceso para la experimentación, obteniéndose por métodos indoloros y no invasivos (Rodríguez Palermo, et al. 2003). Se suma a esto que no es necesario cultivarlas, lo cual disminuye el costo de la técnica y aumenta su fiabilidad. Una vez obtenida la muestra puede ser analizada en un extendido sobre un portaobjeto. La aparición de MN permite detectar la posible existencia de eventos clastogénicos y aneugénicos en el momento de la división celular en las células de la capa basal.

Las características descriptas, tanto para el epitelio como para los micronúcleos, no solo permiten un análisis desde la medicina preventiva y de diagnóstico (Bonassi et al. 2011), sino también podrían ser una excelente herramienta en las aulas de nivel secundario y terciario de educación.

Anexo 2 (Bonassi et al. 2011)

Table 3
Effects of life-style and diet on buccal cell MN frequency.

Predictors		N	Mean (SE)	FR*	95% CI
Cigarettes/day	0	3016	2.58 (0.07)	1.00	–
	1–9	368	2.84 (0.22)	0.97	0.86–1.10
	10–19	278	2.42 (0.20)	1.10	0.95–1.27
	20–29	231	2.31 (0.28)	0.99	0.84–1.16
	30–39	73	1.74 (0.18)	1.03	0.77–1.37
	40+	63	2.23 (0.31)	1.37	1.03–1.82
Alcohol consumption (grams/day)	Abstainer	2371	2.80 (0.09)	1.00	–
	1–15	204	2.39 (0.31)	0.94	0.79–1.13
	16–32	238	3.31 (0.30)	1.07	0.90–1.26
	33–64	249	1.99 (0.19)	0.97	0.82–1.15
	65–118	242	2.06 (0.19)	0.90	0.81–1.15
	119+	289	1.99 (0.20)	0.90	0.81–1.14
Tobacco/betel chewing	No	506	3.09 (0.18)	1.00	–
	Yes	228	6.17 (0.49)	0.95	0.84–1.09
Fruit consumption	Never	111	1.99 (0.14)	1.00	–
	Daily	847	1.17 (0.07)	0.68	0.50–0.91
	Weekly	390	2.57 (0.20)	0.81	0.60–1.09
	Monthly	721	2.47 (0.09)	1.08	0.79–1.47
Vegetable consumption	Never	536	2.33 (0.07)	1.00	–
	Daily	1130	1.80 (0.09)	1.35	0.73–2.51
	Weekly	329	1.31 (0.11)	1.13	0.60–2.12
	Monthly	85	2.59 (0.49)	1.30	0.66–2.56
Meat consumption	Never	98	1.44 (0.14)	1.00	–
	Daily	408	1.35 (0.11)	0.99	0.72–1.36
	Weekly	581	2.30 (0.13)	1.16	0.83–1.58
	Monthly	350	1.56 (0.14)	1.19	0.88–1.62
Fish consumption	Never	124	0.90 (0.10)	1.00	–
	Daily	51	0.63 (0.10)	1.67	0.93–2.98
	Weekly	65	0.48 (0.09)	1.13	0.66–1.94
	Monthly	316	0.89 (0.08)	1.02	0.78–1.33

* FR: Frequency Ratio. Significant results in bold.

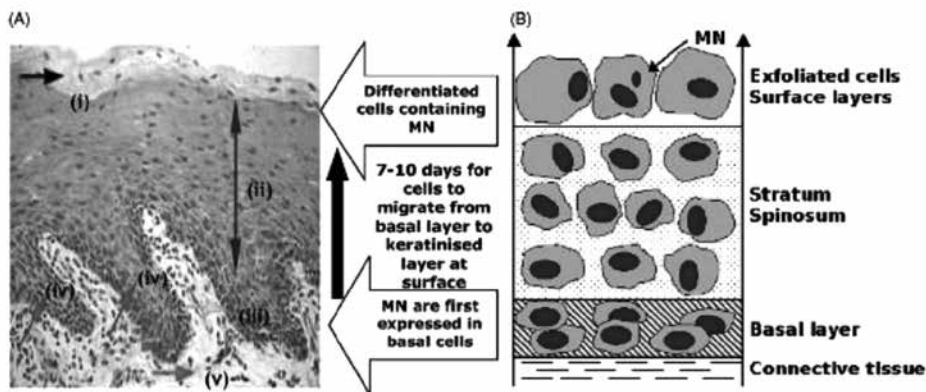


Fig. 2. Structure and differentiation of oral epithelium. (A) Photomicrograph of section through healthy oral mucosa showing the various layers of cells in the oral epithelium. The oral epithelium is a stratified squamous epithelium. It consists of five layers: (i) keratinized layer at the surface, (ii) prickle cell layer (or stratum spinosum), (iii) basal layer (or stratum basal), (iv) rete pegs, (v) lamina propria (connective tissue). Reproduced from <http://www.eastman.ucl.ac.uk/cal/ulcerspath/healthy.htm> with permission from the Eastman Dental Institute. (B) Schematic of buccal mucosa cell layers and turnover.