

Ciencias Naturales

Biología
Célula, Genoma y Organismo

Programa de Estudio
Cuarto Año Medio

Formación Diferenciada
Humanístico-Científica



GOBIERNO DE CHILE
MINISTERIO DE EDUCACION

Presentación

EL PROGRAMA DE CUARTO AÑO MEDIO diferenciado está dedicado, por un lado, a fortalecer y complementar conceptos sobre las interacciones de las células con su entorno y el control de la expresión génica, que sirven de base para entender la organización y función de los organismos multicelulares; y por otro lado, a consolidar el desarrollo y práctica de una actitud científica y un entendimiento de la naturaleza de la ciencia. Se tratan los siguientes temas: 1) los fundamentos moleculares del funcionamiento integrado y coordinado de los millones de células que componen un organismo multicelular. Esto incluye el significado de los procesos de comunicación y adhesión intercelular y de la diferenciación celular y su relevancia en cáncer; 2) la regulación de la función de los genes, lo cual incluye la influencia de su organización y estructura en el DNA y la función de proteínas que se unen a regiones específicas del DNA y controlan los niveles de transcripción, en respuesta a estímulos del medio; 3) la naturaleza de la ciencia, a través de actividades de lectura de documentos y de la práctica de su enseñanza a alumnos de cursos inferiores.

Este año se han seleccionado actividades para que los estudiantes desarrollen más intensamente sus habilidades para: a) formular preguntas que pueden contestarse científicamente, b) proponer explicaciones y hacer predicciones basadas en evidencias; c) reconocer y analizar explicaciones y predicciones; d) entender que las explicaciones científicas deben cumplir con ciertos criterios y no son definitivas sino que evolucionan a medida que se dispone de otras evidencias.

Los estudiantes tendrán la oportunidad no sólo de fortalecer sus conceptos sobre la ciencia sino también de probar su conocimiento practicando explicar a otros qué es la ciencia y cómo este tipo de conocimiento se ajusta a ciertas normas y se caracteriza por su criterio empírico, argumentación lógica y revisión escéptica. Para que los alumnos y alumnas aprecien más profundamente que la investigación científica es guiada por una base de conocimiento, observaciones, ideas y preguntas, realizarán actividades con un fuerte componente de razonamiento y estudiarán documentos sobre trabajos y ensayos científicos.

La indagación a partir de auténticas preguntas originadas desde las experiencias de los estudiantes constituye la estrategia central de enseñanza que propone este programa. Para esto, se entrega información y conceptos sencillos como puntos de inicio para involucrarlos en experiencias de indagación científica ajustadas a las capacidades cognitivas del nivel. El enfoque indagador como método activo de enseñanza debe combinarse equilibradamente con el tipo de clase lectiva. El propósito es aprender el conocimiento biológico entendiéndolo a partir de observaciones y situaciones experimentales que estimulen un aprendizaje activo e involucren una positiva experiencia del estudiante.

El ejercicio de la indagación e investigación mejora la capacidad de tomar decisiones informadas y razonadas en asuntos personales y de orden público que a menudo requieren conocimientos elementales sobre ciencia y la tecnología. La práctica de la indagación a la manera científica se mantiene y fortalece este año mediante actividades que llevan a formu-

larse preguntas, razonar lógicamente y críticamente, comunicar argumentos científicos y planificar investigaciones enmarcadas en un tema.

Todos los estudiantes deben tener una experiencia positiva de lo que significa aprender y entender algo científicamente, a través del ejercicio guiado y continuado. Es necesario darles posibilidades para discutir sus propias interpretaciones y participar activamente en la interpretación de conceptos y explicaciones con base científica. Deben ser guiados en la adquisición e interpretación de la información y recibir un estímulo positivo en todas las etapas de análisis de problemas, conceptos o explicaciones de los fenómenos biológicos. Sentir que contribuyen en la formulación de los problemas y en la definición de las etapas y medios posibles para dilucidarlos los llevará a adquirir confianza y certeza de que pueden realizar su propio camino. Aprender a aprender es crucial para continuar leyendo, aprendiendo y estudiando a medida que aparezcan las necesidades y las oportunidades. Se continuará fortaleciendo el uso de internet como herramienta de búsqueda de información y como apoyo a las actividades pedagógicas relacionadas con el programa.

Organización y lógica del programa

El programa está estructurado en torno a cuatro unidades tratadas a través de actividades que entregan información elemental e invitan a desarrollar un aprendizaje activo, involucrando al docente en la motivación de experiencias de indagación, sean éstas parciales o completas.

Al organizar la secuencia de las unidades se cambió el orden de algunos contenidos respecto de como aparecen en el decreto 220. Este cambio facilita el tratamiento de las materias puesto que pone en un contexto más didáctico contenidos que de otra manera quedarían relativamente aislados. Así, los contenidos sobre enzimas, bacterias y virus que en el decreto 220 aparecen incluidos en el nivel conceptual Organización, Estructura y Actividad celular se han distribuido en dos unidades del programa. Las enzimas se encuentran tratadas en la Unidad 1 (Información génica y proteínas) mientras que bacterias y virus se tratan en las Unidades 2 (Microbios y sistemas de defensa) y en la Unidad 3 (Biología humana y salud). De esta manera quedan dentro de los contextos más generales de estas unidades.

El nivel de profundidad y los detalles del conocimiento que deben adquirir alumnos y alumnas están expuestos en los **Aprendizajes esperados** que acompañan a cada unidad y se ilustran con los **Ejemplos e Indicaciones al docente**. Los aspectos que pueden ser tratados como indagación se presentan en base a preguntas y respuestas, administrando claves para las explicaciones, interpretaciones y conclusiones a las que se debe llegar. Las tablas se utilizan para mostrar información, explicar procesos o iniciar actividades de indagación en base a preguntas y explicaciones. En ningún caso deben ser aprendidas de memoria. En todo momento debe privilegiarse que se entiendan los conceptos contenidos en las ilustraciones y las tablas. Para facilitar el tratamiento de temas complejos se han incluido abundantes figuras que sirven de apoyo al docente y también dan una idea de los logros y la profundidad que se pretende alcanzar.

En la **Unidad 1**, se estudian diversos aspectos sobre los mecanismos que permiten integrar las funciones de células con distintas especializaciones en el organismo. En este sentido se tratan los procesos de diferenciación celular, señalización y adhesión celular, explicando de manera elemental sus fundamentos moleculares. Se muestra que las células cambian sus patrones de expresión de genes durante el desarrollo y que esto implica una regulación por señales provenientes de otras células. La unidad se organiza en torno a las siguientes preguntas: ¿Qué significa la diferenciación celular a nivel molecular? ¿Cómo se relacionan los eventos que ocurren en la superficie celular con las respuestas rápidas de las células y con la transcripción génica que ocurre en el núcleo? ¿Cómo interactúan las células con la matriz extracelular y con otras células en la formación de tejidos y órganos? Los estudiantes aprenderán a manejar los conceptos sobre señales, receptores y sistemas de transducción de señales y sobre las moléculas de adhesión célula-célula y célula-matriz extracelular, importantes en la formación de tejidos. A través de la ilustración de experimentos apreciarán su relevancia en el cáncer. Esta unidad también sirve de introducción a la siguiente, ya que se hace aparente la necesidad de conocer los procesos de regulación de la expresión génica por señales externas para comprender cómo es posible la diferenciación celular si el genoma es el mismo en los distintos tipos celulares. Las actividades ofrecen oportunidades para que los estudiantes interpreten experimentos que requieren conocimiento previo sobre estructura del DNA y significado de la información y expresión génica. Esto les llevará a conocer y

valorar los avances tecnológicos que han permitido grandes cambios sobre la manera de pensar acerca de los organismos.

En la **Unidad 2**, se trata de mostrar la estructura de los genes eucariontes y los elementos que intervienen en su regulación, haciendo en ambos casos un contraste con procariontes donde se realizaron los primeros hallazgos. Para exponer los principios generales del control de la transcripción génica se ilustran los modelos de regulación en bacteria basados en los trabajos clásicos de Jacob y Monod. De esta manera se logra apreciar mejor el mayor grado de complejidad y versatilidad en los mecanismos de control de los organismos multicelulares. Se está ahora en condiciones de dar una respuesta elemental a la pregunta sobre la regulación hormonal de la regulación génica que cumple un papel fundamental durante el desarrollo. Los estudiantes aplicarán estos conocimientos indagando en aplicaciones de la tecnología de DNA recombinante, tales como la terapia génica y la producción de organismos transgénicos.

En la **Unidad 3** el objetivo es incentivar a los estudiantes a revisar sus ideas y creencias sobre el conocimiento científico y darles mayores herramientas para que puedan reconocerlo, generarlo y transmitirlo. Durante discusiones guiadas, en actividades basadas en documentos que se incluyen en los **Anexos**, se ilustrará que las explicaciones científicas deben ser consistentes con las evidencias experimentales y con las observaciones acerca de la naturaleza, seguir una lógica, estar sujetas a criticismo, y permitir hacer predicciones sobre los sistemas que se están estudiando. La lectura de trabajos científicos traducidos de su forma original ilus-

trará que las explicaciones científicas también deben reportar los procedimientos y métodos utilizados para obtener la evidencia y deben pertenecer al conocimiento público. La lectura de ensayos acerca de la naturaleza del conocimiento científico les ayudará a apreciar que las explicaciones acerca del mundo natural que se basan en mitos, creencias personales, valores religiosos, inspiraciones místicas, superstición, o autoritarismo pueden ser importantes y útiles en el plano personal y social pero no son explicaciones científicas. Podrán reconocer en textos sobre ciencia y trabajos de investigación científica los elementos que siempre se encuentran presentes en la actividad científica y apreciarán que no existe un único método científico que pueda practicarse mediante una serie de pasos y etapas en orden consecutivo, sino que los científicos realizan sus investigaciones con aproximaciones muy distintas, generalmente partiendo de intuiciones creadoras. Se les aclarará aún más que un conocimiento es considerado científico si tiene la posibilidad de ser refutado por evidencias nuevas. Los estudiantes podrán probar sus conocimientos adquiridos en el tema y cuán claro tienen los conceptos intentando explicar a otros estudiantes acerca de la naturaleza del conocimiento científico. También tendrán la oportunidad de diseñar un proyecto de investigación que les permitirá aplicar el conocimiento adquirido.

El programa permite movilidad e integración de distintas unidades. Las actividades han sido desglosadas por conveniencia para la exposición del programa y para sugerir un modelo de ordenación, pero pueden fundirse varias de ellas en una sola o reordenarse según se estime apropiado didácticamente. En este sentido, es importante desarrollar la unidad sobre la naturaleza de la ciencia a lo largo de todo el año integrándolo a las otras unidades, de manera que vayan practicando una actitud científica y tengan tiempo para la lectura de los documentos que se incluyen y para el diseño de un proyecto de investigación basado en sus conocimientos previos. Los ejemplos de actividades tampoco son obligatorios. Por el contrario, tienen como objetivo proporcionar alternativas que el profesor o la profesora pueden utilizar literalmente, combinarlos o diseñar sus propios ejemplos en base a los presentados. El docente deberá adecuar las actividades a las condiciones locales para el logro de los objetivos, según su criterio. El orden de presentación de los conceptos, contenidos y actividades constituye una propuesta educativa, que también puede ser modificada. Por ejemplo, podrían ajustarse para realizar actividades integradas con otras disciplinas, tales como matemáticas, física, química o inglés. También es importante que los ejemplos de actividades sean adaptados a las condiciones, tradiciones y costumbres propias de cada región y comunidad.

Indicaciones y orientaciones didácticas

El programa de Biología es un instrumento de trabajo, de consulta permanente. Su cobertura total requiere una programación cuidadosa y detallada. Una lectura previa permitirá distinguir la información, apreciar el nivel de profundidad que debe alcanzarse y pensar las estrategias de enseñanza. Esto facilitará el diseño de una planificación que logre cubrir los contenidos y cumplir las intenciones respecto del conocimiento, el entendimiento y las habilidades que el programa pretende desarrollar. La planificación de las actividades y clases lectivas es crucial para conseguir un equilibrio que incluya más experiencias de indagación. Otro aspecto importante de la planificación se relaciona con la organización de los estudiantes. Es necesario estimular el trabajo grupal, la opinión y la discusión de ideas en el contexto de un cierto conocimiento.

En las **Orientaciones didácticas** y en las **Indicaciones al docente** se encontrará información de apoyo para la realización tanto de experiencias de indagación con los estudiantes como para la entrega de información y conceptos en clases lectivas. El material que se ha incorporado en estas secciones pretende proporcionar elementos que permitan clases más atractivas y más precisas acerca de temas que son relativamente complejos. Es importante aprovechar las explicaciones y aclaraciones de conceptos que aparecen en los **Aprendizajes esperados**, las **Indicaciones al docente** y los **Anexos**. También debe aprovecharse el abundante material ilustrativo que acompaña a las actividades. Todo esto hace imperativo una lec-

tura completa y cuidadosa del programa para apropiarse de esta nueva visión de la enseñanza de la biología.

Es importante que cada unidad y tópico se fundamente en alguna problemática científica, formulada a partir de hechos provenientes de observaciones, datos de actualidad o experiencias vividas por los estudiantes, ofreciendo a los alumnas y alumnos una diversidad de actividades. Conviene presentar los datos en forma integrada y utilizar fuentes diversas de información, tales como videos, películas o simulaciones computacionales, exámenes de laboratorio e informática pedagógica. Las actividades prácticas otorgan a la enseñanza de la biología mayor valor formativo, desarrollando en los estudiantes un conjunto de capacidades. Esto no significa necesariamente un montaje experimental costoso y complejo. Un sencillo experimento puede ser de máximo provecho si es utilizado para ejercitar y hacer evidente los procedimientos de observación, razonamiento y comunicación de la ciencia, partiendo de preguntas que surjan del alumnado motivadas por el docente. Cuando sea pertinente, en términos de contenidos o métodos, deben aprovecharse las oportunidades de realizar un enlace o integración con otras disciplinas.

La evaluación no sólo debe probar si el alumnado ha memorizado información sino también debe medir el grado de entendimiento, razonamiento y aplicación del conocimiento, es decir las habilidades que se logran a través de la indagación e investigación. La evaluación puede realizarse de diversas maneras. Además de las

pruebas convencionales de papel y lápiz, deben probarse presentaciones orales, portafolios (carpetas), entrevistas, reportes de investigación, breves resúmenes o ensayos escritos. Una evaluación formativa es crucial para detectar dificultades durante el estudio y una evaluación sumativa contribuye a elaborar un resumen de conocimientos. Se aconseja realizar controles con ejercicios cortos en cada clase, una a dos pruebas que no excedan más de 1 hora por unidad. Los controles deben contener un pequeño número de preguntas destinadas a verificar la adquisición de conocimiento, primero, y luego evaluar la aplicación de los conocimientos y métodos, y el razonamiento sobre un documento.

Los estudiantes deben planear y hacer presentaciones al resto de la clase acerca de su trabajo, decidiendo ellos mismos la manera de organizar y presentar los datos. Deben explicar y justificar su trabajo a ellos mismos y a otros como un medio para desarrollar una actitud científica, al ejercitar la capacidad de poner a prueba la validez del conocimiento que han producido en sus búsquedas e indagaciones, y de aceptar y reaccionar positivamente a las críticas constructivas de los demás. Con el conjunto de estas prácticas, que se repetirán en los próximos años, se irá moldeando un entendimiento de lo que es una indagación científica.

Objetivos Fundamentales

1. Conocer y entender los mecanismos generales de interacción de la célula con el medio y sus adaptaciones para su funcionamiento integrado en el organismo.
2. Entender y valorar la relevancia del conocimiento sobre información genética en las áreas de salud y biotecnología.
3. Conocer las técnicas básicas utilizadas en la exploración de células, genes y proteínas.
4. Fortalecer habilidades para el diseño, conducción y comunicación de experimentos

Contenidos Mínimos Obligatorios

1. Integración célula-organismo

- a. Diferenciación celular, expresión de distintos genes, fenotipo y función celular.
- b. Respuesta de las células a estímulos específicos: receptores y transducción de señales.
- c. Interacciones entre células: uniones intercelulares, moléculas de adhesión, alteraciones en cáncer.
- d. Aplicaciones del conocimiento sobre biología celular: anticuerpos monoclonales y cultivos celulares.

2. Expresión de la información génica

- a. Estructura básica de los genes eucariontes; regiones reguladoras (promotores), exones e intrones. Recombinación génica en los mecanismos de defensa.
- b. Aplicaciones del conocimiento genético: terapia génica y organismos transgénicos.

3. La investigación científica en Biología

- a. Diseño y conducción de una investigación científica: formulación de preguntas e hipótesis, utilización de herramientas y técnicas apropiadas al problema en estudio, recolección y análisis de datos.
- b. Lectura, interpretación y redacción de manuscritos científicos.
- c. Técnicas corrientemente utilizadas en biología celular y molecular.

Objetivos Fundamentales Transversales y su presencia en el programa

EL PROGRAMA DE FORMACIÓN DIFERENCIADA de *Biología* de Cuarto Año Medio refuerza algunos OFT que tuvieron presencia y oportunidad de desarrollo en la Educación Media y adicionan otros propios de las nuevas unidades.

En el ámbito *crecimiento y autoafirmación personal*, se refuerza el OFT referido al cuidado, respeto y valoración de la vida y el cuerpo humano a través de la comprensión y valoración de los grandes problemas de la biología humana como son la expresión génica y su regulación. Asimismo, el programa en su conjunto promueve la realización de los OFT de formar y desarrollar el interés y la capacidad de conocer la realidad, y utilizar el conocimiento y la información en la áreas de la salud y la biotecnología.

Todos los OFT del ámbito *desarrollo del pensamiento* son una dimensión central de los aprendizajes, contenidos y actividades del programa. En este marco, tienen especial énfasis las habilidades de investigación y el desarrollo de formas de observación, razonamiento y de proceder características del método científico,

así como las de exposición y comunicación de resultados de actividades experimentales o de indagación. Por sobre todo la unidad: Investigación científica en *Biología* pretende que los estudiantes refuercen las ideas centrales que definen al conocimiento científico.

En el plano de la *formación ética* se refuerza a través de todo el programa el valorar el carácter único de la especie humana; respetar las interpretaciones, ideas y creencias distintas reconociendo el diálogo como fuente permanente de superación de diferencias y de acercamiento a la verdad.

En relación a los OFT del ámbito *persona y su entorno*, el programa conduce a la comprensión de los procesos bioquímicos que intervienen en la regulación.

Además, el programa se hace cargo de los OFT de Informática incorporando en diversas actividades y tareas la búsqueda de información a través de redes de comunicación y el empleo de software.

Unidades, contenidos y distribución temporal

Cuadro sinóptico

Unidades		
1 Integración Célula-Organismo	2 Estructura y regulación génica	3 Investigación científica en biología
Contenidos		
<ul style="list-style-type: none"> • Diferenciación celular • Receptores y transducción de señales • Las células en tejidos: adhesión celular • Aplicaciones en biología celular 	<ul style="list-style-type: none"> • Estructura y organización de los genes • Regulación de la transcripción • Control hormonal de la transcripción 	<ul style="list-style-type: none"> • Conocer científicamente en biología • Diseñando un proyecto de investigación
Distribución temporal		
12 semanas	8 semanas	18 semanas

Unidad 1

Integración célula-organismo

Orientaciones didácticas

En esta unidad se estudian los fundamentos moleculares del funcionamiento integrado y coordinado de los millones de células que componen un organismo multicelular. Como punto de inicio se sugiere empezar por algunos conceptos y problemas motivantes sobre desarrollo embrionario, llamando la atención sobre el significado de la diferenciación celular y la organogénesis. No se trata de dar una acabada visión de estos procesos sino de ilustrar que durante el desarrollo las células responden a señales provenientes de otras células cambiando sus patrones de expresión de genes y formando órganos como conjuntos de células que cumplen funciones similares. Preguntas tales como ¿Qué significa la definición del plan corporal y la diferenciación celular a nivel molecular? ¿Cómo se relacionan los eventos que ocurren en la superficie celular con las respuestas rápidas de las células y con la transcripción génica que ocurre en el núcleo? ¿Cómo interaccionan las células con la matriz extracelular y con otras células en la formación de tejidos y órganos? Se irán abordando continuamente en distintos niveles de complejidad, cubriendo distintos aspectos funcionales. Además de motivar las actividades de esta unidad, sirven de introducción y motivación para la próxima unidad sobre regulación de la expresión génica.

Primero se expone la relación entre genes y fenotipo revisando el concepto de genes homeóticos que controlan el desarrollo de un plan corporal en el eje antero-posterior. Luego se muestran evidencias de genes que determinan la diferenciación celular. Una vez que los estudiantes tengan claro que la diferenciación celular lleva a la generación de estructuras y funciones específicas en los fenotipos celulares, se les guiará con datos, resultados de experimentos y preguntas para que ellos mismos concluyan que la diferenciación debe sustentarse en composiciones proteicas particulares a distintos tipos celulares y que esto, a su vez, debe ser consecuencia de la expresión de conjuntos distintos de genes según el fenotipo. Las actividades se han organizado para ilustrar de diversas maneras que la diferenciación celular involucra diferencias cuantitativas y cualitativas en la expresión de distintos genes, controlada en su mayor parte a nivel de la transcripción. Al preguntarse ¿cómo es posible la diferenciación celular si el genoma es el mismo en los distintos tipos celulares? verán la necesidad de conocer los procesos de regulación de la expresión génica por señales

externas. Es necesario presentar modelos conocidos de desarrollo en los que se aprecie la función de la expresión de genes y la comunicación entre células. En esta unidad se proponen, como ejemplos ilustrativos, la diferenciación de células de músculo esquelético, que depende de genes ya identificados, y los fenómenos de inducción local entre células durante los procesos de desarrollo del lente ocular y de los túbulos renales.

Las actividades ofrecen oportunidades para que los estudiantes interpreten experimentos que requieren conocimiento previo sobre estructura del DNA y significado de la información y expresión génica. Deben apreciar el conocimiento previo necesario para diseñar experimentos, y aplicar sus propios conocimientos para formular preguntas relevantes al tema en estudio y para interpretar resultados de experimentos. Los experimentos que se presenten permitirán conocer y valorar el tipo de tecnología molecular que ha sido instrumental en los grandes cambios que ha experimentado la manera de pensar sobre los organismos. Esta tecnología se utiliza actualmente para indagar en los grandes problemas de la biología, como son la expresión génica y su regulación en respuesta a los estímulos, cruciales durante el desarrollo y mantención de tejidos en continuo recambio. El concepto de las células troncales y su potencial para diferenciarse y renovar células en tejidos tales como el intestino y la piel sirve de motivación para introducir e indagar en el polémico tema de las células troncales totipotenciales embrionarias humanas.

Todo lo anterior es una motivación importante para entrar en el problema de los mecanismos que utilizan las células para comunicarse entre ellas. Esto será abordado indagando en los conceptos de señales, receptores y sistemas de transducción de señales, con explicaciones e ilustraciones elementales sobre la bioquímica de estos procesos. Es importante que los estudiantes logren incorporar y aplicar este conocimiento a la fisiología de los diversos sistemas que ya han visto. Se trata que comprendan que las señales gatillan cambios estructurales en las proteínas celulares con un sistema de amplificación que permite una respuesta global de la célula. Las actividades están dirigidas a dar una idea general sobre cómo se logra esto y cuáles son las mayores variaciones en los distintos sistemas de control. Con esto se pretende que adquieran la capacidad de aumentar su propio conocimiento, buscando e interpretando información sobre los mecanismos particulares que participan en los sistemas de comunicación celular que ya han visto de una manera u otra, por ejemplo, en el control hormonal del metabolismo de la glucosa o de la contracción muscular, en la respuesta inmune, etc.

Los mecanismos de adhesión célula-célula y célula-matriz extracelular son importantes en la formación de tejidos y se pierden en el cáncer. Por esto, se ha incluido aquí una visión básica de las moléculas que participan utilizando conceptos sobre receptores e interacciones específicas con ligandos que en este caso se encuentran ya sea en la superficie de otras células o en proteínas de la matriz extracelular. Su importancia en el cáncer se ilustra con los resultados de experimentos que los estudiantes pueden interpretar aplicando conocimientos previos.

Finalmente, los alumnos y alumnas deben conocer algunas aplicaciones surgidas del conocimiento de la biología celular tales como anticuerpos monoclonales y el cultivo celular. Es necesario que los estudiantes indaguen ellos mismos en las más variadas aplicaciones navegando por internet o en fuentes cercanas a su entorno, tales como diarios, revistas y libros.

Contenidos

- Diferenciación celular.
- Receptores y transducción de señales.
- Las células en tejidos: Adhesión celular.
- Aplicaciones en biología celular.

Aprendizajes esperados

Los alumnos y alumnas saben y entienden que:

- Durante el desarrollo se establece primero un esquema que define las principales regiones del cuerpo (cabeza, tronco, cola) y luego se produce una diferenciación en las células del embrión, generándose una gran variedad de fenotipos celulares con formas y estructuras especializadas en distintas funciones. La definición del plan corporal y la diferenciación celular ocurre por la expresión de distintos genes como resultado de un complejo programa de desarrollo.
- Las células poseen mecanismos muy elaborados y variados de transmisión e interpretación de señales que permiten una coordinación de sus actividades en comunidades unicelulares o multicelulares.
- La comunicación celular se realiza a través de señales químicas sintetizadas por la célula y receptores que las reconocen en la superficie celular o en el interior de la célula, gatillándose cambios moleculares amplificadas por sistemas de transducción de señales que finalmente originan la respuesta celular.
- En los organismos multicelulares, las células especializadas en las distintas tareas funcionan de manera altamente coordinada formando tejidos y órganos a través de proteínas integrales de membrana, llamadas moléculas de adhesión celular, que establecen contactos fuertes y específicos con otras células y con la matriz extracelular.
- Las células animales secretan glicoproteínas específicas que forman una matriz extracelular con las siguientes funciones: a) crea un ambiente especial en los espacios intercelulares; b) ayuda a las células a mantenerse unidas en los tejidos; c) constituye un reservorio de numerosas hormonas que controlan la proliferación y diferenciación celular; d) provee un substrato sobre el cual las células pueden moverse, especialmente en los primeros estados de la diferenciación y organogénesis. Defectos en las conexiones intercelulares pueden llevar al desarrollo de cáncer y malformaciones del desarrollo.
- El conocimiento de la biología celular tiene diversas aplicaciones en las áreas de la salud y biotecnología.

Mejoran sus habilidades para

- Informarse en distintas fuentes.
- Interpretar resultados experimentales ilustrados gráficamente o en esquemas.
- Razonar, inferir y hacer conjeturas en base a conocimientos previos y problemas.

Diferenciación celular

Actividad 1

Relacionar la función de genes con el desarrollo embrionario.

Ejemplo Presentar imágenes del desarrollo de organismos simples y del efecto de mutaciones en ciertos genes. Un buen ejemplo es el desarrollo de la *Drosophila melanogaster*. En la figura se muestran etapas de su desarrollo que dura sólo unos días luego de la fertilización. Se ilustra también un mutante que tiene dos pares de alas en vez de una, ambos pares totalmente funcionales. ¿Cómo se produce este fenómeno? Guiar una discusión sobre la definición del fenotipo en general y sobre los requerimientos para la generación de distintos fenotipos en las células de un organismo. Esta discusión se centrará en una explicación del docente sobre la función de genes llamados homeóticos que definen el eje antero-posterior del cuerpo y la posición de los órganos que se desarrollan a lo largo de este eje. Las figuras ilustran la función de estos genes.

Figura 1

Etapas en el desarrollo de la mosca y efecto de mutaciones en genes que controlan la localización de estructuras a lo largo del eje cabeza-cola (genes homeóticos)

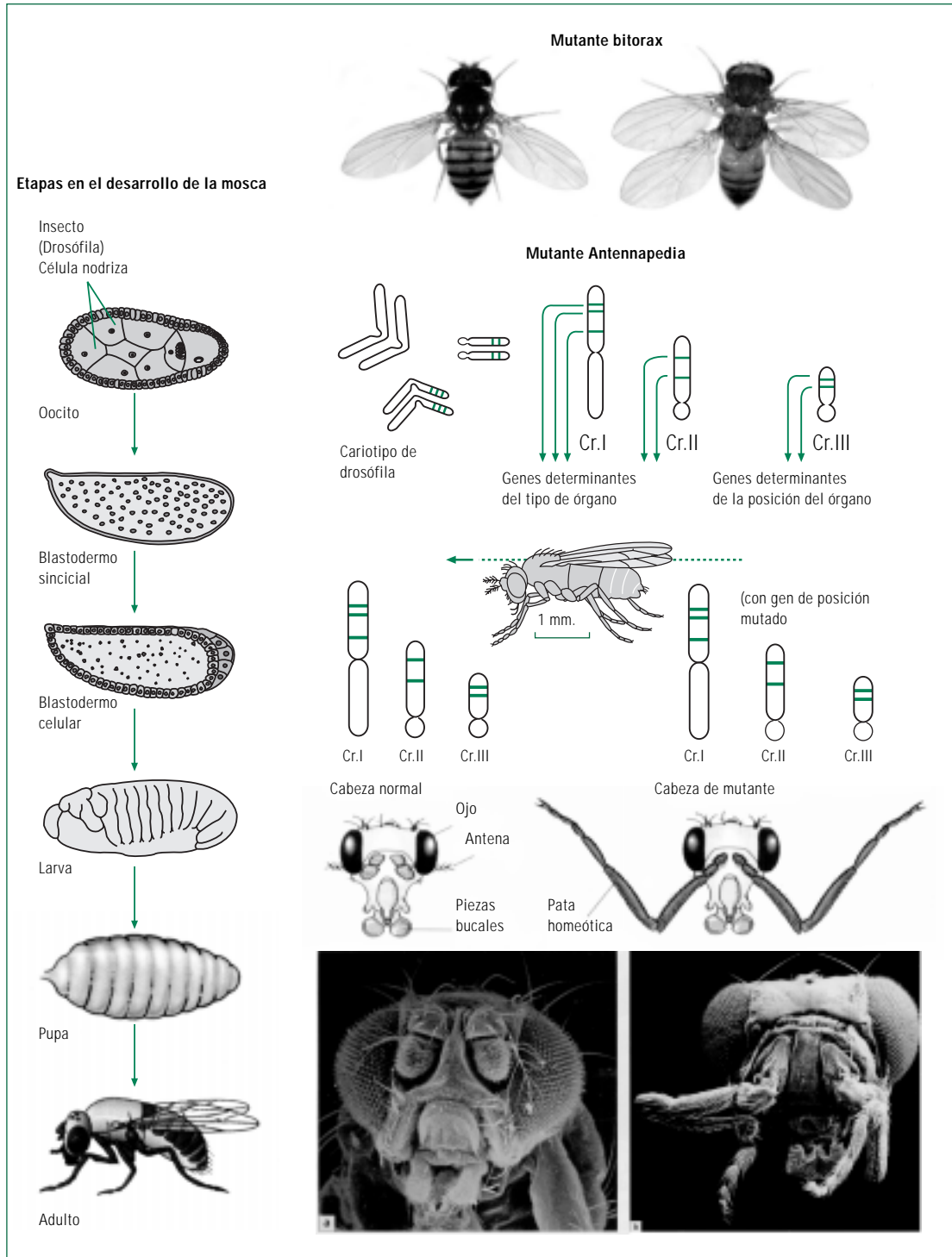
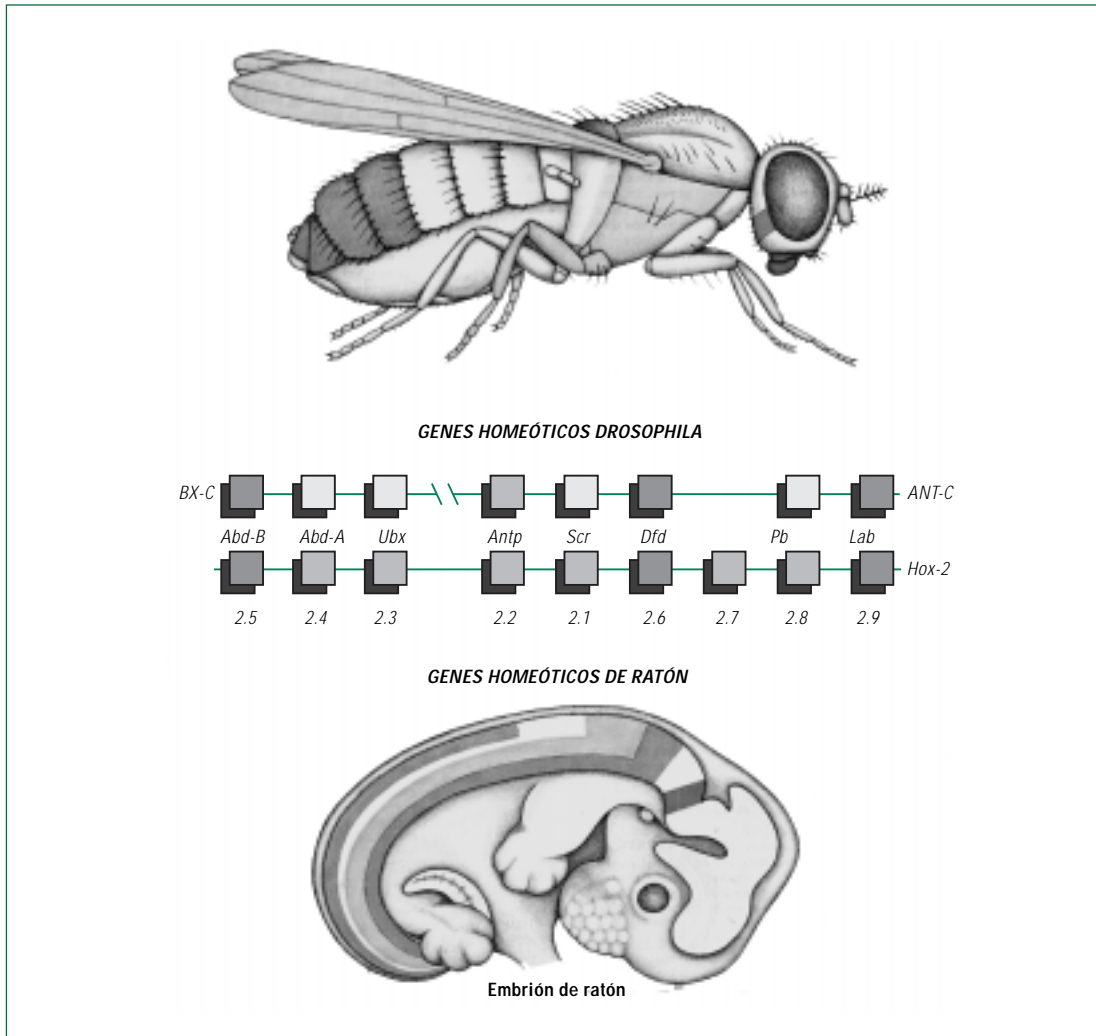


Figura 2

Los genes homeóticos definen el plan corporal en el eje antero-posterior (cabeza-cola)



INDICACIONES AL DOCENTE

Esta actividad es introductoria al problema de la definición de los cientos de fenotipos y la organogénesis característica de los organismos multicelulares, llamando la atención sobre el hecho que un cambio mínimo en ciertos genes específicos puede determinar enormes cambios fenotípicos, como el desarrollo de órganos en sitios donde no corresponde en el caso de la mosca de la figura. ¿Cómo se explica esto?

El desarrollo es un proceso de cambio progresivo durante el cual un organismo va adquiriendo las formas sucesivas que caracterizan su ciclo de vida. El desarrollo embrionario se refiere a las etapas más tempranas que definen el fenotipo característico de la especie. Los procesos que ocurren a nivel celular no sólo incluyen la proliferación y el crecimiento celular sino también la diferenciación celular y la morfogénesis. La diferenciación es la generación de especificidad celular, es decir, la determinación de estructuras y funciones específicas en distintos fenotipos celulares.

Dentro de cada especie, las etapas de la construcción del embrión se suceden siguiendo un escenario constante. El programa genético dirige las etapas del desarrollo, la estructuración del embrión y la diferenciación de los distintos órganos, cuyas células (musculares, células nerviosas) expresan sólo una parte del programa genético completo.

Dos tipos de genes definen la localización y el tipo de órgano en cada especie. Ciertos genes definen la naturaleza del órgano (pata, oído, ojo, etc.) mientras que otro tipo de genes determinan la localización. Antes que la mayoría de las células comience a especializarse, se establece un plan corporal que define la ubicación de las principales regiones del cuerpo: cabeza, tronco, cola, etc.

Las anomalías que se muestran en las drosófilas mutantes afectan sólo a los genes que determinan la localización de las alas (mutante *bitorax*) y las patas (mutantes *Antennapedia*). Estos genes se llaman genes homeóticos y sus mutaciones son mutaciones homeóticas.

Un gen homeótico es un gen que interviene en el programa de desarrollo que determina la localización de órganos a lo largo del eje antero-posterior. La determinación del eje antero-posterior (cabeza-cola) del embrión constituye la piedra angular del desarrollo porque proporciona una línea central a lo largo de la cual se desarrollará el resto de las estructuras. Los genes homeóticos constituyen una familia de genes que determina la forma del cuerpo. Son genes de posición o selectores de posición de las estructuras que se desarrollan. Expresan su actividad en regiones diferentes del embrión, subdividiendo al embrión a lo largo del eje cabeza-cola en campos celulares con diferentes potenciales de desarrollo, que se transformarán en miembros y otras estructuras. Esta subdivisión del cuerpo embrionario precede a la formación de órganos o estructuras específicos.

Una mutación homeótica provoca la sustitución de una parte del cuerpo por una estructura cuya ubicación normal correspondería a otro sitio. En la figura, las moscas mutantes *bitorax* tienen un par de alas adicionales en el sitio donde normalmente debería estar un par de pequeños apéndices llamados estabilizadores; las mutantes *Antennapedia* tienen patas adicionales en el lugar donde deberían tener antenas.

¿Cómo es posible que la mutación de uno o dos genes produzca una transformación fenotípica tan notable como la aparición de un órgano completo en un sitio que no corresponde? Se necesitan cientos de genes activos para crear las alas y patas con ubicación normal. Los genes homeóticos actúan como genes "rectores" o "maestros", ya que dirigen la actividad de varios genes subordinados. Por ejemplo, en la drosófila existe un gen homeótico que dirige la formación del ojo, para lo cual debe regular la expresión de alrededor de los 2500 genes que codifican a las proteínas que dan estructura y función al ojo. De esta manera un solo gen homeótico funciona como un gen maestro capaz de controlar toda la cascada de eventos necesarios para el desarrollo de una estructura tan compleja como el ojo.

¿Qué tipo de proteínas codifican los genes homeóticos? El producto de los genes homeóticos son proteínas reguladoras de genes. Los genes homeóticos tienen una secuencia muy conservada llamada caja homeótica, que en la proteína da origen a una región llamada homeodominio, cuya función consiste en reconocer y unirse a secuencias de DNA en los genes subordinados. Las proteínas con homeodominios activan o reprimen la expresión de los genes subordinados.

Los genes homeóticos inicialmente identificados en la drosófila han sido encontrados posteriormente en vertebrados y en numerosos otros invertebrados. Cuando se comparan los genes homeóticos de la mosca con los del ratón se encuentran grandes homologías de secuencias. Esto hace pensar que durante la evolución los insectos y los vertebrados heredaron genes homeóticos desde un ancestro común. Esto explicaría el patrón de organización ampliamente difundido que se observa en un gran número de especies, donde los órganos y los aparatos principales aparecen distribuidos en tres ejes de

polaridad: el eje antero-posterior, el eje dorso-ventral y el eje derecha izquierda. Esta organización es compartida por todos los vertebrados: aves, anfibios, reptiles, oiseaux y mamíferos. El hecho que estos genes compartan una secuencia llamada caja homeótica (homeobox) sugiere que el mecanismo que determina la cabeza, el tronco y la cola pueden haber surgido una sola vez en la evolución.

Los genes homeóticos se agrupan en complejos o grupos dentro de un cromosoma. La ubicación de uno de estos genes en un cromosoma tiene una correspondencia con el lugar donde se expresa en el cuerpo. En el diagrama se han marcado los genes con caja homeótica de drosófila y ratón y las regiones del plano corporal que estos genes controlan. En la molécula lineal del DNA, estos genes con cajas homeóticas están dispuestos en un orden preciso de izquierda a derecha. Los genes con cajas homeóticas situados a la izquierda de un complejo de estos genes se expresan en las regiones posteriores del cuerpo mientras que los genes situados más hacia la derecha se expresan más cerca de la cabeza. Este es un principio general. Se observa en vertebrados y en la mosca de la fruta. Es decir, en el DNA cromosómico, los genes con cajas homeóticas se disponen en el mismo orden en el que se expresan a lo largo del eje antero-posterior del cuerpo.

Actividad 2

Reconocer relaciones entre estructura y función en diversos fenotipos celulares.

Ejemplo Los estudiantes observan esquemas de distintos tipos celulares que ya han sido estudiados previamente (células epiteliales, neuronas, células musculares, células exocrinas, fotoreceptores, etc.), identifican los elementos más distintivos (organelos, forma celular, organización de la superficie celular, etc.) y los relacionan con la función característica de cada célula. Discuten y proponen hipótesis sobre cuál es el fundamento molecular que sustenta estos fenotipos y cómo se producen si todas las células poseen el mismo genoma. Luego, explicar el experimento de la figura donde núcleos aislados de células hepáticas, células renales y neuronas se incubaron con ^{32}P -UTP y los RNA resultantes de la transcripción se hibridaron contra cDNAs correspondientes a proteínas que se expresan en hígado (albúmina, transferrina, etc.). Se muestra una autorradiografía con los resultados. ¿Qué nos dice este simple experimento?

Figura 3
Ejemplos de fenotipos celulares

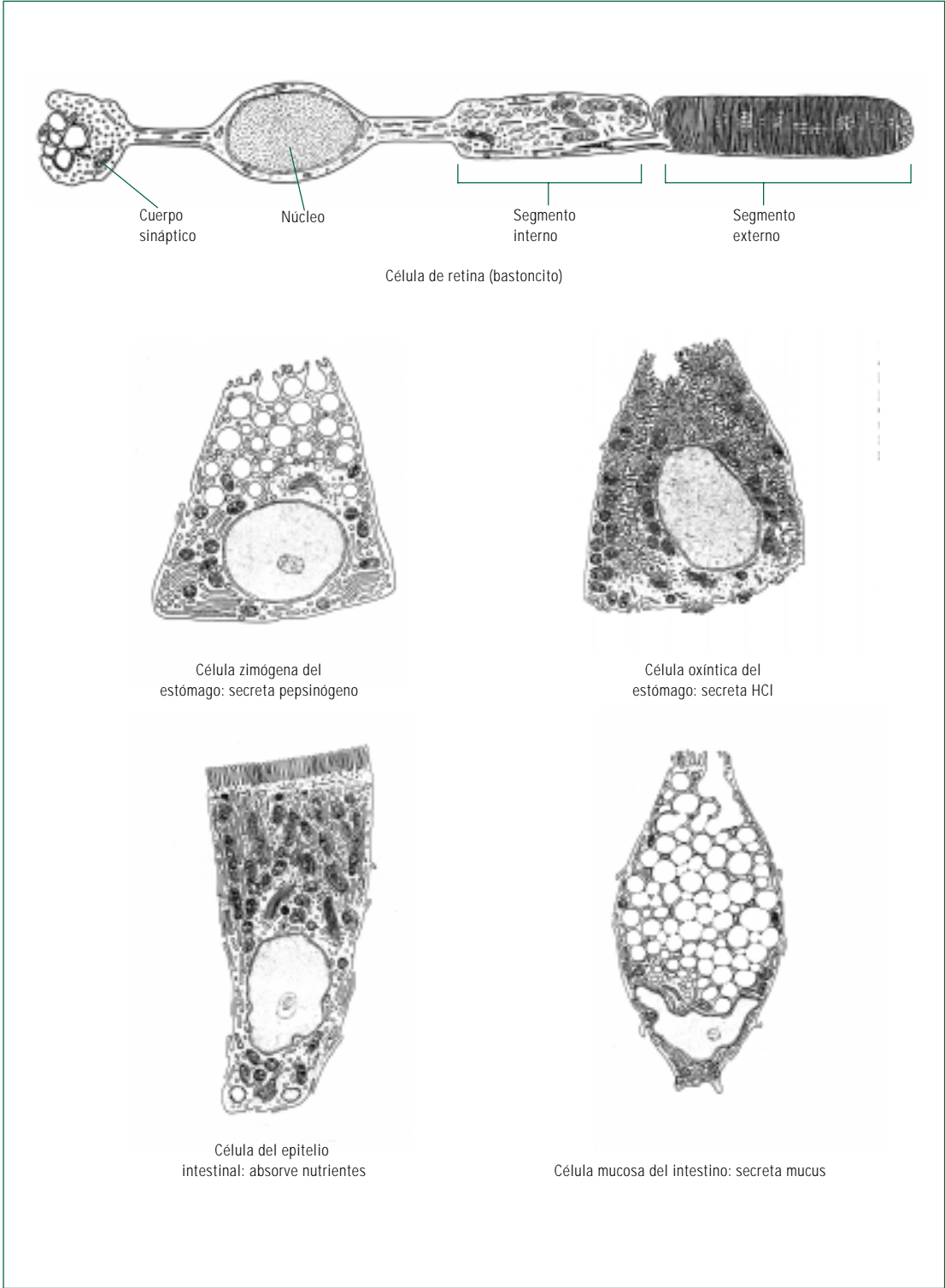
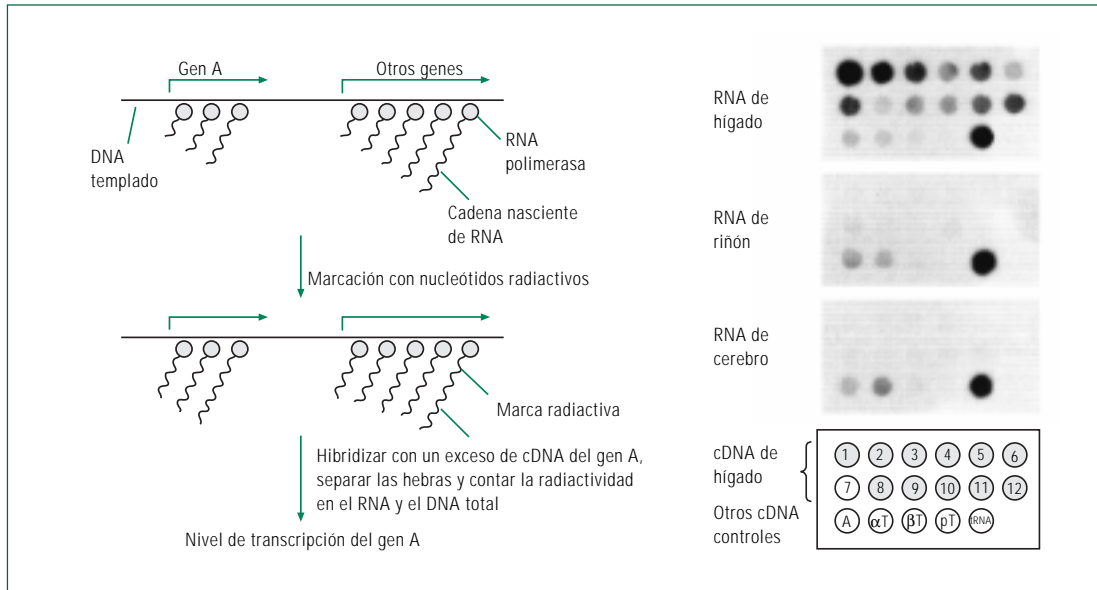


Figura 4

La detección de RNA transcritos muestra diferencias en la expresión génica en distintos tipos de célula



INDICACIONES AL DOCENTE

La finalidad de esta actividad es que los estudiantes apliquen sus conocimientos previos y lleguen a la conclusión que la composición proteica de las células debe ser distinta y que esto tiene que sustentarse en la expresión de un conjunto de genes distintos, según el fenotipo. Deben apreciar que las células especializadas tienen una morfología que las distingue y expresan proteínas involucradas en funciones bioquímicas particulares relacionadas con funciones particulares de cada tipo celular.

Además, la actividad se presta para que los estudiantes especulen sobre dos aspectos ¿Cómo es que a partir de una célula se generan más de un ciento de fenotipos diferentes en el organismo? ¿Cómo es posible que en un mismo genoma algunos genes se encuentren apagados mientras otros se expresan activamente? ¿Qué eventos van ocurriendo para diferenciar las células durante el desarrollo?

En este momento, una discusión sobre estas preguntas tiene por objeto sólo establecer los problemas que deberían aclararse para entender el proceso de diferenciación, que aún se mantiene incógnito en su mayor parte. El resultado de la diferenciación es una diferencia cuantitativa y cualitativa en la expresión de genes distintos, controlada en su mayor parte a nivel de la transcripción.

Mostrar ahora la figura del experimento sobre la síntesis diferencial de distintos RNA mensajeros en distintos tejidos. Explicar que durante la incubación de núcleos con el precursor radiactivo del RNA se transcriben alrededor de 300-500 nucleótidos, tal como se ilustra en el esquema. El RNA marcado radioactivamente durante la transcripción es luego capturado por hibridación con el DNA clonado (cDNA) de un gen específico. Así se puede saber el nivel de transcripción comparativamente con otros genes. Explicar brevemente en qué consiste la hibridación recordando el concepto de complementariedad entre una hebra de DNA y el RNA que se produce durante la transcripción. Como se puede apreciar en la autorradiografía, los RNA transcritos por el núcleo de células hepáticas pero no los de otros tejidos hibridizan con los cDNA que codifican proteínas que se encuentran en el hígado.

Con este experimento se introducen dos conceptos importantes: a) las diferentes células expresan diferentes genes; b) debe haber control de la transcripción. Explicar aquí que la mayor parte de la regulación de la expresión génica ocurre a nivel transcripcional. Esto se verá con mayor detalle en la Unidad 2. Esta actividad también ofrece la oportunidad para que los estudiantes apliquen sus conocimientos en la interpretación de experimentos y aprecien cómo se utilizan ciertas técnicas basadas en el conocimiento básico sobre la estructura del DNA y la expresión de la información contenida en los genes. Es importante que reconozcan el conocimiento básico previo que es necesario tener para diseñar un experimento como este.

Durante el desarrollo, las células responden a los cambios que se producen en las señales de comunicación entre células y en las interacciones entre células cambiando sus patrones de expresión de genes. Vemos que se forman órganos con conjuntos de células que cumplen funciones similares. Esto lleva a preguntarse: ¿Cómo se relacionan los eventos que ocurren en la superficie celular con la transcripción que ocurre en el núcleo? ¿Cómo se reconocen entre sí las células para formar órganos?

Estas preguntas se irán desarrollando en las actividades siguientes. Aquí plantear solamente el problema y sus bases generales para buscar posibles soluciones. Por ejemplo, los estudiantes serán capaces de plantear que deben existir receptores de señales en la superficie celular que se conectan funcionalmente con el núcleo y elementos de regulación de la transcripción que responden a esas señales. También deberían proponer que existen moléculas de adhesión entre células que forman órganos.

Actividad 3

Examinar modelos de diferenciación celular.

Ejemplo El docente presenta modelos de diferenciación celular conocidos, tal como el del músculo esquelético, para ilustrar conceptos básicos de la diferenciación celular.

Figura 5
Etapas básicas en el desarrollo del músculo esquelético

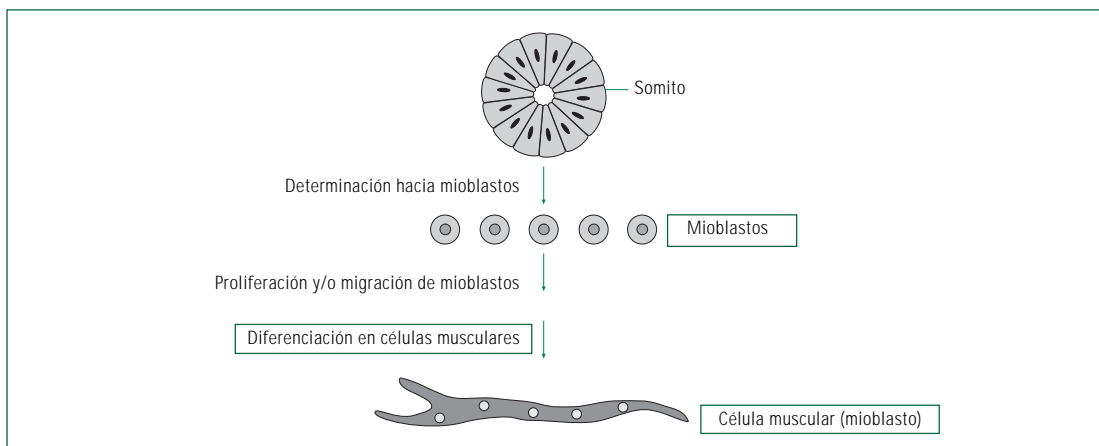
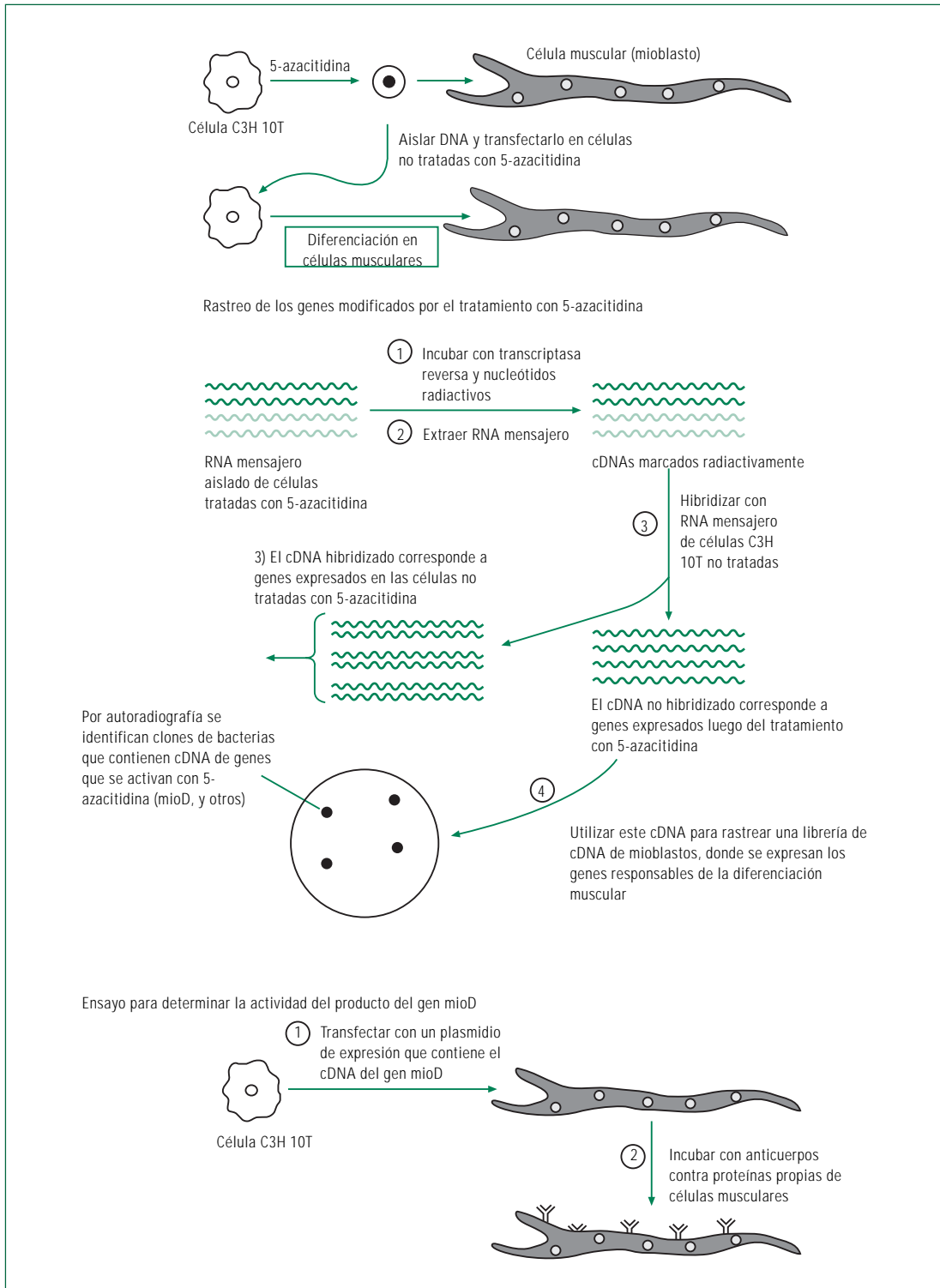


Figura 6
Descubriendo los genes que dirigen la diferenciación del músculo esquelético



INDICACIONES AL DOCENTE

Es importante destacar primero que, aunque no se entiende el proceso completo de la diferenciación para ningún tipo celular, existen modelos de estudio, tales como el de músculo esquelético en mamíferos, que han revelado algunos principios básicos que permiten intuir la existencia de procesos similares en otros sistemas celulares. El objetivo general de esta actividad es mostrar cómo el estudio de los programas de diferenciación y desarrollo de órganos en distintos organismos han mostrado que dependen de combinaciones de factores que regulan la expresión de genes específicos de una manera sensible a las interacciones de las células con el medio. Estas interacciones involucran a señales y receptores de señales producidas por otras células del entorno.

Acerca de los ejemplos que representan las figuras explicar lo siguiente:

En mamíferos, la miogénesis esquelética procede a través de tres estados, representados en la figura. En el primer estadio, surgen los mioblastos a partir de bloques de células mesodérmicas llamadas somitos, que se encuentran a ambos lados del tubo neural en el embrión. Los somitos también dan origen al esqueleto y al tejido conectivo de la piel. Señales específicas provenientes del tubo neural y del ectoderma lateral juegan un papel importante en determinar la formación de los mioblastos en los somitos.

Los mioblastos ya están determinados a formar músculo pero aún no se han diferenciado. Si se cultivan fuera del embrión se las puede hacer diferenciarse en músculo esquelético. En el embrión, un subconjunto de los mioblastos reciben señales transitorias que los hacen migrar hacia otras regiones donde terminan formando los músculos de las extremidades. Otros mioblastos no migran y se quedan en la región dorsal del embrión donde forman los músculos del tronco.

En la región donde se formarán las extremidades se alinean los mioblastos que migraron, dejan de proliferar y se fusionan entre ellos para formar un sincicio (una célula que contiene múltiples núcleos) que finalmente se diferencia en músculo. Esta célula de músculo esquelético multinucleada se llama miotubo. Concomitantemente con la fusión celular se produce un dramático incremento en la expresión de las genes necesarios para la formación y función del músculo.

El ejemplo muestra que una subclase de células de los somitos deben haber recibido señales que las indujo a migrar y luego a expresar genes importantes para dirigir la diferenciación hacia células musculares. El hecho que la diferenciación ocurre en un sitio específico del embrión aun cuando las células ya están determinadas a la diferenciación indica que existen factores que impiden que el proceso ocurra en un lugar inadecuado.

Entre los genes que se han descubierto como importantes para dirigir el proceso de diferenciación están los llamados mioD y miogenina que codifican proteínas capaces de regular la expresión de genes de actina, miosina, y otros genes importantes en el fenotipo muscular esquelético.

En la figura se ilustra el tipo de experimento que llevó a descubrir los genes involucrados en la diferenciación. La línea celular fibroblástica llamada C3H 10T1/2 puede convertirse en célula muscular cuando se incuba con un inhibidor de la metilación del DNA, la 5-azacitidina. En este proceso, las células cambian de forma y se hacen contráctiles. Esto se puede observar en el microscopio de luz.

Es necesario explicar que ciertas enzimas llamadas metilasas son capaces de introducir un grupo metilo en la citosina del DNA y que esta modificación es un mecanismo general para impedir la expresión de genes. Las regiones del DNA donde la transcripción es escasa tienen mayor contenido de citosina metilada. En el experimento, la 5-azacitidina inhibe la metilación del DNA y por lo

tanto los genes que antes se encontraban apagados por la metilación ahora se activan. En estas condiciones los fibroblastos se convierten en células musculares. Estos hechos proveen un modelo para buscar los genes que se activaron.

En la figura se ilustran las etapas de un procedimiento para detectar los genes involucrados en la diferenciación. Primero, se observó que el DNA de la célula tratada con 5-azacitidina (que se llamó azamioblasto) era capaz de inducir la diferenciación cuando se introducía en fibroblastos no tratados con el inhibidor de la metilación del DNA. Luego, se realizó un experimento para detectar los RNAm expresados adicionalmente en los fibroblastos tratados con 5-azacitidina. El procedimiento consiste en generar cDNA a partir de los RNAm mediante transcripción reversa. Estos cDNA se hibridizan con los RNAm de las células no tratadas de manera que sólo los cDNAs correspondientes a los genes que se expresan después del tratamiento quedan sin hibridizar y se pueden utilizar para rastrear una librería de cDNAs de mioblastos. Una vez aislados los cDNAs de los mioblastos se procedió a probarlos en ensayos de diferenciación, transfectándolos en los fibroblastos. Como se observa en la figura, la transfección provoca la diferenciación de éstas células en mioblastos, indicando que el cDNA transfectado codifica para una proteína importante en la regulación del proceso de diferenciación, que en este caso se llamó mio-D. De manera parecida se han identificado y clonado otros genes importantes para esta diferenciación.

Actividad 4

Analizar experimentos de modelos de diferenciación y organogénesis que ilustren la importancia de la comunicación intercelular (fenómeno de la inducción).

Ejemplo Presentar los ejemplos de inducción de la diferenciación del lente ocular y luego del desarrollo renal, utilizando figuras como las siguientes.

Figura 7
Inducción del desarrollo del ojo de vertebrados

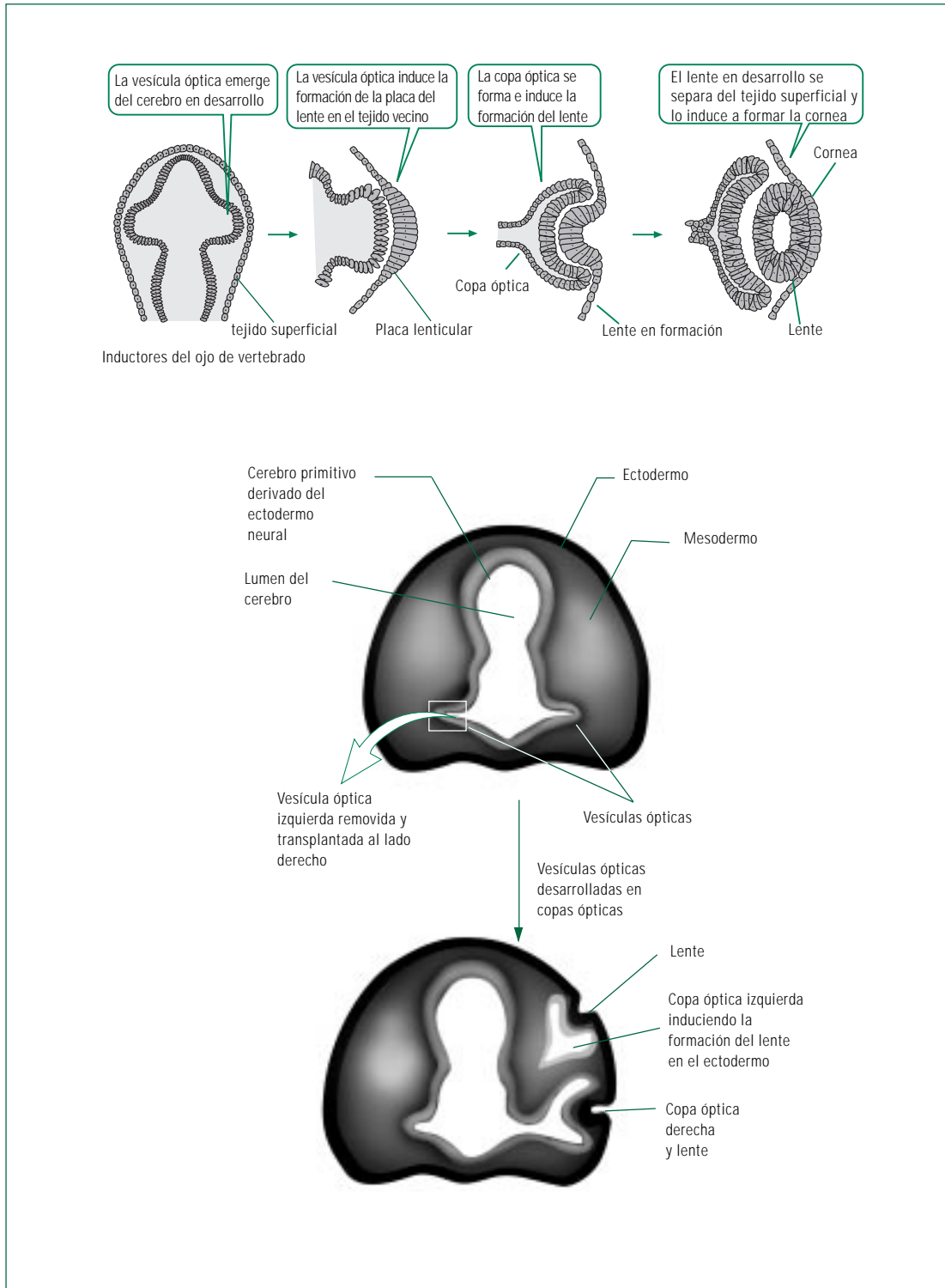
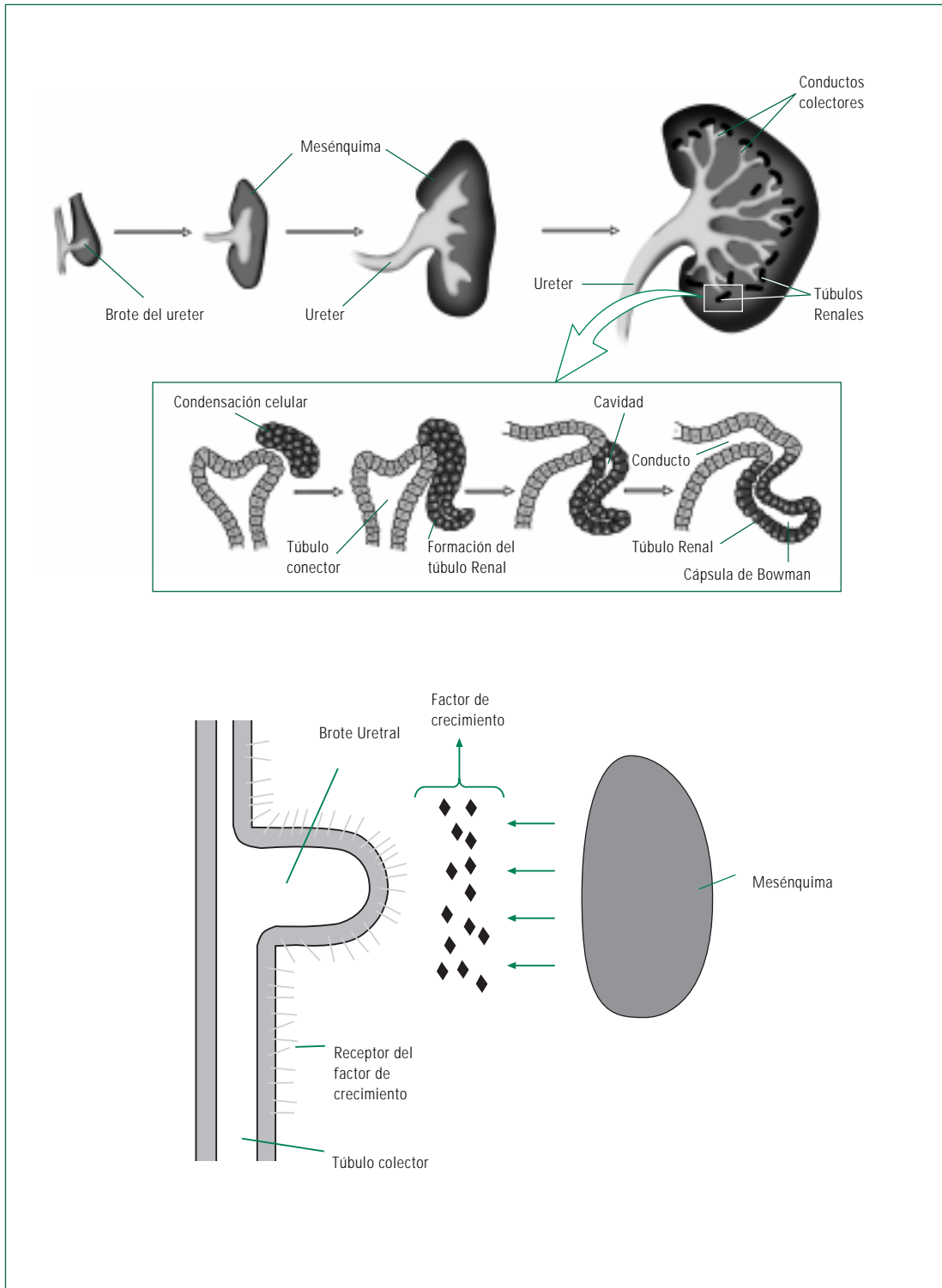


Figura 8
Inducción recíproca en la diferenciación de células renales



INDICACIONES AL DOCENTE

La importancia de las interacciones celulares locales en el desarrollo se puede apreciar en el experimento de trasplante del primordio óptico (conjunto de células que darán origen al ojo) hacia un sitio en el ectodermo que normalmente no da origen al lente del ojo. El trasplante induce en esa zona ectópica la formación del lente en las células del ectodermo. Se denomina inducción al proceso por el cual una población de células influencia el desarrollo de células vecinas. Esto se debe a señales producidas por unas células e interpretadas por otras. Entre las señales se encuentran factores de crecimiento, tales como la familia del factor de crecimiento transformante beta que participa en el desarrollo tanto de invertebrados como de vertebrados. Estos factores promueven la producción de moléculas de adhesión celular, de otros factores de crecimiento y de moléculas de la matriz extracelular, que serán estudiados más adelante.

Las interacciones entre células cumplen un papel crucial en el desarrollo de órganos internos, tales como riñón, pulmón y páncreas. En el ejemplo de la figura, se presenta el caso del riñón como ejemplo donde ocurren interacciones recíprocas que inducen diferenciación entre diferentes células. Es un ejemplo de comunicación entre células, un verdadero diálogo en que las señales de unas células inducen a las otras células a producir otras señales, frente a las cuales responden ahora las primeras células.

Recordar que un epitelio es una capa continua de células cuya superficie se encuentra dividida en dos regiones. Una región apical y una basolateral separadas por las uniones estrechas, que impiden el flujo de iones y la difusión de las distintas proteínas que se encuentran en estas dos regiones. Las células epiteliales derivan de una de las tres capas germinales, ya sea del ectodermo, mesodermo o endodermo. En contraste, el mesénquima contiene células asociadas más laxamente y no polarizadas, que derivan ya sea del mesodermo o ectodermo. La formación de órganos como el riñón, intestino, páncreas y pulmón es regulado por las interacciones entre las células epiteliales y las mesenquimáticas. Estas interacciones incluyen una serie de eventos de inducción recíproca.

En el ejemplo, las células del mesénquima inducen la formación de ramificaciones en las células epiteliales del brote uretral que se diferencian en los túbulos colectores del riñón. A su vez el epitelio de los túbulos colectores induce a las células mesenquimáticas a formar, primero, una condensación celular, que luego deriva en células epiteliales que darán origen a los túbulos proximales y distales y también al glomérulo. En estos procesos de morfogénesis renal participan un gran número de señales solubles, incluyendo proteínas de la familia del factor de crecimiento transformante beta, y también señales ancladas a la superficie celular (integrinas; ver más adelante). Algunas señales son expresadas por el epitelio mientras otras son producidas por las células del mesénquima. También participan receptores específicos de estas señales.

En resumen, explicar que ciertas señales extracelulares transitorias son capaces de inducir un programa de diferenciación célula-específico que incluye la expresión de factores capaces de regular la expresión de genes específicos mientras otras señales lo inhiben de manera que ocurra en el tiempo adecuado.

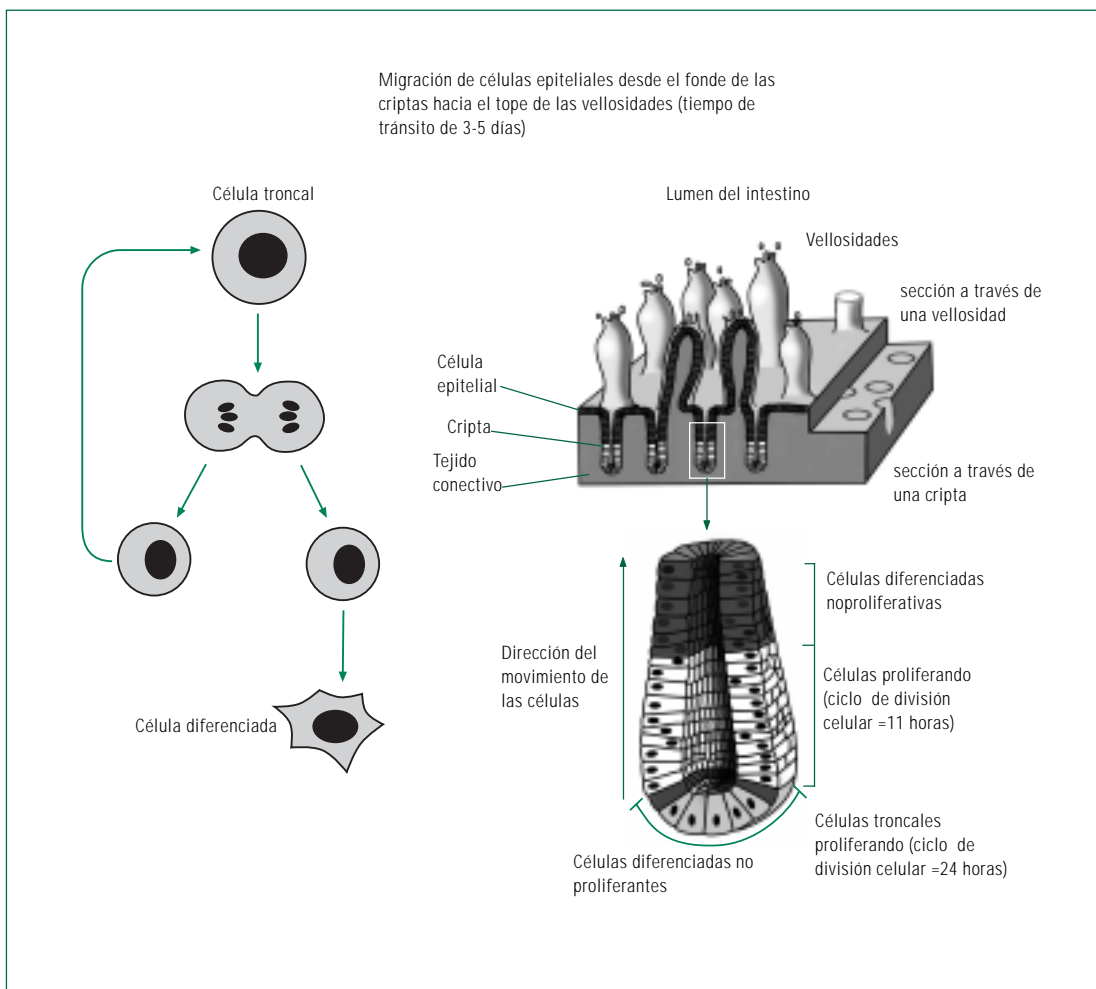
Cómo se interpretan las señales y qué son los factores de transcripción serán motivo de estudio más adelante. Por ahora es importante crear la motivación para estudiar los sistemas de señalización entre células, las relaciones de las células con su entorno y con otras células y luego los mecanismos básicos de regulación de la expresión génica.

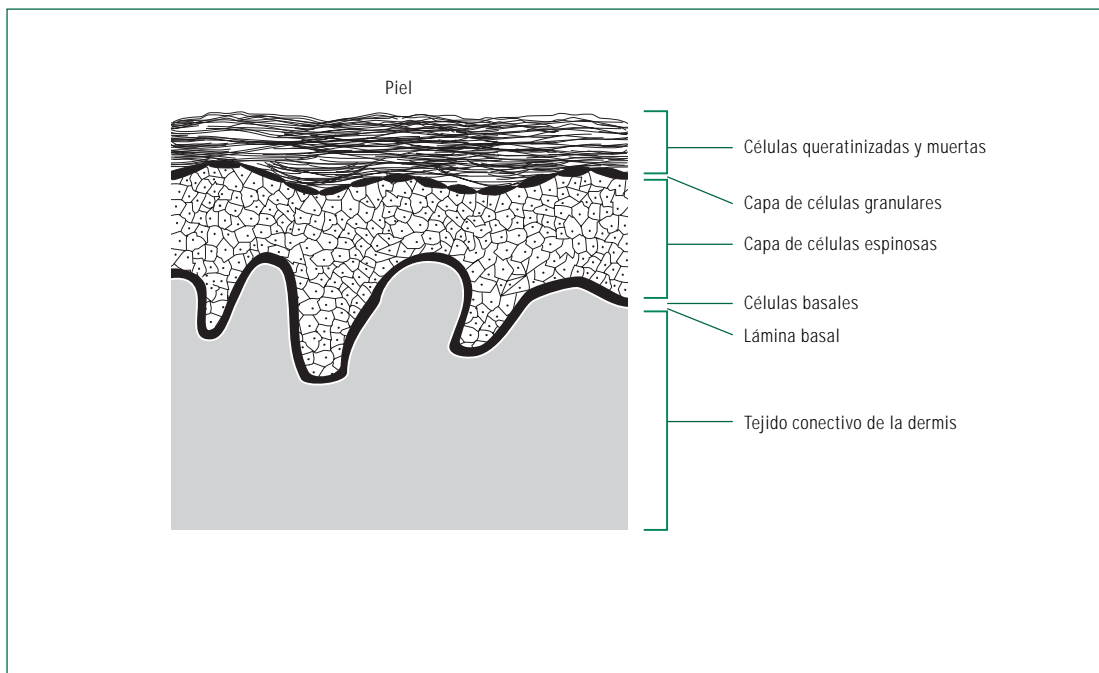
Actividad 5

Examinar la diferenciación de células troncales y su importancia en la mantención de distintos tejidos. Investigar sobre las llamadas células troncales embrionarias humanas y su potencial uso en medicina.

Ejemplo Mostrar ejemplos que ilustren el concepto de célula troncal, tales como los del intestino y la piel. Los estudiantes deben luego realizar una investigación en internet y otras fuentes sobre los diversos aspectos que están en discusión acerca del uso de las células troncales embrionarias en medicina. Los resultados de la investigación se presentan en un debate con diferentes ejemplos.

Figura 9
Células troncales y su papel en la mantención de tejidos





INDICACIONES AL DOCENTE

Esta actividad tiene como objetivo introducir a los estudiantes al concepto de células troncales que se diferencian en células de tejidos específicos. En algunos tejidos, como el hígado, frente a daño traumático o por drogas se producen células diferenciadas de reemplazo por simple proliferación de células previamente diferenciadas que generan células hijas del mismo tipo. Sin embargo, en muchos otros tejidos adultos, donde hay continuamente un recambio de células, las nuevas células diferenciadas de reemplazo se generan continuamente a partir de células troncales aparentemente no-diferenciadas. En la figura, se ilustran ejemplos de tejidos donde esto ocurre. En el intestino, las células troncales no diferenciadas se encuentran en el fondo de las criptas. Cuando estas células se diferencian, empiezan a migrar hacia las criptas, reemplazando a las células que mueren al terminar su ciclo de vida en la punta de las criptas. Las células muertas son eliminadas al lumen intestinal. En el caso de la epidermis, las células troncales se encuentran en la base del epitelio.

Las características de las células troncales son: 1) No se encuentran diferenciadas completamente sino que están determinadas a diferenciarse en un cierto linaje; 2) pueden dividirse sin límites; 3) cuando se dividen, cada célula hija tiene dos opciones: puede permanecer como célula troncal o puede entrar en un proceso que la lleva a diferenciarse de manera terminal e irreversible.

Se requieren células troncales en los tejidos donde existe una necesidad recurrente de reemplazo de células diferenciadas que no tienen la capacidad de dividirse. En muchos tejidos, la condición de diferenciación completa es incompatible con la división celular.

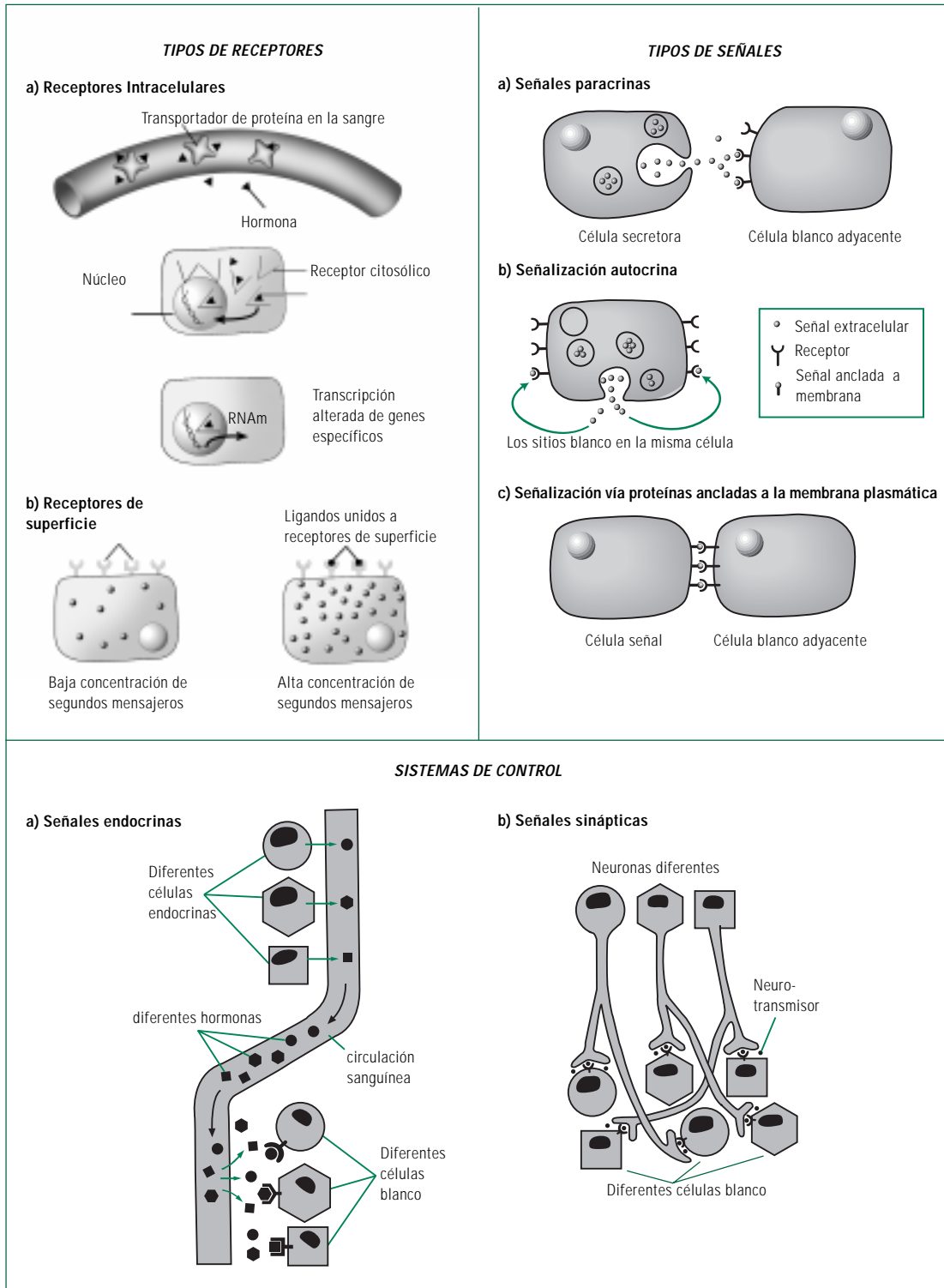
Receptores y transducción de señales

Actividad 1

Distinguir las propiedades de los distintos sistemas de comunicación celular en relación a funciones que cumplen en organismos multicelulares, reconociendo semejanzas y diferencias.

Ejemplo El docente propone examinar procesos que requieren señales entre células, tales como la secreción de enzimas en el sistema digestivo, la contracción muscular, la respuesta inmune. Luego estimula a los estudiantes para que distingan los elementos comunes y los ilustren esquemáticamente. Los estudiantes recuperan conocimiento sobre el sistema nervioso y el endocrino y los analizan como formas de comunicación celular, contrastándolos con la regulación paracrina y autocrina y la señalización vía contactos intercelulares directos. Las figuras siguientes sirven para ilustrar diversos aspectos del tema. Preguntar sobre los elementos comunes que se pueden distinguir en los distintos sistemas de comunicación.

Figura 10
Sistemas de comunicación celular



INDICACIONES AL DOCENTE

Enfatizar los siguientes conceptos generales. Ninguna célula vive en el aislamiento. En un organismo multicelular existen mecanismos muy elaborados de transmisión e interpretación de señales que permiten una coordinación de la actividad celular en beneficio del organismo como un todo. Las señales intercelulares son interpretadas por una maquinaria compleja en la célula que responde a ellas. Esto permite a cada célula comportarse de una manera particular y altamente regulada, que depende de su posición y especialización en el organismo. La sobrevivencia del organismo depende crucialmente de una red de comunicación intercelular que coordina el crecimiento, la diferenciación y el metabolismo de la multitud de células que componen los diversos tejidos y órganos. Por ejemplo, cada célula se divide sólo en respuesta a señales que recibe de otras células. La importancia de este comportamiento socialmente controlado se hace claramente aparente cuando al fallar se produce un crecimiento celular anormal que resulta en cáncer y muerte del organismo.

Las células se comunican mediante moléculas-señales que son sintetizadas y liberadas al medio, pero también se comunican por señales de contacto directo. Además, el contacto de la célula con la matriz extracelular también genera respuestas en las células.

Sólo las células que poseen receptores para estas señales responden. Las señales pueden estar constituidas por diversos tipos de moléculas, tales como proteínas, pequeños péptidos, aminoácidos, nucleótidos, esteroides, retinoides, o derivados de ácidos grasos. También pueden ser gases disueltos, tales como óxido nítrico y monóxido de carbono. Muchas de estas moléculas son secretadas por exocitosis mientras otras difunden a través de la membrana plasmática.

La célula que responde a una señal particular de otra célula lo hace a través de una proteína llamada receptor, que interacciona específicamente con la molécula señal e inicia una respuesta. En muchos casos los receptores de señales son proteínas que se encuentran insertadas en la membrana plasmática y la atraviesan (proteínas de transmembrana). Cuando se unen a la molécula señal (ligando) en el extracelular se activan y generan una cascada de señales intracelulares que modifican la estructura de numerosos elementos celulares y finalmente el comportamiento de la célula. En algunos casos, los receptores se encuentran en el interior de la célula y por lo tanto las moléculas señales deben entrar primero a la célula para activarlos. En estos casos, las moléculas señales deben ser suficientemente pequeñas e hidrofóbicas como para difundir a través de la membrana plasmática. Las moléculas señales secretadas participan en diversas formas de señalización: sináptica, endocrina, paracrina y autocrina. También existe comunicación directa por adhesión célula-célula.

Cuando las señales secretadas por una célula afectan sólo las células en el ambiente local el proceso de comunicación se llama paracrino. En este caso la señal no difunde lejos de la célula que la produce sino que es rápidamente unida por la célula blanco o es destruida por enzimas extracelulares o queda inmovilizada en la matriz extracelular. Una variante es el caso de la regulación autocrina, en la cual la célula que secreta la señal puede autoestimularse porque también posee el receptor para esa señal. Estos tipos de comunicación celular son importantes durante el desarrollo y durante el control de la proliferación celular en la renovación y reparación de tejidos pero no es suficiente para lograr coordinar el comportamiento de un organismo multicelular complejo.

Los estudiantes podrán recordar que en los organismos complejos existen conjuntos de células especializadas que tienen papeles específicos en la señalización entre partes remotas del organismo. Las más sofisticadas de estas células son las células nerviosas que se comunican a distancia gracias a sus largos procesos celulares (axones) por los que transcurren los impulsos nerviosos que finalmente

estimulan la secreción del neurotransmisor en la terminal sináptica. Las otras células especializadas en la señalización que coordina la actividad de células remotas del organismos son las células endocrinas. Como las señales de estas células se transmiten a través de la difusión y del flujo sanguíneo, la comunicación endocrina es más lenta e imprecisa que la nerviosa.

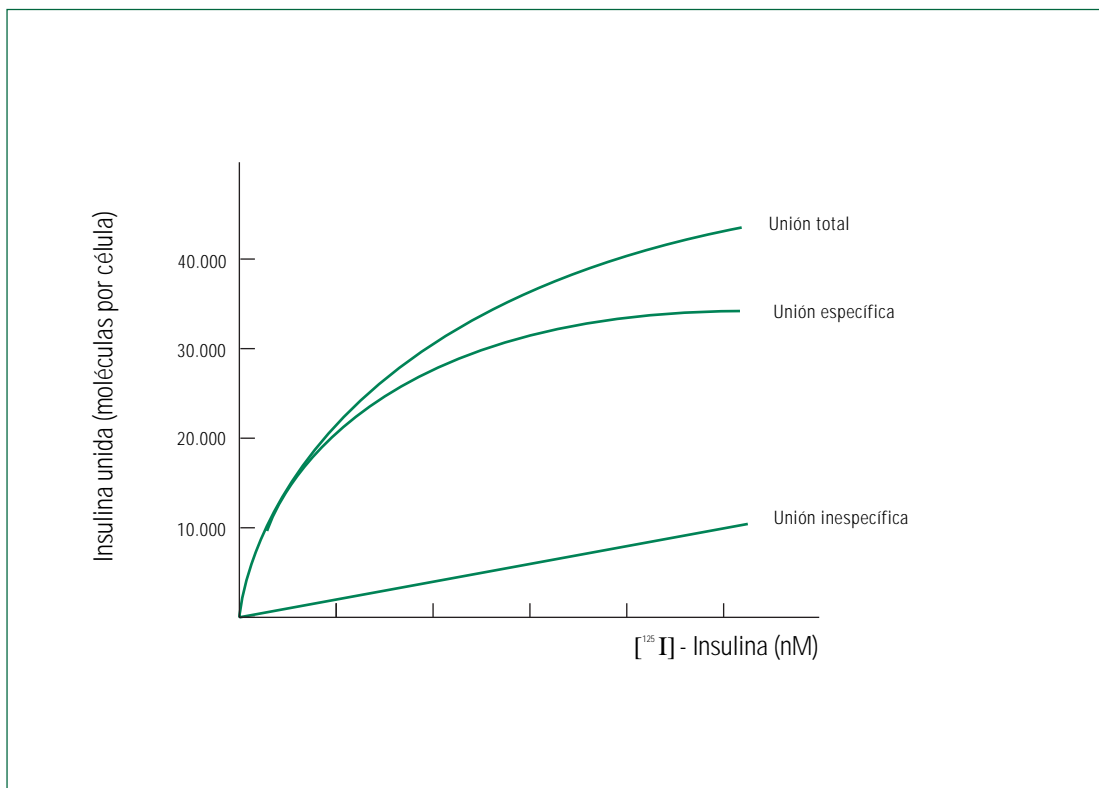
Es importante destacar en este momento que la interacción de un receptor con una hormona gatilla respuestas celulares que involucran la acción de muchas otras proteínas, por ejemplo para generar movimiento o secreción.

Actividad 2

Examinar y discutir el concepto de receptor.

Ejemplo Describir un experimento de unión de radioligando a células en cultivo mostrando los resultados en un gráfico de radioactividad unida en función de la concentración de radioligando. Los estudiantes interpretan el resultado.

Figura 11
Gráfico de unión de radioligando a receptores específicos



INDICACIONES AL DOCENTE

Para introducir el concepto de receptor utilizar la curva de unión de la insulina y preguntar: ¿Cómo se puede explicar la forma de la curva? El experimento consiste en detectar la unión de insulina marcada con el radioisótopo ^{125}I a la superficie de células en cultivo. Los estudiantes deben ser capaces de inferir que ocurre una saturación de los sitios de unión a cierta concentración del ligando.

Explicar que los receptores hormonales son difíciles de identificar y purificar porque se expresan en mínimas cantidades. La superficie de una célula generalmente contiene 10.000-20.000 receptores de un cierto tipo, lo cual representa cerca de 10^{-6} del total de proteínas en la célula y 10^{-4} del total de proteínas de la membrana plasmática. Como se ve en la curva, los receptores se pueden detectar por su propiedad de unir ligandos radioactivos.

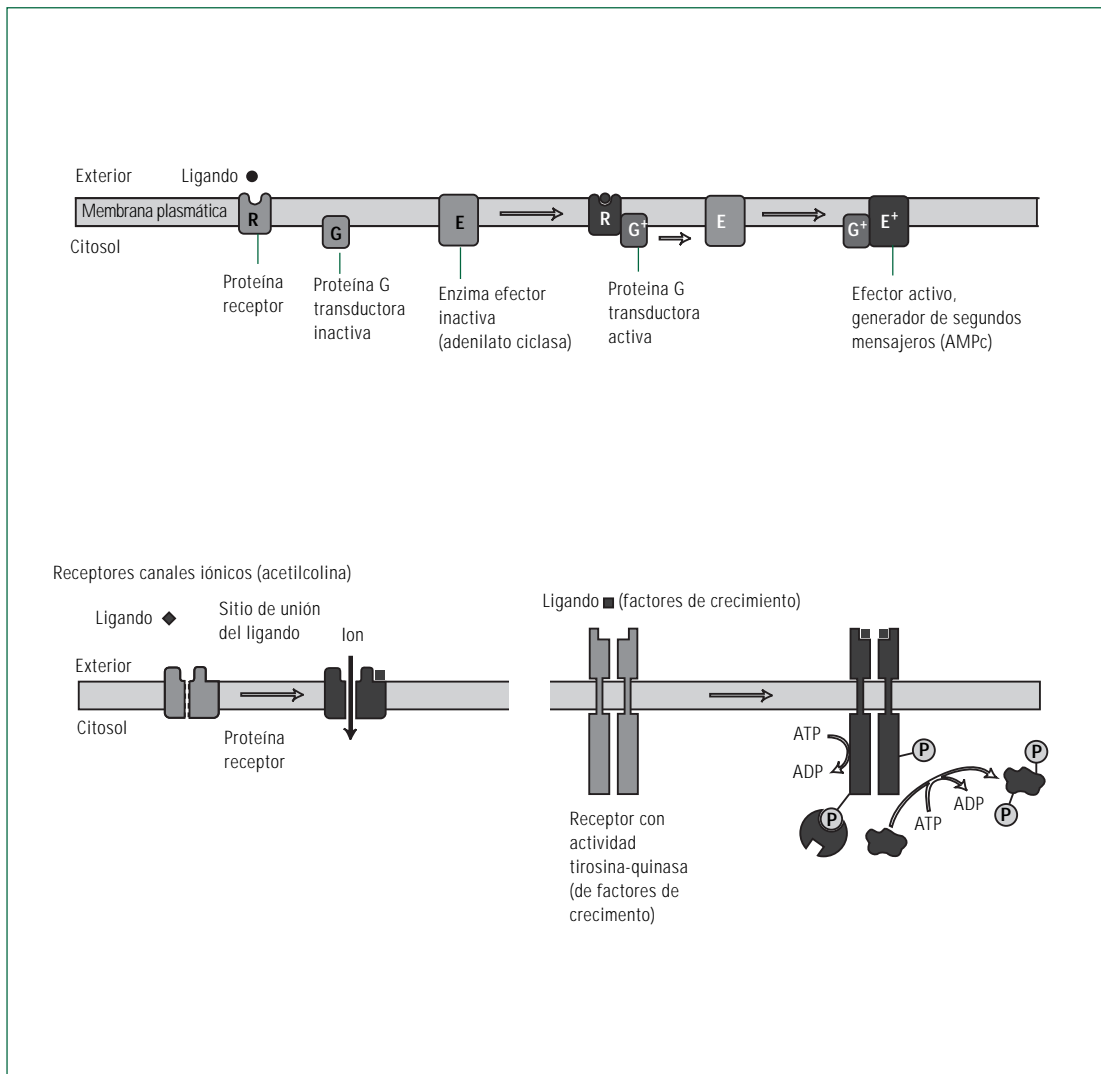
En el experimento, la mayor parte de la hormona radioactiva se une específicamente a sus receptores, pero también una parte se une inespecíficamente a diversas otras proteínas y lípidos en la superficie celular. ¿Cómo se puede determinar la fracción de hormona unida inespecíficamente? Esto se puede estimar realizando el experimento de unión de radioligando en presencia de un exceso de hormona no radioactiva, con el fin de saturar los receptores específicos (de alta afinidad) y evitar que se unan a ellos la hormona radioactiva. En estas condiciones, la radioactividad que se detecta corresponde sólo a la unión inespecífica, de baja afinidad, cuyos sitios son prácticamente infinitos en las condiciones del experimento, y por lo tanto no saturables. La unión específica se calcula sustrayendo del total lo unido en presencia del ligando frío. A las mismas concentraciones de ligando radioactivo, la unión inespecífica es mucho menor que la específica debida a los receptores. Esto se debe a que los sitios de unión inespecífica tienen baja afinidad por el ligando comparativamente con los receptores específicos. Para ilustrar la unión inespecífica se puede mostrar lo que ocurre al poner la mano húmeda sobre tiza en polvo.

Actividad 3

Informarse sobre los distintos tipos de receptores y los mecanismos de transducción de señales.

Ejemplo Plantear las siguientes preguntas: ¿Cómo se interpretan las distintas señales? ¿Qué significa una señal y una respuesta celular al nivel molecular? Utilizar la siguiente secuencia de figuras para discutir las respuestas a estas preguntas y explicar el concepto de transducción de señales.

Figura 12
Tipos de receptores



INDICACIONES AL DOCENTE

La respuesta celular a las señales puede involucrar cambios en la expresión génica, en la forma celular y en la movilidad celular. Es decir, cambia el comportamiento celular.

Transducción de señales es el proceso por el cual una señal se convierte en una respuesta celular. La célula convierte un tipo de señal que le llega del exterior en otro que se transmite al intracelular, amplificándose el número de moléculas involucradas.

Las proteínas receptoras en la superficie celular se pueden agrupar en tres grandes grupos según el sistema de transducción de señales que utilizan: a) receptores-canales iónicos que se abren o cierran por unión del ligando; b) receptores asociados a proteínas que unen e hidrolizan GTP (GTPasas); c) receptores-enzimas que fosforilan o desfosforilan otras proteínas.

- a) Los receptores-canales iónicos unen un pequeño número de neurotransmisores que inducen transitoriamente su apertura o cierre y están involucrados en procesos de rápida señalización entre células excitables eléctricamente. Pertenecen a una familia de proteínas que atraviesan varias veces la membrana.
- b) Los receptores asociados a proteínas-G regulan indirectamente la actividad de una enzima o un canal en la membrana plasmática. Entre el receptor y la enzima o el canal se interpone una proteína que une e hidroliza GTP (proteína-GTPasa). Todos los receptores asociados a proteínas-GTPasas pertenecen a una familia de proteínas que atraviesan siete veces la membrana, y son las más abundantes. Incluyen la rodopsina y los receptores olfatorios. La activación de este tipo de receptores resulta en aumentos en la concentración intracelular de AMPc o calcio, que cumplen un papel de mensajeros intracelulares o segundos mensajeros. El AMPc y el calcio activan quinasas intracelulares que finalmente llevan a cambios en el comportamiento celular.
- c) Receptores-enzima poseen actividad enzimática que es activada por el ligando. La mayoría son proteínas que atraviesan sólo una vez la membrana y poseen un sitio extracelular para la unión del ligando y un dominio catalítico intracelular, que generalmente fosforila proteínas. En general estos son receptores para factores de crecimiento.

Actividad 4

Examinar los elementos comunes en distintos mecanismos de transducción de señales, con ejemplos de la fisiología.

Ejemplo Tomando en cuenta que los receptores se distinguen no sólo por el sitio de unión del ligando sino también por los eventos intracelulares que gatillan al activarse, el docente pregunta: ¿Cómo se gatillan las respuestas celulares a las distintas señales? ¿Existen elementos comunes en los distintos sistemas de señalización? En las siguientes imágenes se ilustran los principales tipos de cambios en las proteínas citosólicas. Luego de explicar estos modelos, los estudiantes se informan en la literatura e internet sobre ejemplos fisiológicos corrientes, tales como los mecanismos de transducción de señales de los receptores de insulina, acetilcolina, glucagón y factores de crecimiento.

Figura 13
Cambios en las proteínas intracelulares durante la transducción de señales

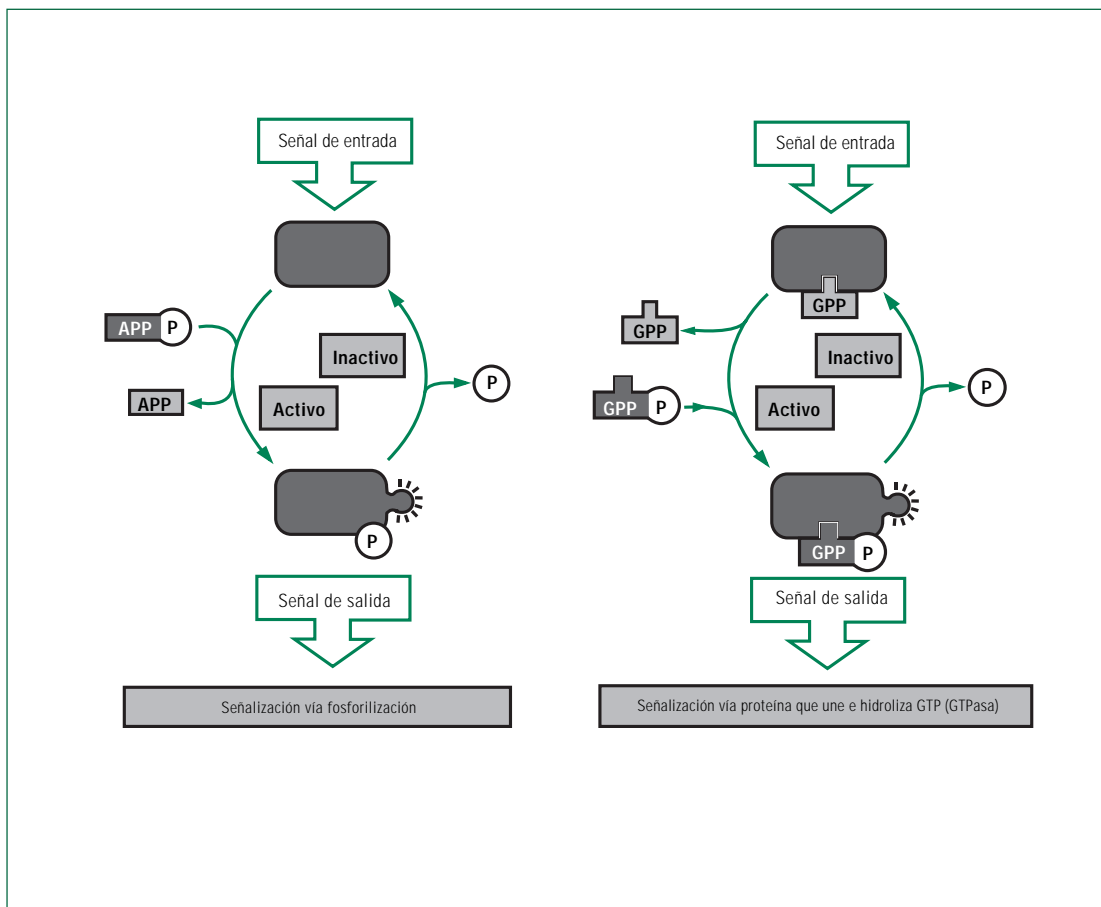
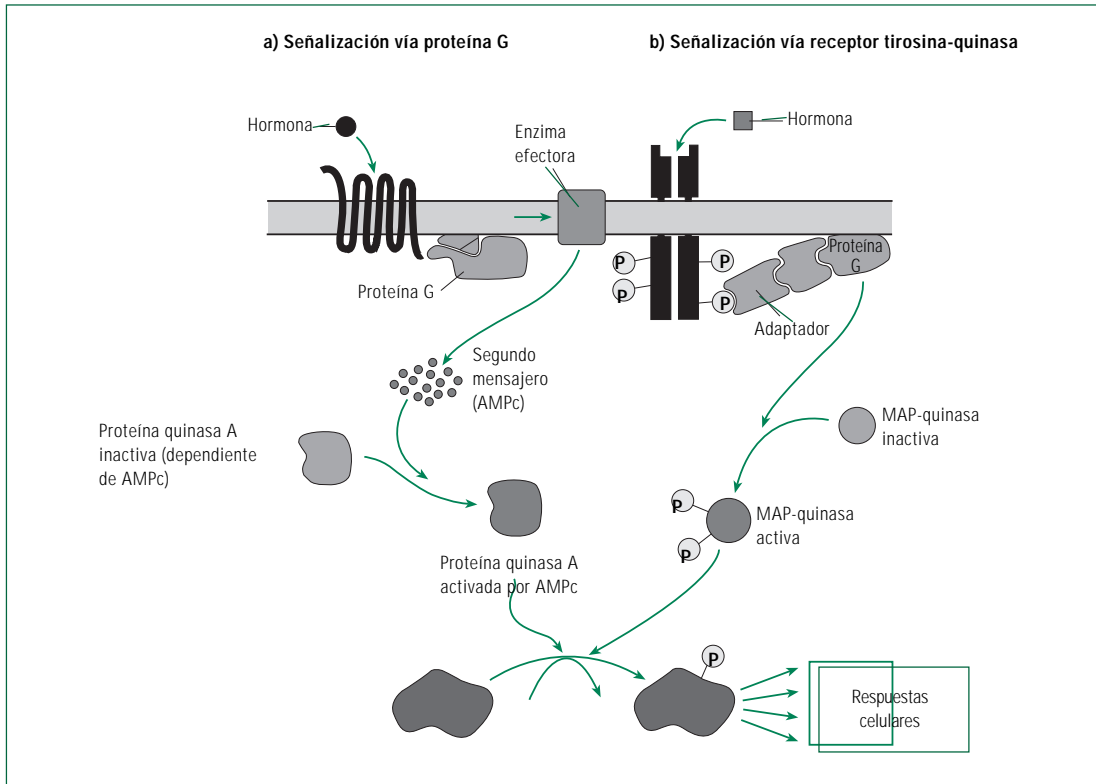


Figura 14
Ejemplos de transducción de señales vía proteínas quinasas para dos receptores distintos



INDICACIONES AL DOCENTE:

Se requiere la acción de varias proteínas asociadas a la membrana plasmática para que una señal hormonal gatille una respuesta en la célula. Las señales extracelulares se unen a receptores específicos e inducen en ellos cambios en su conformación. La única función del ligando parece ser la de cambiar las propiedades del receptor. Esto inicia una secuencia de reacciones que lleva a la respuesta celular. Las reacciones consisten en cambios en la forma de ciertas proteínas intracelulares provocados por fosforilación o por unión de GTP.

En el caso de los receptores asociados a proteínas-G se inducen cambios en la concentración intracelular de AMPc o calcio que actúan como señales internas (segundos mensajeros) para activar proteínas quinasas. En cambio los receptores-enzimas generalmente son quinasas reguladas desde el exterior de la célula e inducen directamente cambios en el estado de fosforilación de diversas proteínas intracelulares.

Un mismo receptor se puede encontrar en distintos tipos celulares y gatillar distintas repuestas según la especialidad de la célula. Por ejemplo, las células de músculo estriado y las células pancreáticas exocrinas expresan receptores de acetilcolina. ¿Qué efectos tiene la acetilcolina en estas células? En unas induce la contracción mientras en las otras gatilla la secreción. El sistema de transducción de señales es similar en ambos tipos de células. La respuesta está determinada por la estructura y organización celular, adaptada a la especialización celular.

Actividad 5

Relacionar la unión del ligando con una respuesta generaliza de la célula.

Ejemplo Discutir el problema siguiente: ¿Cómo es posible que la unión de una hormona a receptores específicos en la superficie celular, que representan una millonésima de fracción de las proteínas totales de la célula, gatille una respuesta celular global que involucra la participación de una gran proporción de proteínas celulares? Guiar la discusión utilizando las figuras siguientes para que se aprecie la necesidad de un sistema amplificador y que los estudiantes propongan la acción enzimática como la base para que esto ocurra.

Figura 15
Tipos de respuestas celulares a los estímulos

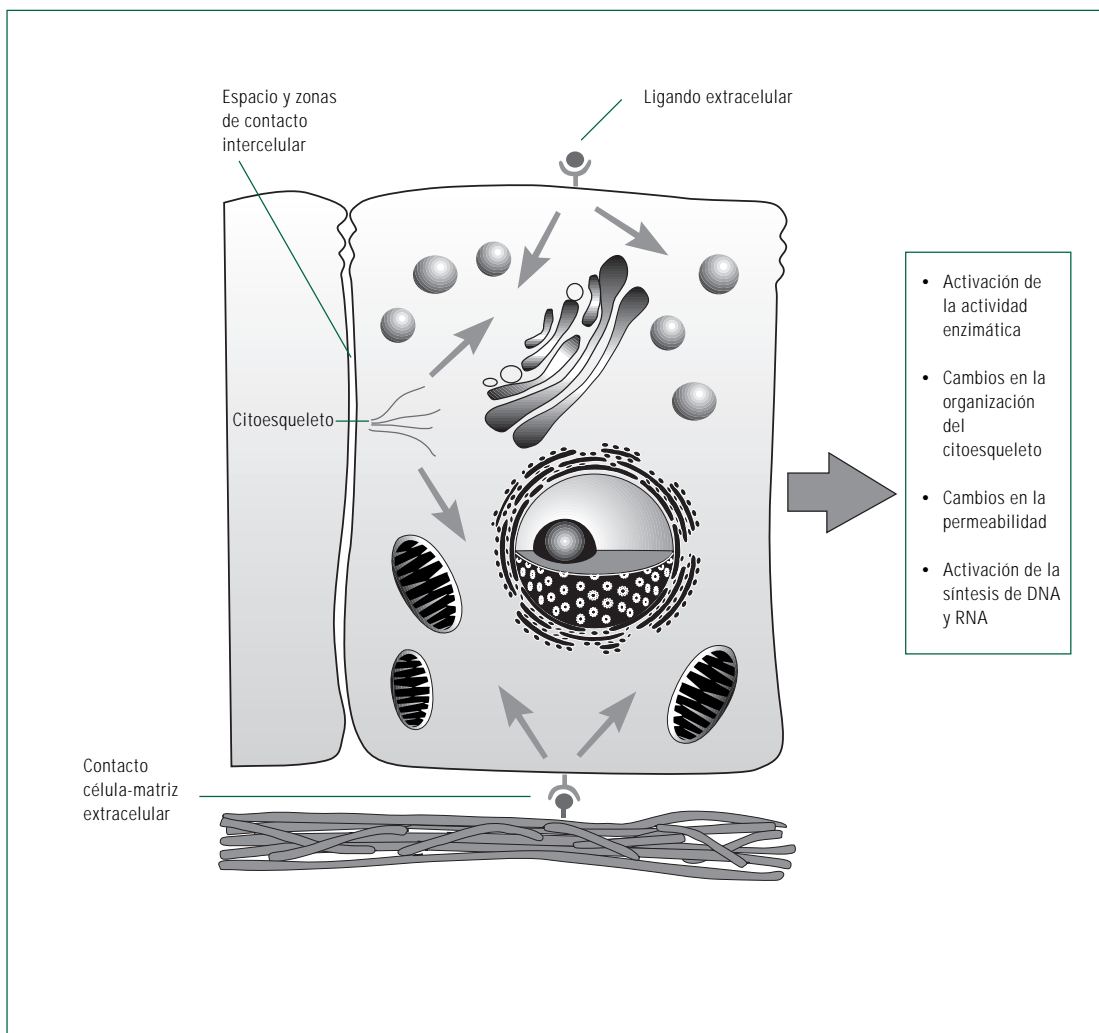
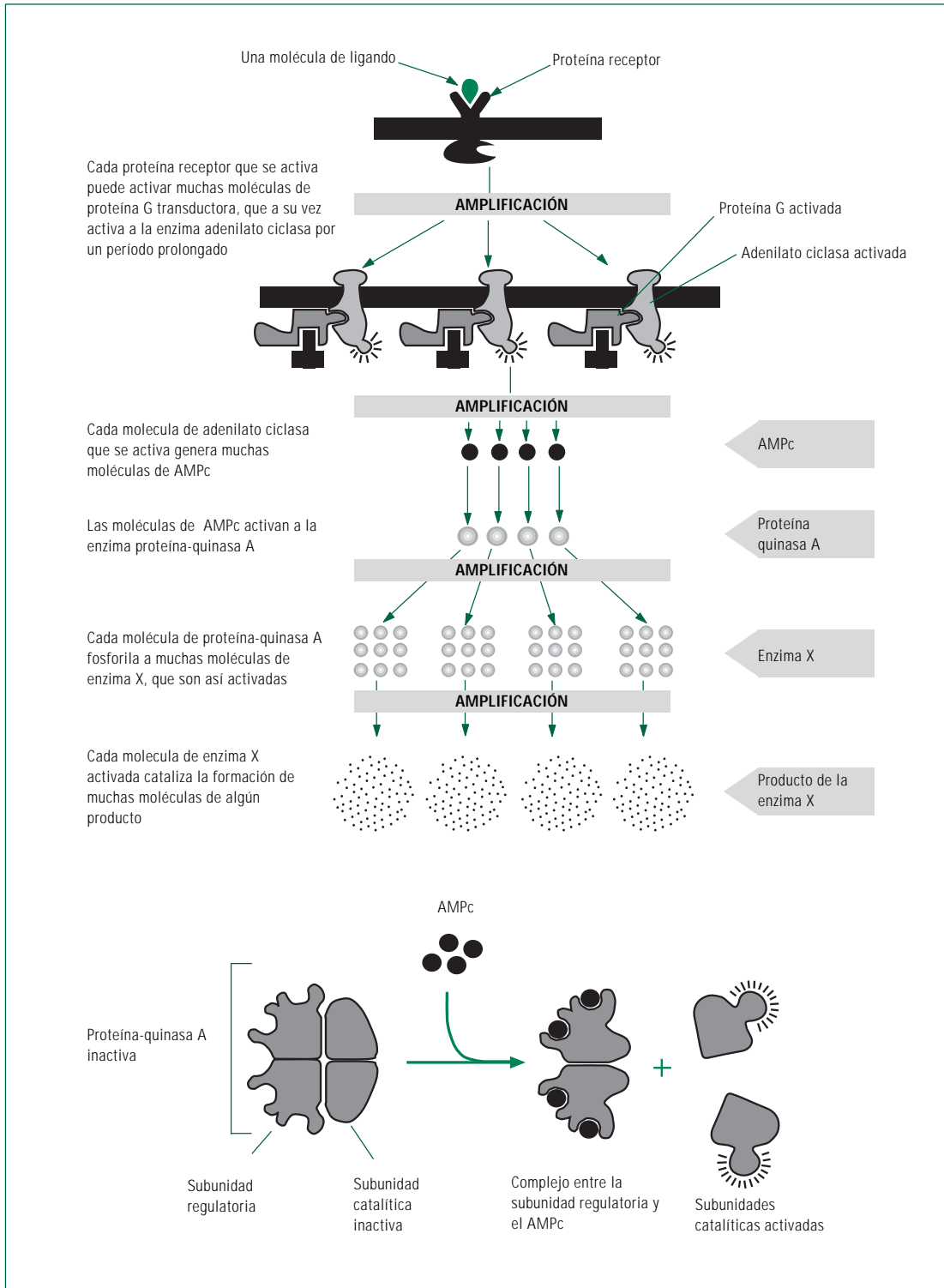


Figura 16
Amplificación de las señales intracelulares



INDICACIONES AL DOCENTE:

Preguntar ¿Por qué se requieren sistemas de amplificación de las señales para generar una respuesta celular? ¿Qué tipos de respuesta se pueden desencadenar en las células frente a distintos estímulos? **Mostrar** en el esquema que la señal inicial de unión de un ligando a su receptor es amplificada por enzimas que catalizan transformaciones en miles de moléculas. Se producen verdaderas cascadas de fosforilación intracelular que amplifican la señal inicial. En la figura se ilustra el caso de receptores que utilizan AMPc como segundo mensajero. Algo similar ocurre con receptores que inducen cambios en la concentración de calcio intracelular. El calcio también activa proteína quinasas específicas. **Explicar** que las células a menudo endocitan el complejo ligando-receptor y lo degradan en lisosomas como un mecanismo para terminar la respuesta a las señales de las otras células.

Las células en tejidos: Adhesión celular

Actividad 1

Investigar ejemplos de adhesión célula-célula y célula-matriz extracelular y su papel en la mantención y función de tejidos.

Ejemplo Presentar el problema de cómo surge el nivel de organización tisular y discutir cuáles son los requerimientos generales para esta organización. Los estudiantes investigan sobre los mecanismos de adhesión celular, las moléculas que participan en ellos y las características de la matriz extracelular. Ilustran los resultados de su investigación en esquemas como el siguiente, relacionando las diferentes estructuras involucradas en la adhesión célula-célula y célula-matriz extracelular con funciones y propiedades especiales de los diferentes tejidos.

Figura 17

La función de la adhesión celular y la matriz extracelular en la formación de tejidos

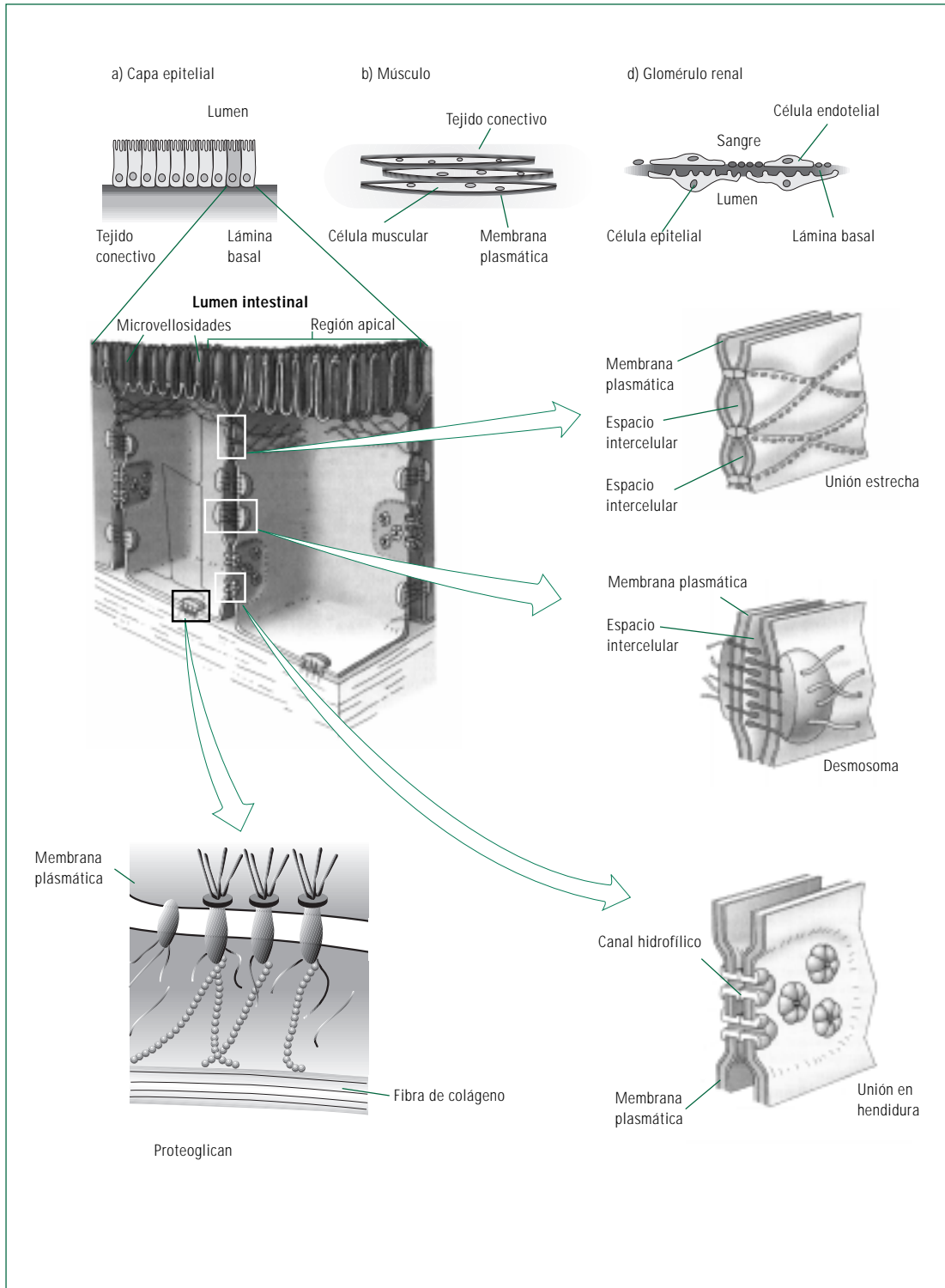
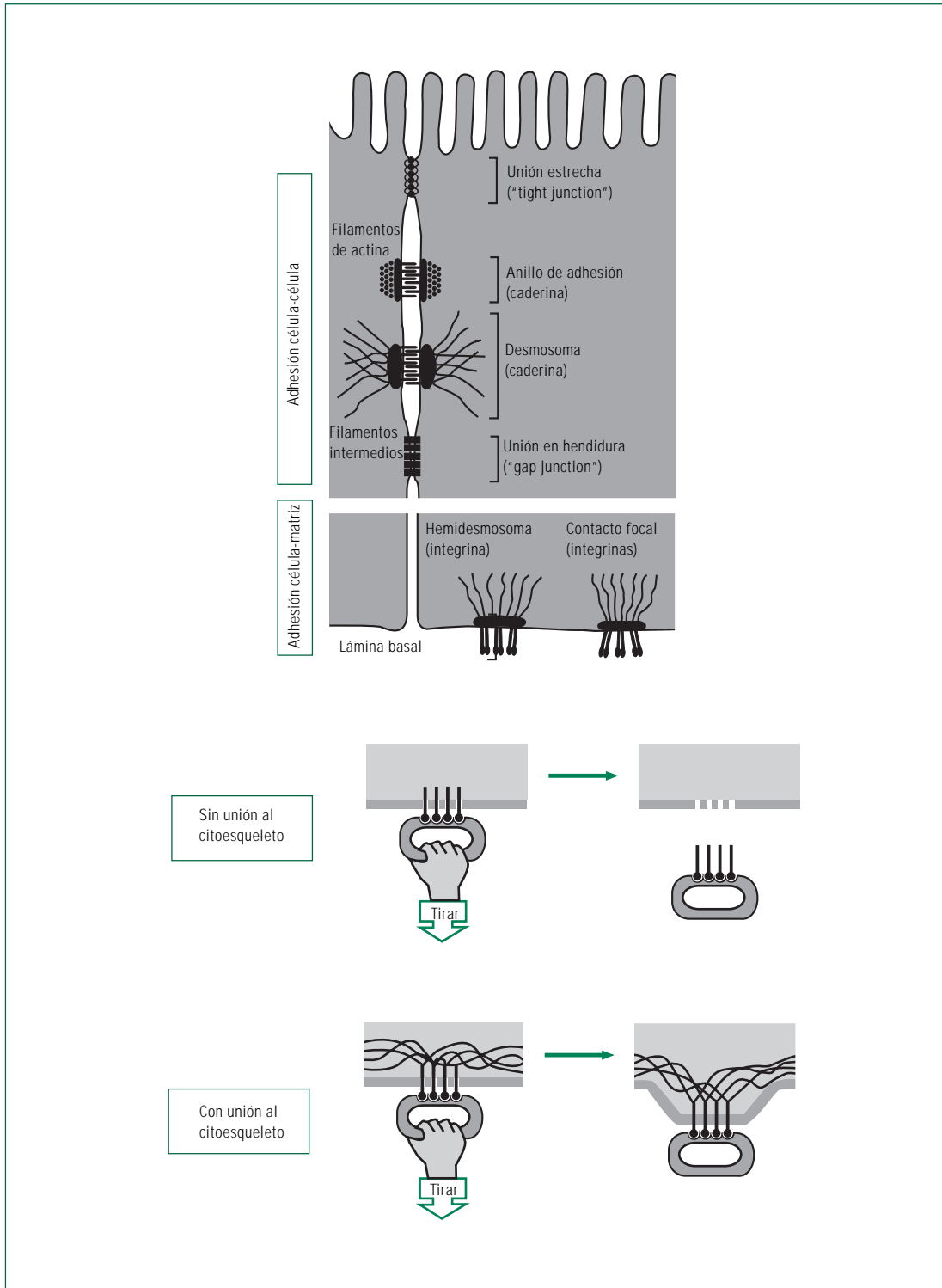


Figura 18
Función del citoesqueleto en la adhesión celular



INDICACIONES AL DOCENTE:

Una vez que los estudiantes presenten sus esquemas, explicar los siguientes conceptos:

En plantas y animales, las células especializadas en las distintas tareas funcionan de manera altamente coordinada formando tejidos y órganos. Una etapa clave en la evolución de los organismos multicelulares debe haber sido la adquisición de la capacidad que hoy vemos en las células para establecer contactos fuertes y específicos con otras células. Esta capacidad se basa en la función de proteínas integrales de membrana llamadas moléculas de adhesión celular. Las interacciones entre estas moléculas dispuestas en la superficie de distintas células permite que poblaciones de células se organicen en tejidos y órganos. Las células primero se agregan reconociéndose entre ellas a través de las moléculas de adhesión y luego forman elaboradas uniones intercelulares que estabilizan las interacciones iniciales y promueven la comunicación local entre las células en contacto.

Además, las células animales secretan glicoproteínas que forman una compleja red llamada matriz extracelular con la cual se crea un ambiente especial en los espacios intercelulares. La matriz extracelular ayuda a las células a mantenerse unidas en los tejidos y constituye un reservorio de numerosas hormonas que controlan la proliferación y diferenciación celular. También provee un sustrato sobre el cual las células pueden moverse, especialmente en los primeros estados de la diferenciación y organogénesis. Defectos en estas conexiones pueden llevar al desarrollo de cáncer y malformaciones del desarrollo.

La matriz extracelular está formada por tres proteínas principales: a) proteoglicanos, proteínas altamente viscosas que sirven como de colchón a las células; b) colágeno, que forma fibras resistentes dando firmeza a los tejidos; c) proteínas solubles altamente adhesivas, que se unen a los otros dos componentes y a receptores en la superficie celular. Las combinaciones entre estos componentes varían en distintos tejidos y dan diferentes cualidades a la matriz extracelular. Por ejemplo, firmeza en los tendones, amortiguación en los cartílagos o adhesión en el espacio intercelular. La matriz extracelular que rodea a las células musculares lisas de una arteria provee firmeza y elasticidad al vaso.

La matriz extracelular no es inerte. También puede ser fuente directa e indirecta (presentando hormonas) de señales que evocan respuestas en las células que interactúan con ella a través de receptores específicos. Juega un papel crucial en el proceso de desarrollo embrionario, durante el cual la matriz extracelular se está constantemente remodelando, degradando y resintetizando localmente. En el organismo adulto, ocurre degradación y resíntesis durante procesos de reparación de heridas.

Las células interactúan entre ellas a través de cadherinas y con la matriz extracelular a través de integrinas, ambas proteínas de adhesión celular integrales de la membrana plasmática.

La adhesión de células semejantes es una característica fundamental en la arquitectura de muchos tejidos. Un tipo de tejido importante en la interacción del organismo con el medio es el tejido epitelial, en el cual las células forman una capa que tapiza y separa compartimentos externos e internos del organismo. Las células que componen un epitelio muestran distintos tipos de uniones intercelulares y de interacciones con la matriz extracelular. Hay fundamentalmente cuatro tipos de uniones de las células con elementos del medio que la rodea: a) las uniones estrechas, que forman un anillo alrededor de la célula y un contacto intercelular que impide el paso de iones. Es fundamental para mantener la composición del medio interno del organismo; b) las uniones en hendidura que forman especies de túneles de conexión entre el compartimento citosólico de dos células adyacentes, por los cuales pueden pasar moléculas pequeñas; c) uniones célula-célula y célula-matriz extracelular a través de proteínas llamadas cadherinas e integrinas, respectivamente. Estas uniones cumplen la simple función de mantener las células en posición dentro de un tejido.

La unión se realiza conectando el citoesqueleto celular a la superficie de la otra célula o a la matriz extracelular a través de las cadherinas o integrinas que atraviesan la membrana plasmática. La interacción de las proteínas que atraviesan la membrana con el citoesqueleto es importante para dar resistencia a los puntos de contacto intracelular, tal como se ilustra en la figura.

Actividad 2

Analizar experimentos y observaciones sobre la función de moléculas de adhesión en relación a cáncer.

Ejemplo Presentar el esquema siguiente que muestra un ensayo de invasividad en células epiteliales cultivadas sobre una matriz de colágeno. Al adicionar un anticuerpo que bloquea las interacciones de cadherina, las células pierden sus contactos e invaden la matriz de colágeno. A su vez, células tumorales que no expresan cadherina invaden la matriz de colágeno pero adquieren un fenotipo epitelial y forman una monocapa organizada como el tejido normal al transfectarlas con un vector que contiene el gen de cadherina para inducir su expresión. En el gráfico se muestran los resultados de experimentos de invasividad realizados con este ensayo en células de diversos tumores humanos, cuyos nombres se indican. Estas células se cultivaron sobre geles de colágeno por tres días y luego se determinó por microscopía el número de células que penetraron al gel (invasividad). A su vez, en cada línea celular se midió la expresión de la proteína cadherina detectándola mediante un anticuerpo específico. Interpretar y discutir los resultados.

Figura 19
Ensayo de invasividad celular en geles de colágeno

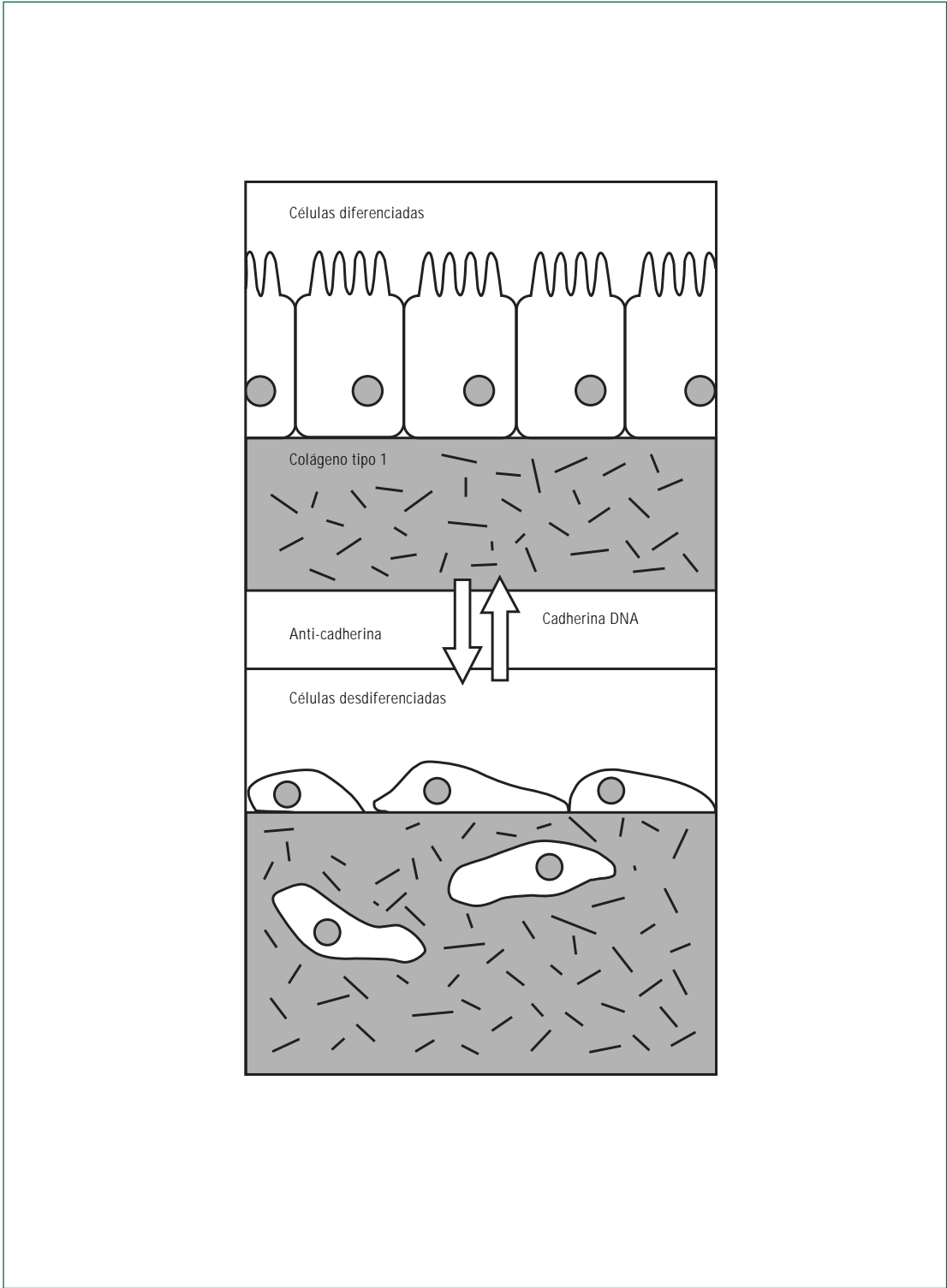
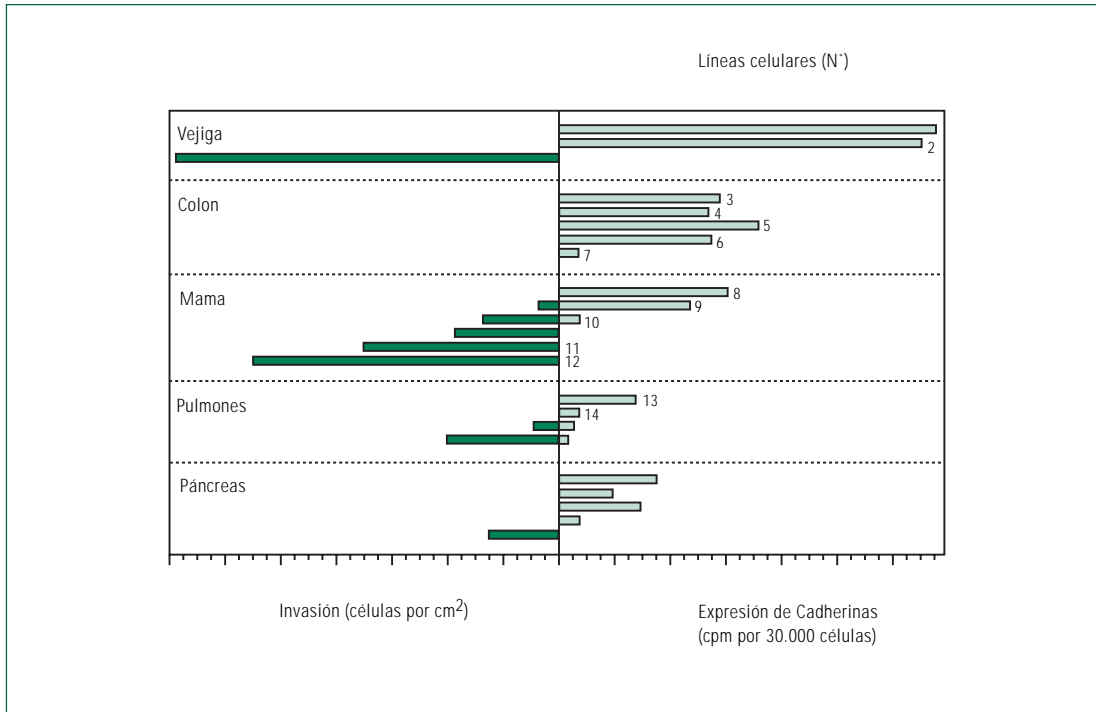


Figura 20

Expresión de la molécula de adhesión cadherina e invasividad medida *in vitro* en líneas celulares provenientes de diversos tumores humanos



INDICACIONES AL DOCENTE:

Explicar que la generación de tumores malignos en humanos y en animales de experimentación es un proceso de múltiples etapas. La acumulación de mutaciones resulta en la pérdida del control de la proliferación y pérdida de la adhesión celular con inducción de la invasión a otros tejidos. La invasión celular de otros tejidos (metástasis) es promovida cuando disminuye la expresión de moléculas de adhesión responsables de mantener a las células en su sitio. Las células cancerosas invasoras rompen los contactos con el tejido al que pertenecen. Esto se puede ver en cultivo. Las células que dejan de expresar una molécula de adhesión como cadherina muestran aumento de su motilidad e invasividad de la matriz extracelular. En el organismo, las células cancerosas que se desarrollan en epitelios se desligan de sus contactos, pasan a través de la matriz extracelular e invaden otros tejidos. Esta característica de invasividad es propia de las células cancerosas.

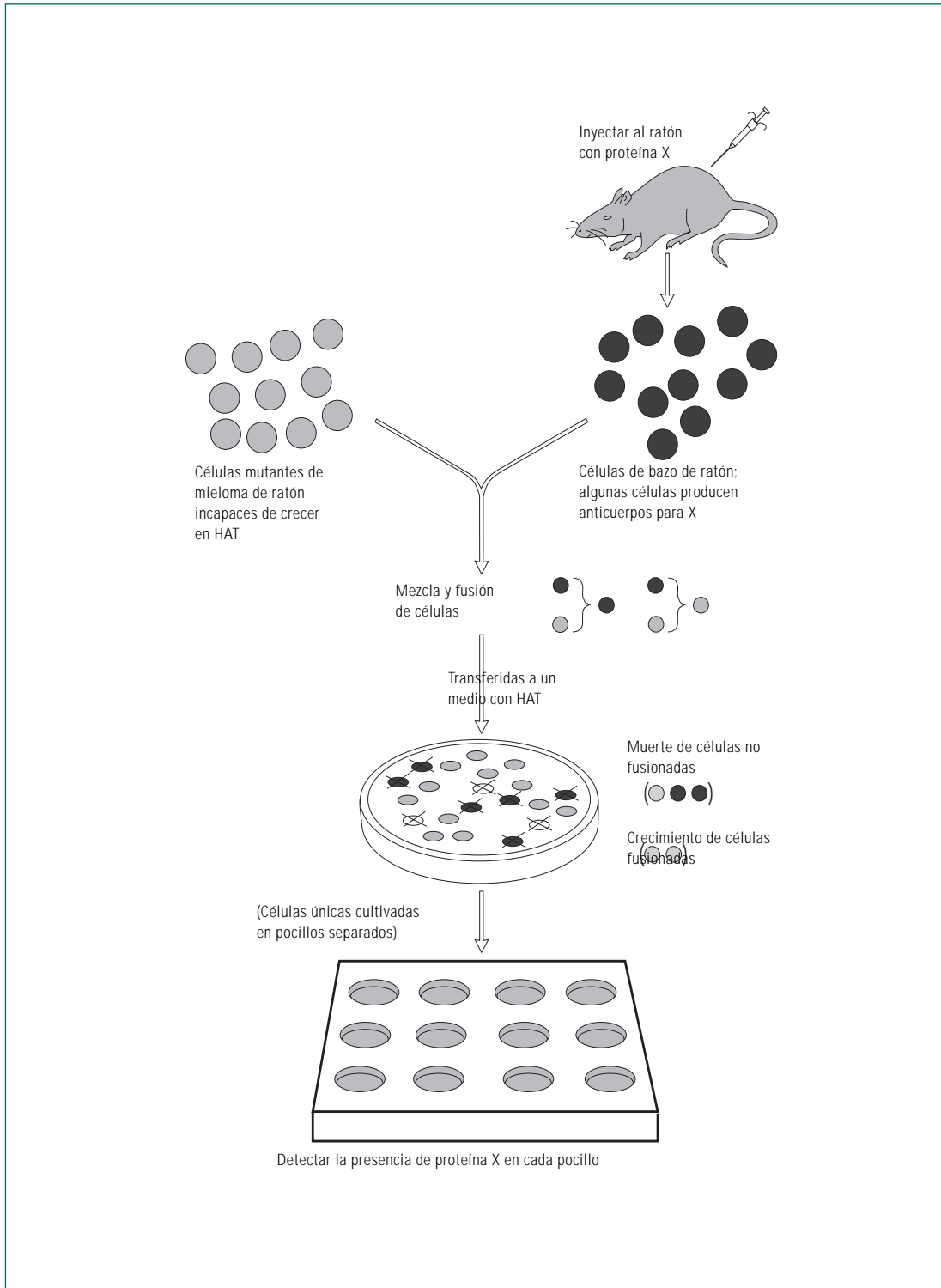
Aplicaciones en biología celular

Actividad 1

Estudiar el procedimiento para producir anticuerpos monoclonales e indagar sobre sus aplicaciones en salud e investigación.

Ejemplo Mostrar un esquema con la estrategia general para la obtención de anticuerpos monoclonales y sus etapas. Luego estimular a los estudiantes a especular sobre la importancia de este procedimiento y sus posibles aplicaciones en la medicina e investigación. Dividir el curso en grupos que investigarán en internet y otras fuentes acerca de las distintas aplicaciones que serán presentadas frente al curso.

Figura 21
Producción de anticuerpos monoclonales



INDICACIONES AL DOCENTE

Explicar el problema que existía para utilizar anticuerpos en la detección y aislamiento de proteínas. La especificidad de los anticuerpos es una herramienta muy útil en la investigación de la función de proteínas particulares. La marcación de anticuerpos con moléculas fluorescentes o con oro coloidal permite la localización de proteínas en la célula mediante microscopía de fluorescencia o electrónica, respectivamente. También son utilizados para detectar proteínas en experimentos bioquímicos mediante inmunoprecipitación o inmunoblot. Acoplados a una matriz, pueden ser utilizados para aislar proteínas desde un extracto celular. Si el antígeno se encuentra en la superficie celular se pueden utilizar anticuerpos para aislar células que poseen un determinado antígeno mediante la captura de las células que tienen unido un anticuerpo.

Los anticuerpos contra proteínas en estudio se producen generalmente inyectando conejos varias veces con la proteína purificada. El anti-suero que se obtiene contiene una mezcla heterogénea de anticuerpos, cada uno producido por un clon de células secretoras de anticuerpos (linfocitos B). Estos anticuerpos reconocen varios sitios antigénicos (epítomos) en la molécula de interés, pero también pueden reconocer las impurezas presentes en la preparación de la proteína que se inyectó. Este problema muchas veces entorpece los ensayos por un efecto de trasfondo que no es deseado en los experimentos.

En 1976 se solucionó el problema de la heterogeneidad al desarrollarse una técnica que ha revolucionado el uso de anticuerpos como herramientas en biología celular y abrió nuevas posibilidades de uso en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades.

El principio del procedimiento es propagar un clon de células productoras de anticuerpos de manera que se pueda obtener un anticuerpo homogéneo en grandes cantidades. El problema práctico es que los linfocitos B sólo viven un tiempo limitado en cultivo. Para solucionar el problema se logró fusionar linfocitos B productores de anticuerpos con células inmortales derivadas de un tumor de células B y luego seleccionar las células híbridas que tienen la doble capacidad de producir un anticuerpo específico contra una molécula de interés y crecer indefinidamente en cultivo. Estos llamados hibridomas se propagan como clones individuales, cada uno de los cuales provee una fuente permanente y estable de un sólo tipo de anticuerpo (monoclonal). Este anticuerpo reconocerá sólo un epítomo en la superficie de una proteína.

Además de solucionar los problemas de la heterogeneidad, otra gran utilidad de los anticuerpos monoclonales es que se pueden obtener incluso utilizando preparaciones muy impuras de la proteína de interés. El procedimiento de selección posterior permite aislar los clones que están produciendo anticuerpos contra la proteína en estudio e incluso utilizar estos anticuerpos en su aislamiento.

Actividad 2

Investigar sobre el uso de cultivo de células en investigación, medicina y otras aplicaciones biotecnológicas.

Ejemplo Dividir el curso y darles la tarea de indagar en diferentes fuentes acerca de los procedimientos de cultivo celular y sus aplicaciones en diversas áreas. Exponen sus resultados frente al curso.

Evaluación Unidad 1

I. Verificar conocimientos

- 1) Indique la sentencia incorrecta:
 - a. Mutaciones que afectan apenas unas pocas proteínas pueden determinar grandes cambios fenotípicos.
 - b. Las diferencias entre células especializadas se basan principalmente en la expresión de distintos genes como resultado de regulación a nivel transcripcional.
 - c. Durante el desarrollo se pierde la expresión de genes distintos en distintas células porque se activan enzimas que provocan deleciones de genes específicos.
 - d. Las señales del entorno pueden gatillar cambios en la expresión de genes y este fenómeno es crucial en el desarrollo.

- 2) Indique la sentencia incorrecta:
 - a. El término transducción de señales indica que el estímulo recibido por los receptores de la superficie celular es distinto de la señal producida al interior de la célula.
 - b. Los sistemas de transducción de señales involucran cambios en la conformación de proteínas intracelulares, inducidos generalmente por fosforilación o por unión e hidrólisis de GTP.
 - c. Los receptores que detectan señales en la superficie celular pueden ser distintos en distintos tipos de células y esto determina qué células responden a un estímulo particular.
 - d. Las células pueden responder a los estímulos externos debido a que los receptores de superficie son canales iónicos que dejan entrar o salir iones específicos según el estímulo.

- 3) Indique la sentencia correcta:
 - a. Las moléculas de adhesión celular se expresan sólo en células epiteliales.
 - b. Las moléculas de adhesión celular son importantes para anclar las células a la matriz extracelular y se asocian a proteínas del citoesqueleto.
 - c. Las moléculas de adhesión celular se diferencian de los receptores de la superficie celular porque sólo unen moléculas externas pero no gatillan respuestas celulares.
 - d. Los anticuerpos monoclonales se producen por clones de linfocitos T cultivados y estimulados con un antígeno particular.

- 4) Describa mediante ejemplos en qué consiste el fenómeno de inducción en la diferenciación celular y explique cómo se relaciona con los sistemas de señalización celular.

- 5) ¿Qué evidencias sugieren que las moléculas de adhesión celular son importantes en el cáncer?

- 6) ¿Por qué cree Ud. que los anticuerpos monoclonales pueden ser menos eficientes que los policlonales para proveer inmunidad pasiva?

II. Aplicación de conocimientos y habilidades

- 1) Si Ud. tuviera una línea celular, con células de un fenotipo parecido a los linfocitos que pueden ser inducidas a diferenciarse en células neuronales, ¿cómo podría detectar genes que se activan durante este proceso de diferenciación? Explique su diseño experimental mediante un esquema.
- 2) Mediante un dibujo esquemático, proponga un modelo para explicar cómo la unión de una hormona a un receptor en la superficie celular puede gatillar cambios en la actividad de enzimas en el citoplasma.
- 3) Al incubar células epiteliales en cultivo con anticuerpos que bloquean la función de una proteína de adhesión las células cambian su fenotipo, pierden su forma característica, se aplanan y se hacen migratorias.

Conteste a las siguientes preguntas fundamentando brevemente sus respuestas:

- a) ¿Qué podría haber ocurrido en los sistemas de respuesta celular a los cambios y señales del entorno?
- b) ¿Cree Ud. que deben haber ocurrido cambios en la expresión génica?
- c) ¿Cómo relacionaría Ud. este fenómeno con el cáncer?
- d) Construya un modelo de transducción de señales válido para receptores de superficie que son proteína-quinasa en el cual se produzca amplificación de las señales intracelulares.

Unidad 2

Estructura y regulación génica

Orientaciones didácticas

El principal objetivo de esta unidad es mostrar cómo la función de los genes es influenciada por su organización y estructura en el DNA y por proteínas que se unen a regiones específicas del DNA regulando los niveles de transcripción. Hacer un contraste entre procariontes y eucariontes es interesante y necesario para lograr un mejor entendimiento del tema, no sólo porque la complejidad se ilustra comparativamente sino también porque se fortalece el concepto de evolución por las homologías entre organismos tan separados en la escala filogenética y se establece una relación histórica del conocimiento, puesto que los primeros hallazgos sobre regulación génica se realizaron en bacterias. Por esto, se recomienda comenzar estableciendo las diferencias entre la organización y estructura de los genes procariontes y eucariontes y sus implicaciones funcionales. Luego, se revisan los modelos de regulación en bacteria, incluyendo los trabajos clásicos de Jacob y Monod, de manera que los principios generales del control de la transcripción génica quedan expuestos y pueden ser ahora aplicados a eucariontes, ilustrando las diferencias que dan mayor complejidad y versatilidad en los mecanismos de control de los organismos multicelulares. Una vez que se han trazado las bases de la regulación génica, mostrando que depende tanto de sitios específicos en el DNA como de proteínas que se unen a estos sitios y son capaces de activar o reprimir la transcripción, se vuelve a la pregunta planteada en la primera unidad: ¿cómo se relaciona funcionalmente la acción hormonal con la regulación génica? Se está ahora en condiciones de dar una respuesta elemental en términos de mecanismos moleculares, acudiendo a ejemplos de acción de hormonas que son reconocidas ya sea por factores de transcripción en el compartimento citosólico (hormonas esteroidales) o por receptores de superficie (hormonas peptídicas) que originan señales intracelulares. Finalmente, los estudiantes deben utilizar sus conocimientos indagando en aplicaciones basadas en conceptos y tecnología de DNA recombinante, tales como la terapia génica y la producción de organismos transgénicos.

Contenidos

- Estructura y organización de los genes.
- Regulación de la transcripción.
- Control hormonal de la transcripción.

Aprendizajes esperados

Los alumnos y alumnas saben y entienden que:

- En procariontes, genes que codifican proteínas relacionadas funcionalmente se encuentran agrupados en regiones (operón) que se transcriben desde un sitio único generando un RNAm para varias proteínas. En eucariontes, cada gen se transcribe desde su propio sitio de inicio y origina un RNA que debe ser procesado antes de ser traducido en proteína, debido a que las regiones que codifican un gen eucarionte (exones) se encuentran físicamente separadas por regiones no codificantes (intrones). La organización en exones e intrones hace posible la generación de mayor diversidad por recombinación genética o procesamiento alternativo del RNA recién transcrito.
- En las bacterias, el control génico sirve principalmente para permitir a una célula ajustarse a cambios en su ambiente nutricional. En organismos multicelulares, su función más característica está relacionada con la regulación de un programa genético que determina la diferenciación celular y la morfogénesis durante el desarrollo embriológico.
- La iniciación de la transcripción es el punto más importante y frecuente de regulación génica. El promotor es la secuencia de DNA desde donde la RNA polimerasa inicia la transcripción. Los promotores de genes distintos varían en su secuencia y esto se refleja en mayor o menor nivel de transcripción en los distintos genes. Otras proteínas factores de transcripción influyen la unión de la RNA polimerasa a los distintos promotores y ejercen control induciendo o reprimiendo la transcripción luego de unirse a secuencias específicas reguladoras, localizadas ya sea cerca o lejos de los genes que regulan.
- La expresión de numerosos genes eucariontes está bajo control hormonal, que puede hacer variar la concentración y/o la función activadora o represora de los factores de transcripción.

Mejoran sus habilidades para:

- Informarse en distintas fuentes.
- Razonar, inferir y hacer conjeturas en base a conocimientos previos y problemas.

Estructura y organización de los genes

Actividad 1

Analizar y comparar la organización de los genes en procariontes y eucariontes y su relevancia en la expresión génica.

Ejemplo Presentar esquemas que ilustren las diferencias en la organización de genes en procariontes y eucariontes. Guiar a los estudiantes para que discutan primero las implicaciones funcionales de la organización en unidades transcripcionales policistrónicas (varios genes en un operón en procariontes) versus unidades transcripcionales únicas. Luego estimularlos para que especulen sobre los eventos que deben ocurrir antes que se pueda traducir un RNA eucarionte recién transcrito, considerando que contiene segmentos no codificantes provenientes de los intrones.

Figura 22

Relación entre organización, estructura y expresión de los genes en procariontes y eucariontes

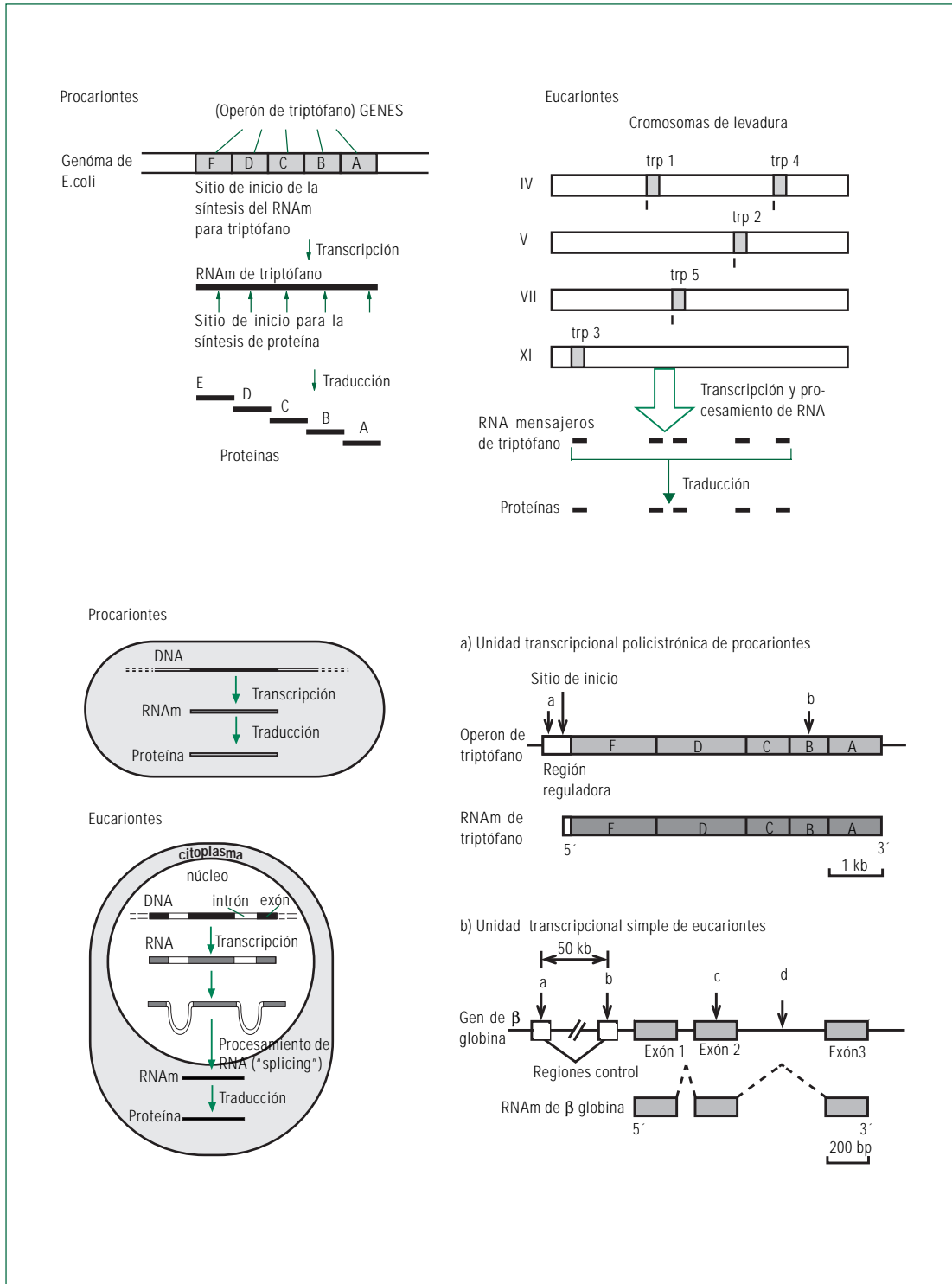


Figura 23

Procesamiento del RNA eucarionte recién transcrito: el gen de globina como ejemplo

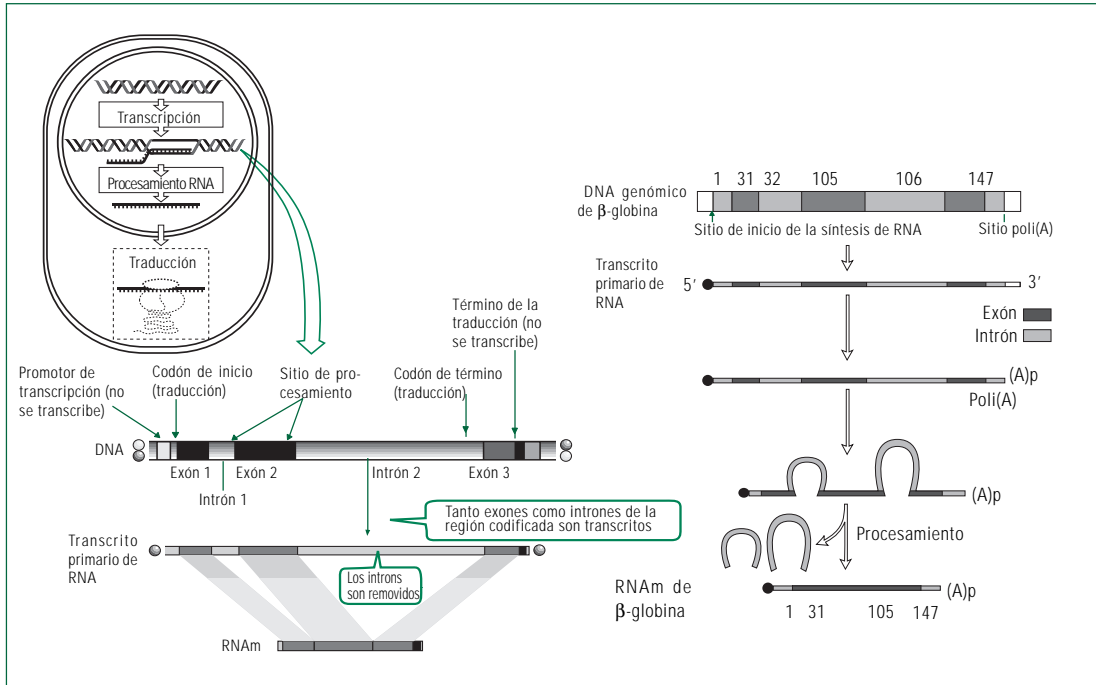
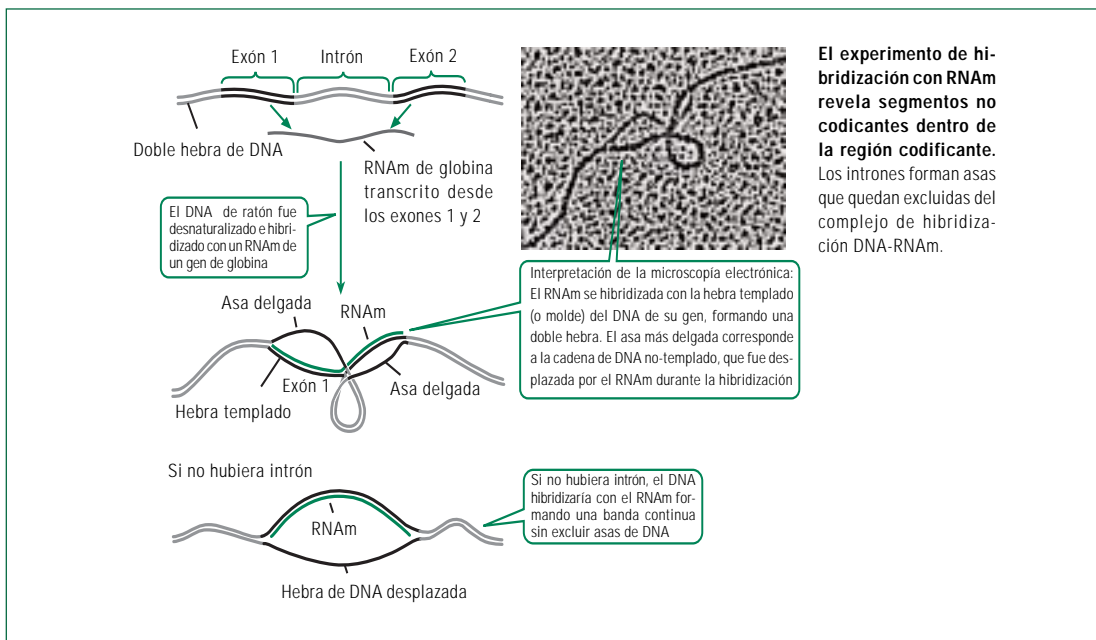


Figura 24

Evidencias experimentales de segmentación en exones e intrones en los genes eucariontes



INDICACIONES AL DOCENTE:

Recordar primero que un gen es la unidad de DNA que contiene información que especifica la síntesis de una cadena polipeptídica. Luego utilizar las figuras para ilustrar que la organización de los genes en el DNA presenta importantes diferencias en procariontes y eucariontes. Explicar que, en el ejemplo, la serie de enzimas que sintetizan el aminoácido triptofano se encuentran codificadas en secuencias continuas y están todas bajo una misma región reguladora en bacterias; en cambio, en levaduras estos mismos genes se encuentran en cromosomas distintos.

Guiar a los estudiantes para que eleboren el concepto que en el DNA procarionte los genes que codifican proteínas relacionadas funcionalmente se encuentran agrupados en regiones que funcionan como una unidad que se transcribe desde un sitio único y genera un RNAm codificante de numerosas proteínas. Cada sección del RNA mensajero representa una unidad (gen) que instruye al aparato de síntesis de proteína para la construcción de una proteína particular. Este arreglo de genes en serie, funcionalmente relacionados, se llama operón, porque actúa como una unidad con un solo sitio de inicio de la transcripción para varios genes.

En el ejemplo, el operón de triptofano es un segmento continuo del cromosoma de *E. coli*, que contiene 5 genes, los cuales codifican las enzimas necesarias para las distintas etapas de la síntesis de triptofano. El operón entero es transcrito desde un sitio del DNA y origina un largo y continuo RNAm. La traducción de este RNAm empieza en cinco sitios distintos de inicio, uno para cada enzima distinta codificada en este RNAm. El orden de los genes en el DNA bacteriano corresponde al orden de las enzimas que catalizan las distintas etapas de síntesis del triptofano. En cambio en levadura, los cinco genes que codifican enzimas similares para la síntesis de triptofano se encuentran en cuatro cromosomas distintos. Cada gen se transcribe desde su propio sitio de inicio y origina un transcrito primario que debe ser procesado antes de poder ser traducido en proteína.

Luego, presentar la figura que ilustra la otra gran diferencia: las regiones que codifican un gen eucarionte (exones) generalmente se encuentran físicamente separadas por regiones no codificantes (intrones). Los estudiantes deben ser capaces de aplicar sus conocimientos y llegar a la conclusión que el RNA recién transcrito debe ser procesado de alguna manera para remover las regiones no codificantes antes de dirigir la síntesis de una proteína, proceso que se ilustra de manera elemental en la siguiente figura.

Utilizar el ejemplo del procesamiento de beta-globina para explicar que junto con removerse las regiones correspondientes a los intrones deben ligarse las de los exones para producir un RNA mensajero funcional en la traducción de la proteína. El procesamiento del RNA ocurre en el núcleo. El RNA recién transcrito es en promedio alrededor de 10 veces más largo que el RNA procesado, sin intrones.

El gen de globina contiene tres exones y separados por dos secuencias no codificantes (intrones). La transcripción se inicia antes del primer exón y termina después del último exón, de manera que el RNA contiene en sus extremos 3' y 5' regiones que no se traducen en proteína y que, sin embargo, se retienen después del procesamiento. En el extremo 5' se adicionan secuencias de poliadenina que da estabilidad al RNAm. El procesamiento remueve los intrones y junta los exones en la secuencia correcta.

Explicar el experimento de la figura que muestra las evidencias de la presencia de exones e intrones en un gen particular, que en este caso ha sido hibridizado con el RNA mensajero correspondiente.

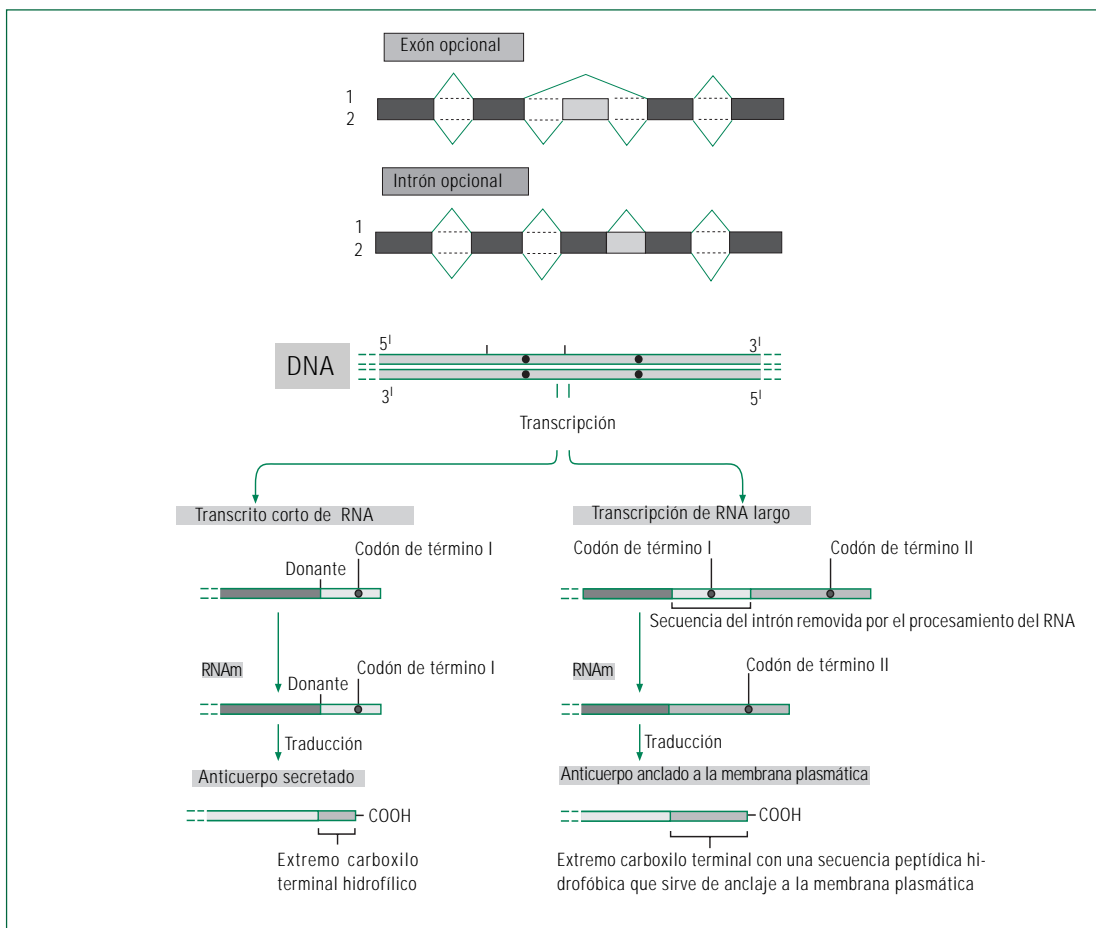
Actividad 2

Formular hipótesis acerca de las implicaciones funcionales de la organización del DNA en exones e intrones. Examinar ejemplos de procesamiento alternativo del RNA recién transcrito e indagar en procesos de diversificación por recombinación génica en el sistema inmune y durante la evolución.

Ejemplo Presentar el ejemplo del procesamiento alternativo del RNA de inmunoglobulina para ilustrar la posibilidad de generar distintas proteínas a partir de un mismo gen y que este proceso sea regulado. El curso, dividido en grupos, investiga sobre las posibilidades de generar diversidad por recombinación génica en el sistema inmune.

Figura 25

El procesamiento alternativo del RNA de inmunoglobulina es regulado y genera proteínas distintas codificadas por un mismo gen



INDICACIONES AL DOCENTE:

Estimular a los estudiantes para que propongan hipótesis sobre posibles implicaciones de un sistema de codificación de la información genética en base a regiones codificantes separadas unas de otras. Los estudiantes deben ser capaces de especular sobre la posibilidad que esta organización en exones pueda generar diversidad en los genes, ya sea durante la evolución o durante el desarrollo (la recombinación génica en linfocitos genera diversidad en los genes de inmunoglobulinas y de los receptores de linfocitos T). También pueden llegar a la conclusión que exista procesamiento alternativo del RNA recién transcrito, tal como se ilustra en la figura.

Explicar que en algunos casos existen diferentes alternativas de procesamiento, de manera que se pueden utilizar distintos exones o remover distintos intrones para producir RNA que codifican distintas proteínas. Esto significa que un mismo gen puede producir varias proteínas distintas por procesamiento alternativo del RNA recién transcrito. Es más, las alternativas de procesamiento pueden ser reguladas en relación a la diferenciación celular, como ocurre en las inmunoglobulinas durante la diferenciación de los linfocitos B. En los linfocitos B no estimulados (izquierda) se produce un RNA más largo y se remueve un intrón que contiene un codón de terminación. El RNA resultante del procesamiento codifica un anticuerpo que se encuentra unido a la membrana plasmática por una región hidrofóbica. En contraste con esto, después de ser estimulados por un antígeno, los linfocitos empiezan a procesar el RNA de distinta manera. El RNA se corta antes del último exón y el último intrón no se remueve, quedando como secuencia codificante que provee otro codón de término. Esta proteína es idéntica a la anterior excepto por el hecho que no contiene la región de transmembrana y por lo tanto se secreta.

Regulación de la transcripción

Actividad 1

Analizar los experimentos iniciales de Jacob y Monod.

Ejemplo El docente presenta modelos de regulación génica en procariontes explicando los distintos componentes y los experimentos clásicos de Jacob y Monod que llevaron al concepto de regulación de la transcripción. Los estudiantes deben apreciar que el modelo del operón lac en *E. coli* constituye uno de los primeros ejemplos de control génico.

Figura 26

El operón lac

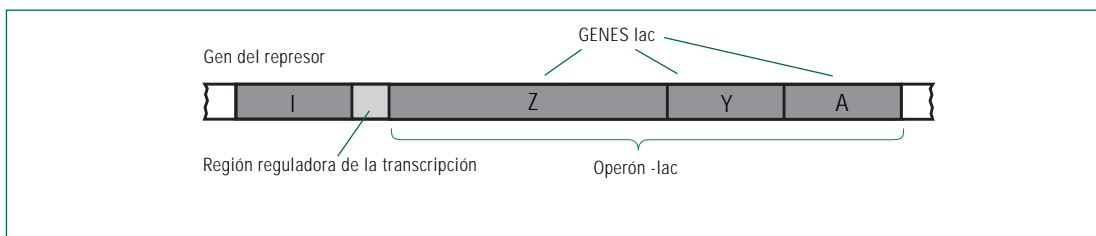
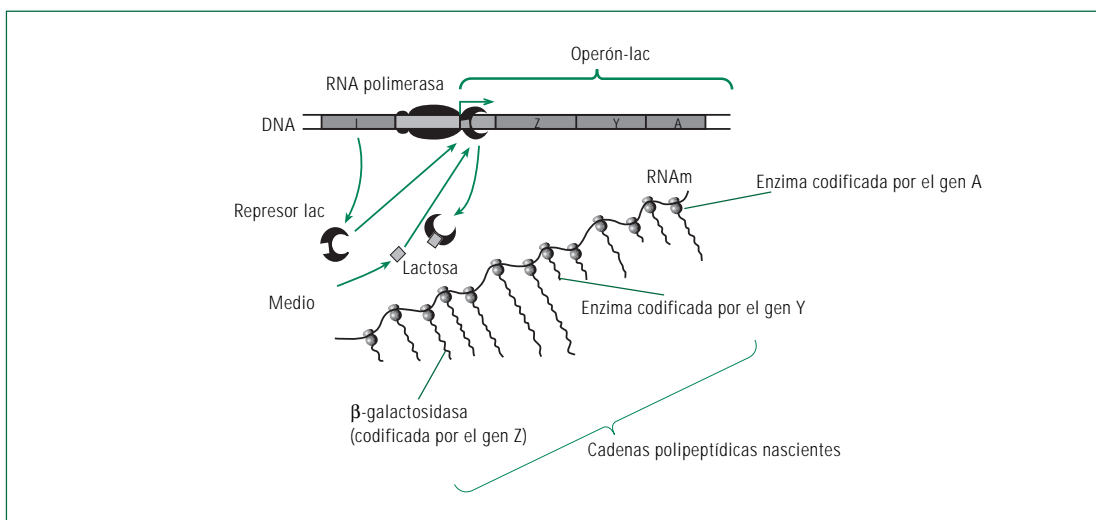


Figura 27

Modelo de regulación de la transcripción de Jacob y Monod



INDICACIONES AL DOCENTE:

Primero, recordar que las acciones y propiedades de cada tipo celular son determinadas por las proteínas que contiene. ¿Que determina los tipos de proteínas y las cantidades en que se expresan en cada célula? En su mayor parte esto depende de la concentración de los RNAm para las distintas proteínas en la célula. La concentración de cada RNAm, a su vez, es determinada por los genes que se transcriben y por sus niveles de transcripción. Por lo tanto, las acciones y propiedades de cada célula quedan determinadas principalmente por los diferentes patrones genes que se transcriben.

Muchas enzimas en bacterias son inducibles, es decir, su síntesis es regulada dependiendo del estado nutricional de la célula. Un combinación de experimentos genéticos y bioquímicos realizados inicialmente en bacterias llevaron al gran descubrimiento de que existen regiones regulatorias en los genes a las cuales se unen proteínas que pueden activar o reprimir la transcripción. Estos componentes son cruciales para la propiedad de los procariontes y eucariontes de activar o inactivar genes.

Los trabajos pioneros fueron realizados por el grupo de investigadores liderados por Francois Jacob y Jaques Monod en los años 1960s. *E. coli* puede utilizar ya sea glucosa o lactosa como única fuente de carbono y energía. Cuando se cultiva en presencia de glucosa disminuyen las enzimas que metabolizan lactosa. A la inversa, cuando se cultivan sólo en presencia de lactosa y no de glucosa se incrementan las enzimas del metabolismo de la lactosa. Estas enzimas están codificadas en el operón lac. El modelo propuesto por Jacob y Monod predijo que debía existir una secuencia de DNA cerca del sitio de inicio de la transcripción del operón lac, a la cual se debería unir un represor de la transcripción.

De acuerdo al modelo de Jacob y Monod, la transcripción del operón lac, que codifica tres proteínas inducibles, es reprimida por la unión de una proteína (represor) a una secuencia particular del DNA. En presencia de lactosa, este represor cambia de forma y libera al DNA, permitiendo ahora la transcripción del operón lac. Cuando el represor lac se une a una secuencia del DNA llamada operador (O), localizado río arriba del gen lacZ, la transcripción del operón por la RNA polimerasa es bloqueado. La unión de lactosa al represor produce un cambio conformacional en el represor, se libera del operador y la RNA polimerasa se puede unir al promotor e iniciar la transcripción de los genes, resultando en un RNA que contiene la información para varias proteínas que permiten a la bacteria utilizar la lactosa como nutriente.

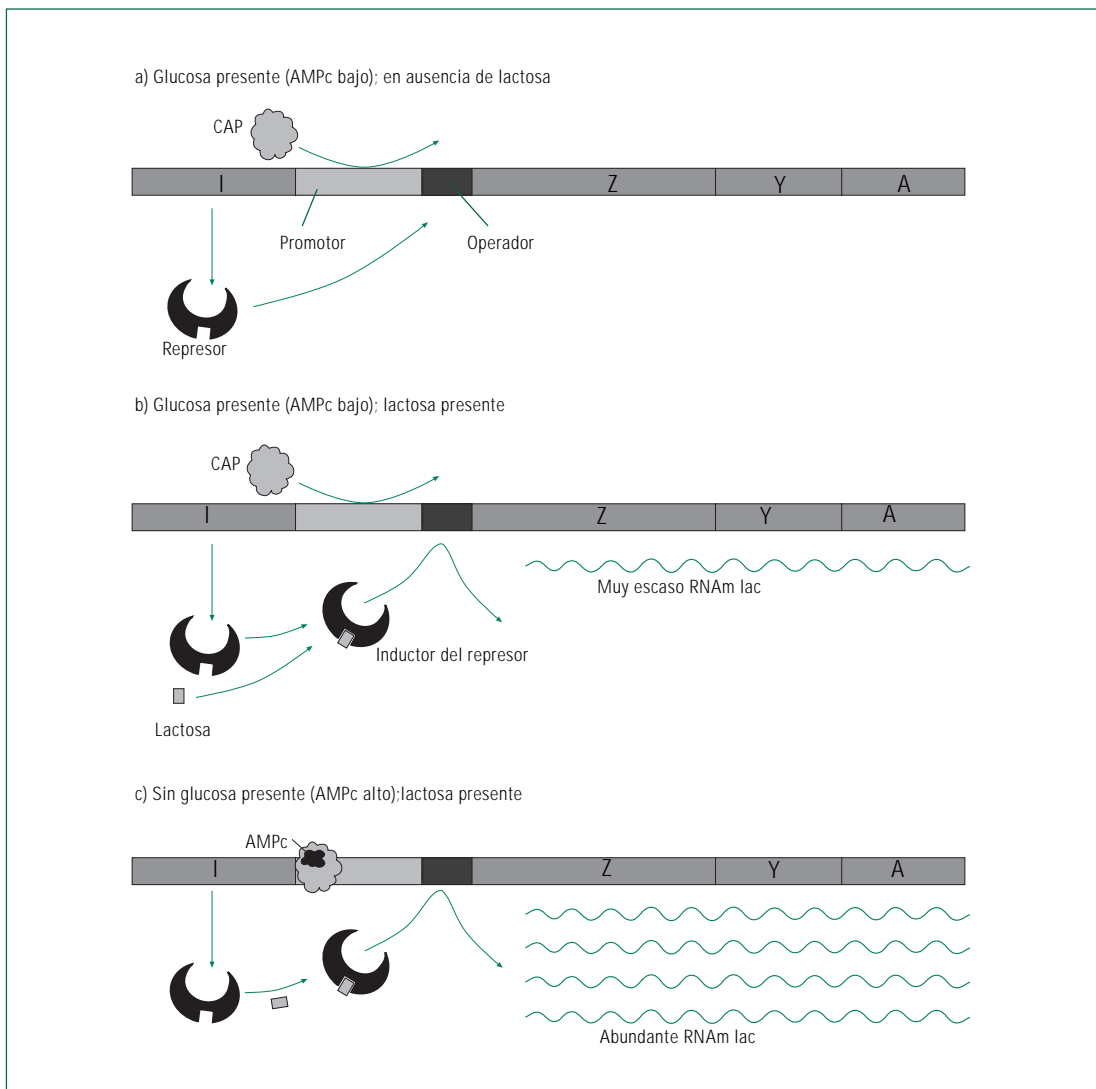
Actividad 2

Estudiar los distintos tipos de regulación génica en procariontes.

Ejemplo Utilizar el modelo de regulación del operón lac para introducir el concepto de que la transcripción no sólo se regula negativamente por represores sino que también puede ser activada por otras proteínas reguladoras. En la figura se ilustra el ejemplo de control positivo dependiente de AMPc.

Figura 28

Control positivo y negativo de la transcripción del operón lac



INDICACIONES AL DOCENTE

Explicar que posteriormente a los trabajos de Jacob y Monod se descubrieron otras proteínas que eran más bien inductores de la transcripción, formando un complejo con la RNA polimerasa que tiene gran afinidad por secuencias regulatorias de la transcripción. El concepto actual es que en las células procariotas los genes son reversiblemente inducidos o reprimidos por control transcripcional, ajustando así la maquinaria metabólica de acuerdo con los cambios ambientales, nutricionales y físicos.

Al contrario de los eucariontes, las bacterias tienen sólo un tipo de RNA polimerasa, que cataliza la síntesis de RNA mensajero, RNA de transferencia, y RNA ribosomal. La RNA polimerasa se une a secuencias específicas promotoras para iniciar la transcripción. Los promotores de genes distintos varían en su secuencia y la RNA polimerasa se une a los distintos promotores con mayor o menor afinidad. Esto se refleja en mayor o menor nivel de transcripción en los distintos genes. Sin embargo, otras proteínas influyen en la unión de la RNA polimerasa a los distintos promotores y ejercen un control ya sea induciendo o reprimiendo la transcripción. Los represores de la transcripción son a su vez regulados por la unión de moléculas pequeñas relacionadas con la vía metabólica que los genes controlan. Al unirse estas moléculas a los represores, éstos cambian de forma y se desligan del DNA dejando libre los sitios para la unión de la RNA polimerasa al promotor.

Cuando *E. Coli* se cultiva en condiciones de ayuno de glucosa empiezan a aumentar los niveles de AMPc que actúan como un sistema de alerta que indica bajos niveles de glucosa. El AMPc induce la transcripción de varios operones que contienen genes que codifican enzimas del metabolismo de otros azúcares. Este es un control positivo sobre la transcripción realizado por una proteína que une AMPc y luego se une al promotor del operón activando la transcripción.

a) en la ausencia de lactosa no se produce RNAm del operón lac porque el represor se encuentra unido al operador y previene la transcripción; b) en la presencia de glucosa y lactosa, el represor lac une lactosa, cambia de forma y se desliga del operador. Sin embargo los niveles de AMPc son bajos porque hay glucosa disponible y la proteína activadora del catabolismo (AMPc-CAP) que une AMPc no se une a su sitio de unión en el operador. Como resultado, la RNA polimerasa no se une eficientemente al promotor lac y sólo se produce una pequeña cantidad de RNAm del operón lac; c) en la presencia de lactosa y la ausencia de glucosa se produce la máxima actividad transcripcional del operón lac. En esta condición el represor no se une al operador y la concentración de AMPc aumenta causando que el complejo AMPc-CAP se una al promotor y estimule la unión e iniciación de la transcripción por la RNA polimerasa. Así, el AMPc-CAP activa la transcripción (control positivo) mientras que el represor lac inhibe la transcripción.

Actividad 3

Establecer los principios de la regulación génica en eucariontes, las similitudes con procariontes y las diferencias que proveen mayor complejidad y posibilidades de control.

Ejemplo Utilizar la siguiente serie de esquemas para ilustrar los principios de la regulación génica en eucariontes y preguntar sobre cómo se podrían regular estos elementos en respuesta a señales externas.

Figura 29

La RNA polimerasa eucarionte requiere otras proteínas (factores de transcripción generales) para iniciar la transcripción

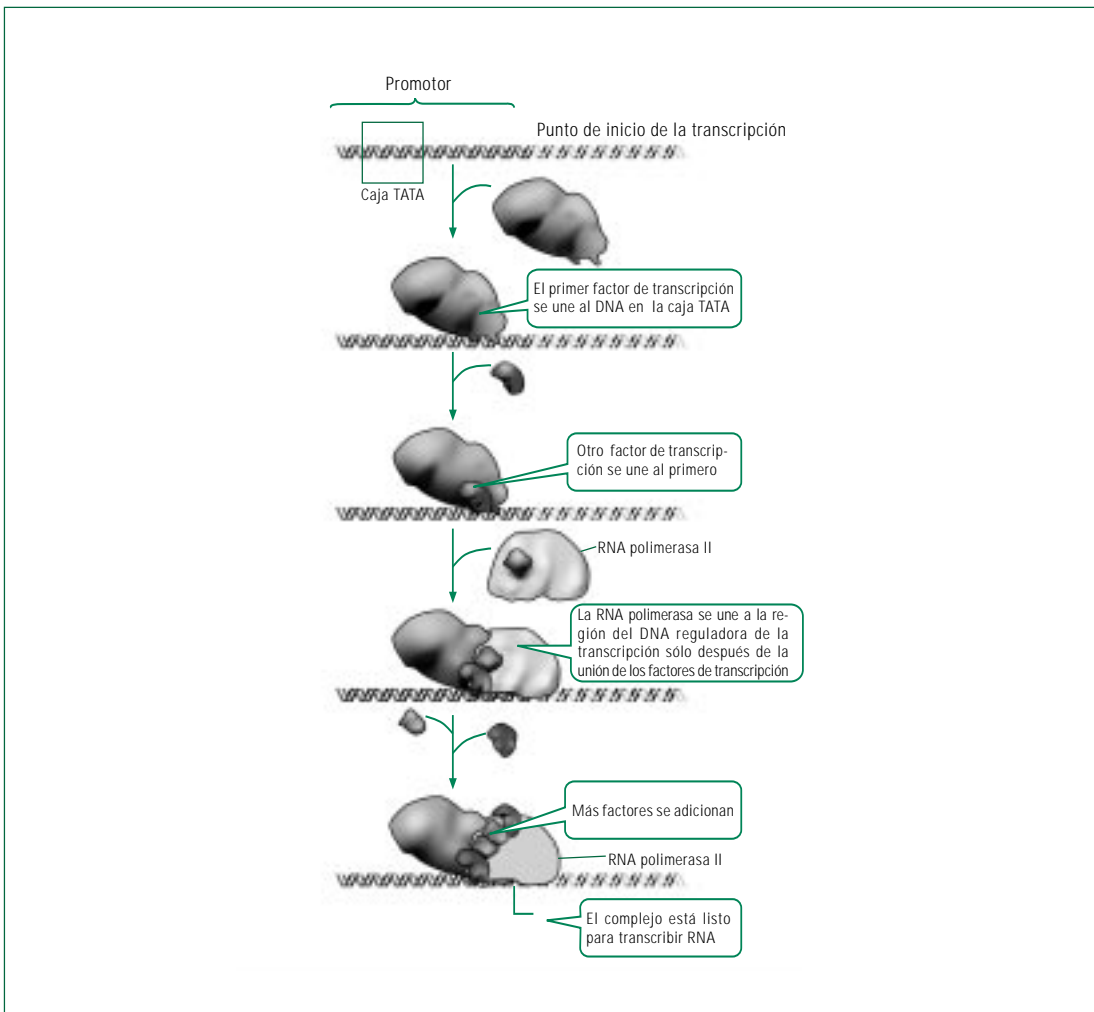


Figura 30

Elementos de control en el DNA eucarionte

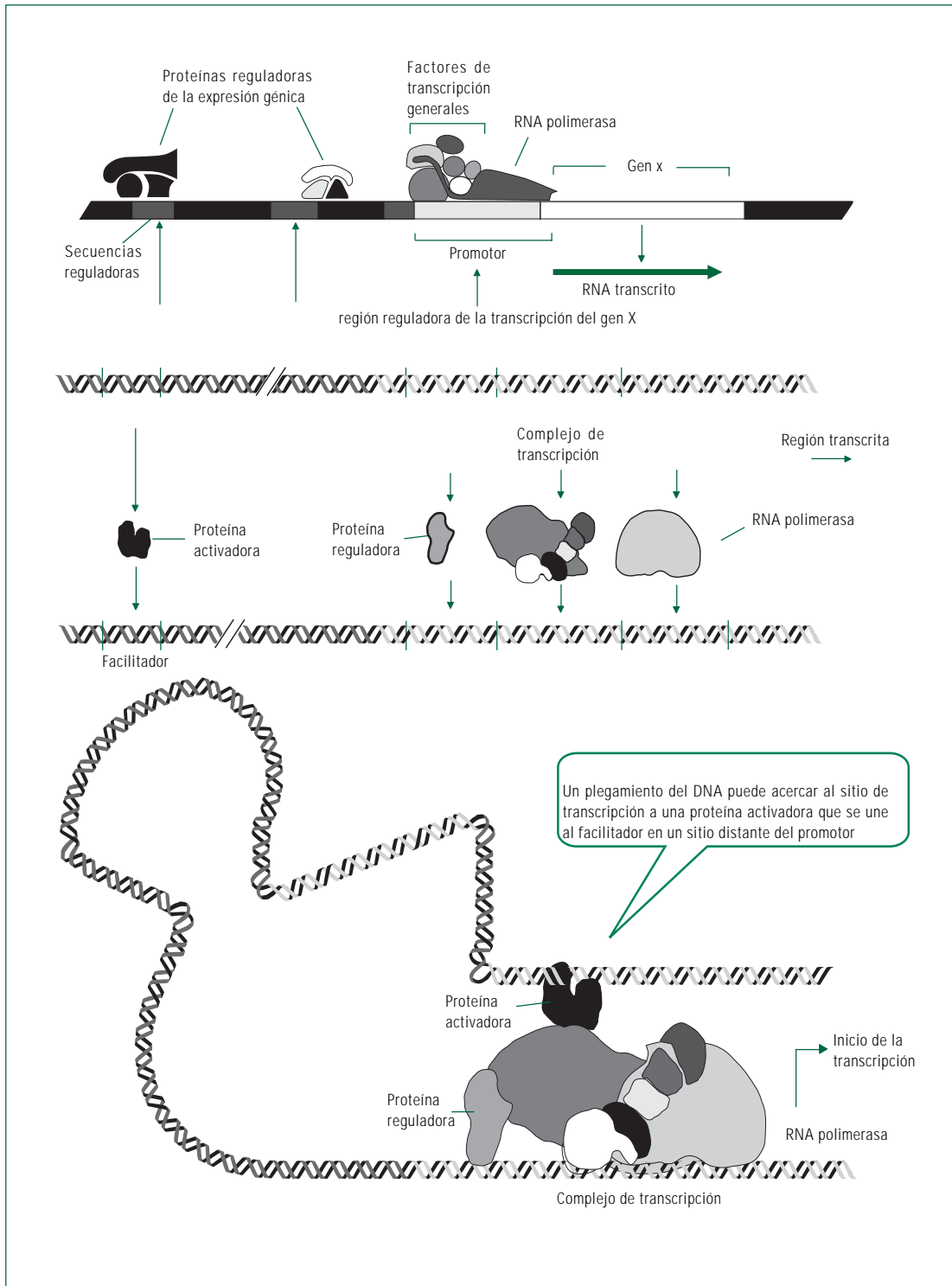


Figura 31

Las proteínas regulatorias de la transcripción forman complejos sobre el DNA y actúan ya sea como activadores o represores de la transcripción.

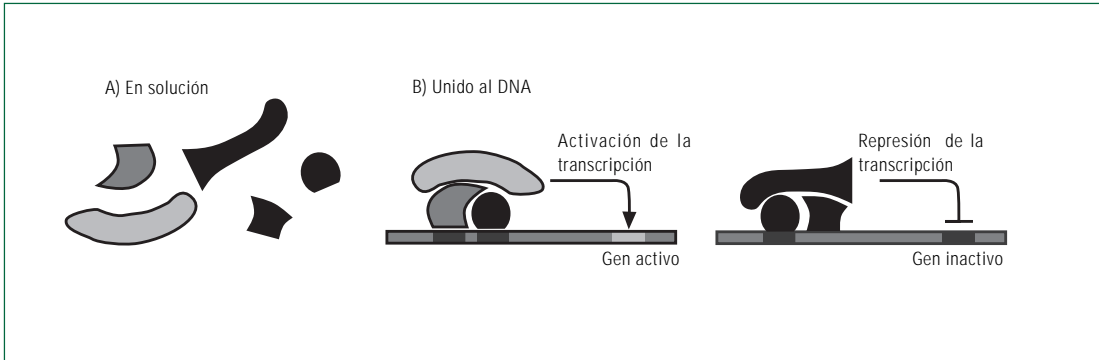
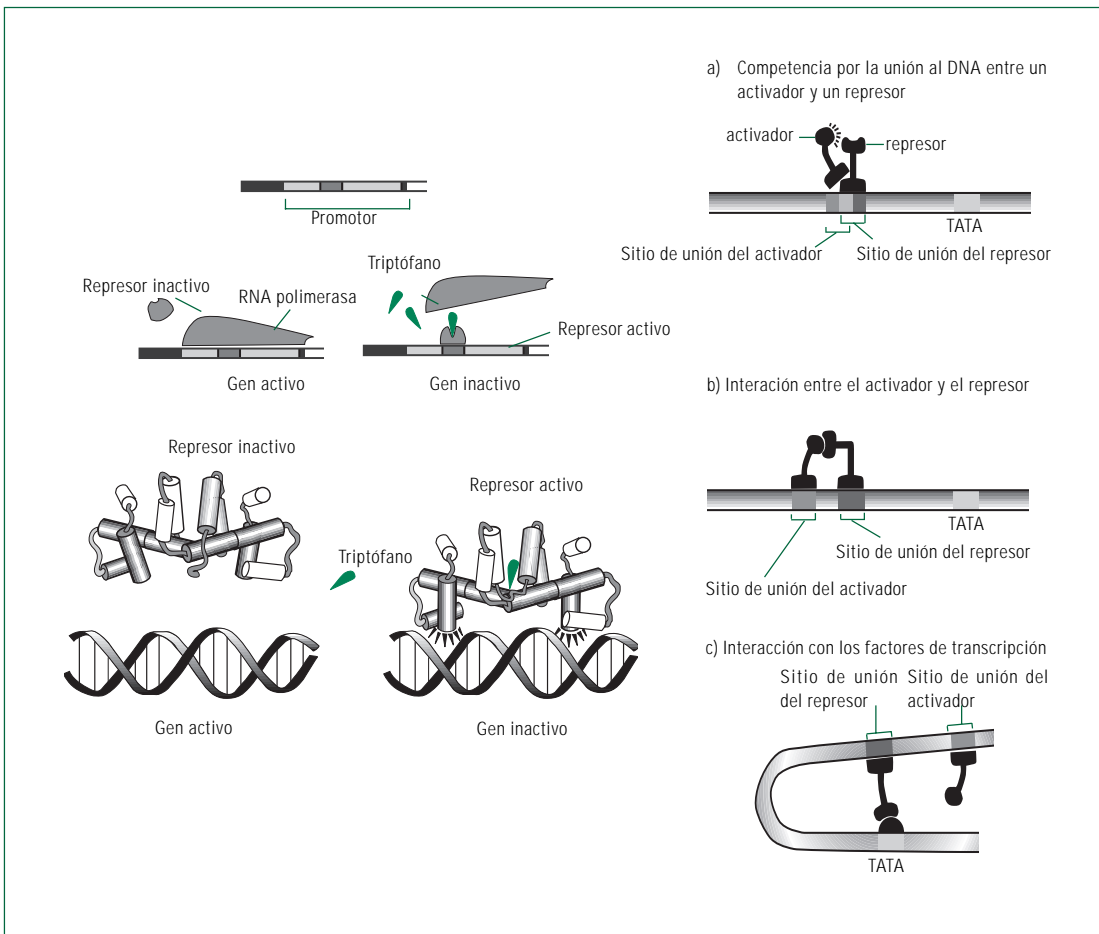


Figura 32

Mecanismos básicos de regulación de la expresión génica en eucariontes



INDICACIONES AL DOCENTE

Explicar primero que muchos de los principios de la transcripción descubiertos inicialmente en bacteria se aplican a eucariontes. Sin embargo, es necesario apreciar que en las bacterias, el control génico sirve principalmente para permitir a una célula ajustarse a cambios en su ambiente nutricional, de tal manera que tanto su crecimiento como su división pueden ser optimizados. En organismos multicelulares, el control de la actividad génica está más relacionado con la regulación de un programa genético que subyace al desarrollo embriológico y la diferenciación de los distintos tejidos, tal como se expuso en la primera unidad. La variedad de células distintas en plantas y animales se debe a la expresión de distintos genes en células distintas.

El genoma de una célula contiene en su DNA la información para fabricar muchos miles de proteínas y moléculas de RNA diferentes. Sin embargo, es característico que un tipo de célula exprese sólo una fracción de sus genes. De hecho, los diferentes tipos de células en organismos multicelulares se originan porque expresan diferentes subconjuntos de genes. Más aún, las células pueden cambiar el patrón de genes que expresan dependiendo de las señales recibidas de otras células. La expresión de ciertos genes, tales como los de proteínas importantes en casos de estrés térmico o ayuno de glucosa, es también sensible a cambios ambientales tales como la temperatura y la disponibilidad de nutrientes. Como en bacterias, la iniciación de la transcripción es el punto más importante y frecuente de regulación.

Tal como en bacteria, la regulación de los niveles de expresión de genes en eucariontes se hace principalmente a nivel de la iniciación de la transcripción. Una región de control génica consiste en un promotor más secuencias reguladoras. El promotor es la región donde se ensamblan la polimerasa y los factores de transcripción generales, formando complejos que inician la transcripción. Una secuencia altamente conservada, llamada caja TATA, se encuentra generalmente a 25-30 pares de bases del sitio donde la RNA polimerasa inicia la transcripción. La caja TATA box es el elemento más importante del promotor ya que posiciona a la RNA polimerasa para el inicio de la transcripción. Las secuencias reguladoras unen proteínas reguladoras que controlan la velocidad del ensamblaje de los complejos de iniciación. La transcripción de genes individuales se activa o se reprime por proteínas regulatorias llamadas factores de transcripción que se unen a secuencias específicas del DNA. Estas proteínas son equivalentes a los represores y activadores que controlan la transcripción en los operones de los procariontes.

Sin embargo, el control de la transcripción en eucariontes es mucho más compleja, gracias a dos diferencias fundamentales: a) la RNA polimerasa eucarionte no tiene la capacidad de iniciar la transcripción por sí misma sino que requiere un conjunto de otras proteínas, que se han llamado factores generales de la transcripción. El conjunto debe ensamblarse en el promotor antes de iniciar la transcripción. El proceso de ensamblaje del complejo de transcripción provee numerosas oportunidades para que el inicio de la transcripción sea acelerada o retardada en respuesta a señales regulatorias; b) los sitios de regulación (promotores) generalmente se encuentran más alejados, varios kilobases apartes del gen que regulan, y comprenden segmentos de DNA que pueden unir numerosos factores de transcripción, permitiendo mayores niveles de complejidad en el control de la expresión génica. Elementos promotores proximales se encuentran aproximadamente a 200 pares de bases del sitio de inicio de la transcripción. Además, otros sitios de regulación pueden encontrarse a varios kilobases del sitio de inicio de la transcripción. Esto da gran versatilidad en el control, tal como se ilustra en la figura. En cambio, los promotores en bacterias están generalmente a 60 bases del operón que regulan y la transcripción es controlada por sólo una o dos proteínas regulatorias.

Control hormonal de la transcripción

Actividad 1

Proponer hipótesis sobre cómo se podría regular la expresión génica en respuesta a hormonas, aplicando conocimientos previos. Investigar ejemplos en la literatura.

Ejemplo Presentar esquemas de regulación hormonal que involucran receptores intracelulares y receptores de la superficie celular, ilustrando las alternativas de regulación.

Figura 33

Modelo de regulación génica dependiente de hormona esteroidal

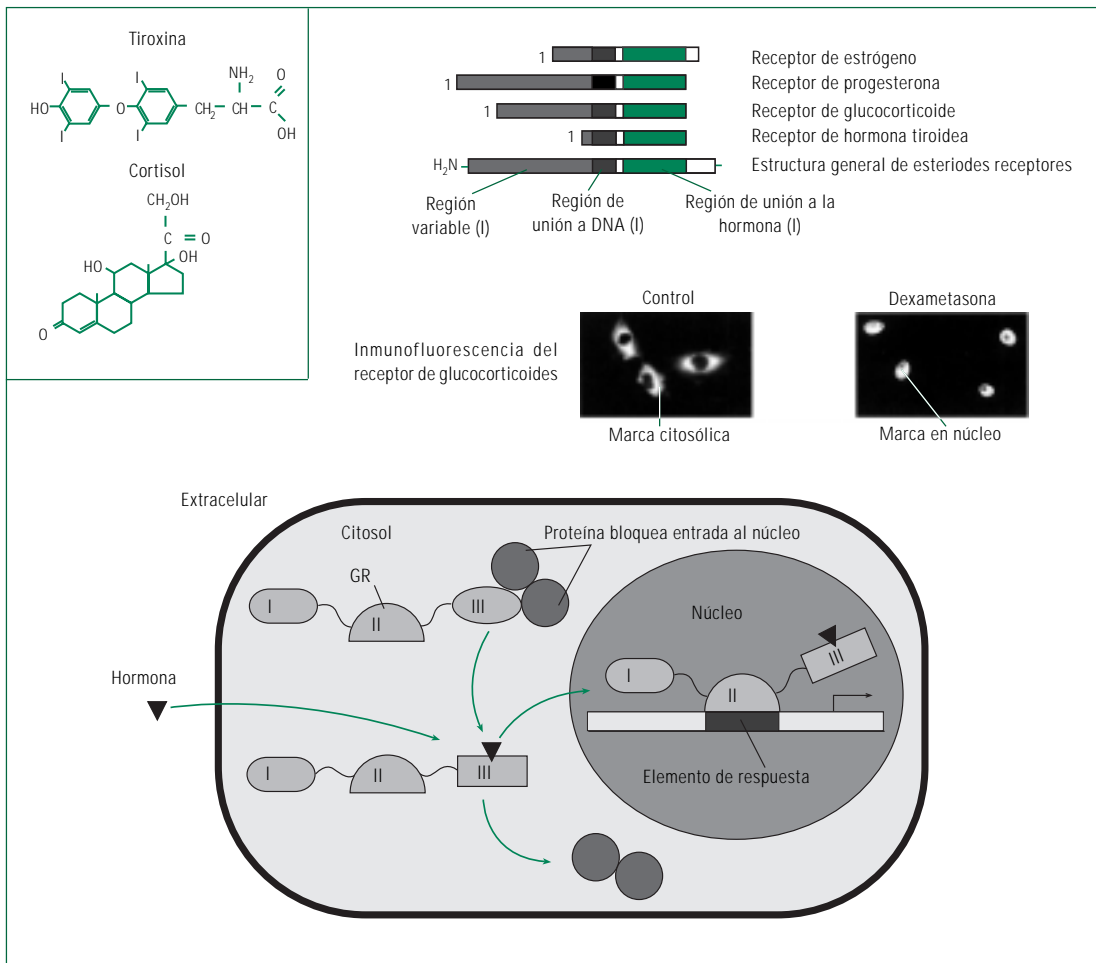
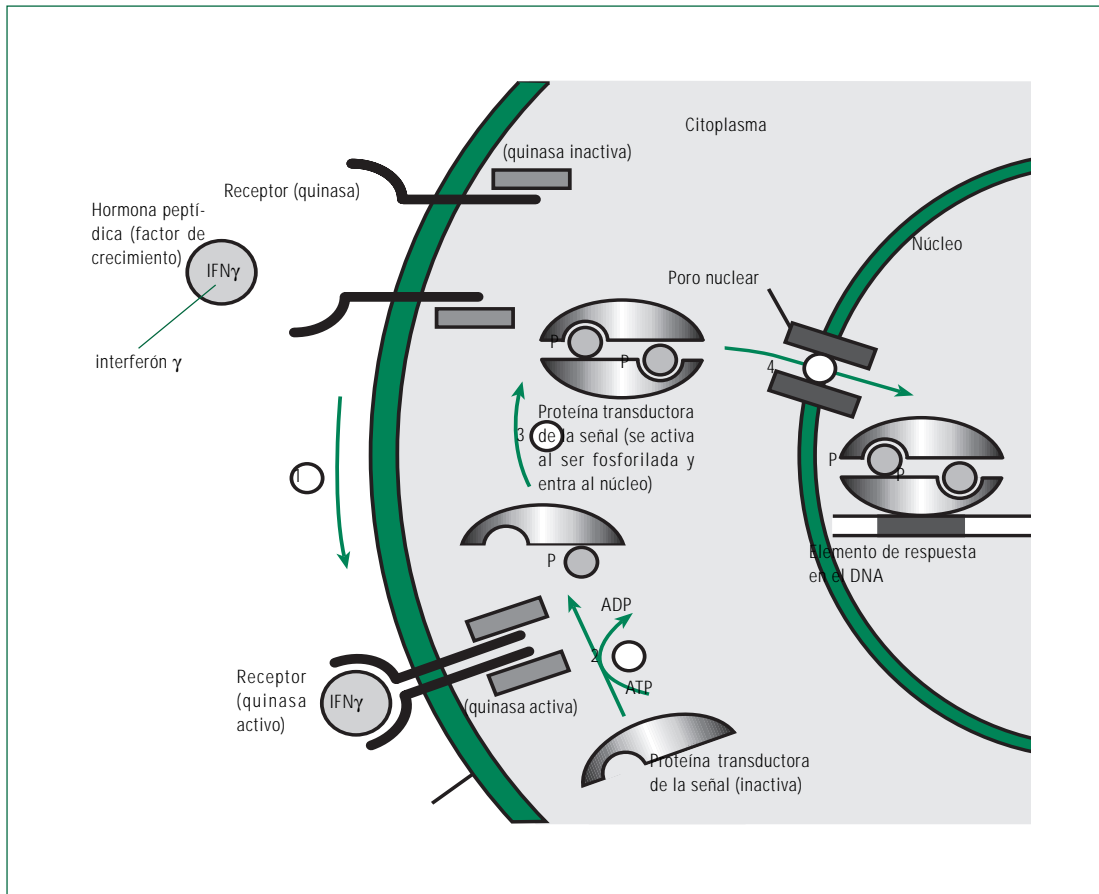


Figura 34

Modelo de regulación de la transcripción por hormonas peptídicas

**INDICACIONES AL DOCENTE:**

Es importante relacionar la regulación de la transcripción con los conceptos ya vistos sobre diferenciación celular. Recordar que los distintos tipos de células que se encuentran en organismos multicelulares difieren tanto en estructura como en función. Las diferencias son tan notables, por ejemplo entre linfocitos y neuronas, que es difícil imaginar que comparten el mismo genoma. La diferenciación celular depende fundamentalmente de cambios en la expresión de genes. Las células acumulan distintos conjuntos de RNA y proteínas.

Aunque en los multicelulares también se producen cambios en la transcripción de genes en respuesta a cambios ambientales, son más frecuentes las respuestas a estímulos que regulan la proliferación y diferenciación celular durante el desarrollo y en procesos de reparación de tejidos o de inflamación y respuesta inmune. De hecho, el ambiente de las células eucariontes tiende a mantenerse relativamente constante por la homeostasis, en cambio se requieren grandes ajustes en la expresión génica para originar los diversos tipos celulares con distintas especializaciones funcionales que componen un organismo multicelular. El programa genético que regula la diferenciación de

células nerviosas, de piel, exocrinas o endocrinas, etc, implica que se activen genes específicos en ciertas células en un momento determinado del desarrollo. Este fenómeno requiere la inducción o apagamiento de distintos genes y en general no es reversible, de manera que las células diferenciadas terminan por morir, sin dejar progenie. Los patrones de control genético que determinan la diferenciación sirven a las necesidades de todo el organismo más que a la sobrevivencia de una célula en particular. La respuesta inmune también requiere cambios en el patrón de genes que se expresan en los linfocitos.

El control de la transcripción en eucariontes tiene varios niveles de regulación. La concentración y la actividad de activadores y represores que controlan la transcripción de genes de proteínas son regulados durante la diferenciación celular y en respuesta a hormonas y señales provenientes de células vecinas. Estos activadores y represores, a su vez, influyen en la estructura de la cromatina y la formación de complejos de transcripción que incluyen a la RNA polimerasa, influenciando así la unión de estos complejos a los promotores y su actividad transcripcional.

El control de la transcripción en eucariontes se realiza de varias maneras: a) regulando los niveles de factores de transcripción y/o su actividad de inductores o represores de la transcripción; b) cambios en la estructura de la cromatina dirigidos por activadores o represores; c) influencia de activadores y represores sobre el ensamblaje de la RNA polimerasa junto con los factores generales de la transcripción en los sitios de inicio de la transcripción.

Todo esto implica que los factores de transcripción mismos deben ser regulados. Guiar a los estudiantes a elaborar explicaciones frente a la pregunta: ¿Cómo se relacionan los estímulos hormonales con los factores de transcripción? Dos mecanismos importantes de regulación de la actividad de los factores de transcripción son la unión a moléculas pequeñas (hormonas liposolubles) y la fosforilación, que es una modificación corrientemente utilizada en los sistemas de transducción de señales, tal como se vio en la Unidad 1.

En el ejemplo del control por hormona de crecimiento, mostrar primero los resultados de inmunofluorescencia que muestran entrada del receptor para esta hormona al núcleo. Explicar que en ausencia de hormona el receptor de glucocorticoide se encuentra en el citosol impedido de entrar al núcleo por una proteína bloqueadora. Cuando la hormona está presente, ésta difunde a través de la membrana plasmática y se une al receptor en el dominio especial para la unión del ligando. Esta unión produce un cambio conformacional en el receptor que resulta en su separación de la proteína bloqueadora. El receptor con su ligando entra al núcleo y un dominio de éste se une a una región de respuesta en el promotor. Luego, otro dominio del receptor induce la transcripción del gen.

En el modelo de la transducción de señales del receptor de interferón gamma se activa una proteína quinasa que fosforila a un factor de transcripción, el cual forma ahora un complejo que entra al núcleo y se une a un elemento de respuesta en el promotor del gen.

Los estudiantes pueden investigar sobre la regulación dependiente de hormonas que elevan los niveles de AMPc.

Indagando en las aplicaciones biotecnológicas

Actividad

Utilizar los conocimientos para buscar información acerca de aplicaciones biotecnológicas (terapia génica y organismos transgénicos) y presentarla frente al curso.

Ejemplo El docente explica los principios de la terapia génica y de los organismos transgénicos utilizando el documento incluido en los Anexos. Luego, se divide el curso en grupos que investigarán en diversas fuentes, incluyendo Internet, los distintos usos de estos procedimientos. Los estudiantes deben presentar sus resultados identificando los conceptos que se utilizaron para el diseño de estas tecnologías y cuáles son sus limitaciones y potencialidades.

Evaluación Unidad 2

I. Verificar conocimientos

- 1) Indique la afirmación falsa:
 - a. Una parte importante del DNA de cada célula no tiene función y se estima que sólo alrededor del 10% del DNA eucarionte codifica proteínas.
 - b. Los genes en el DNA procariontes se organizan en grupos que funcionan como unidades transcripcionales (operones).
 - c. La organización del DNA en exones e intrones puede determinar una mayor variación en las proteínas.
 - d. Los promotores son regiones reguladoras de la expresión génica a los cuales se unen factores de transcripción.
 - e. Las bacterias no tienen la capacidad para regular la expresión génica en respuesta a los cambios ambientales.

- 2) Los intrones se transcriben junto con los exones en el RNA mensajero, sin embargo no participan en la síntesis de la proteína. ¿Qué aseveración considera correcta?
 - a. Los intrones se remueven del RNA mensajero y este proceso puede generar distintas proteínas a partir de un mismo gen.
 - b. El aparato de síntesis de proteínas distingue entre intrones y exones y sólo traduce éstos últimos.
 - c. Los exones tienen una composición de nucleótidos distinta de los intrones.
 - d. En eucariontes cada gen se transcribe desde su propio sitio de inicio en cambio en procariontes varios genes comparten un sitio de inicio de la transcripción.
 - e. Todo gen se expresa en una célula mientras no sea reprimido por un mecanismo regulador.

- 3) ¿Qué características de los virus se aprovechan en terapia génica y en qué se diferencian los virus que se utilizan para este fin de los virus que se encuentran en la naturaleza?

II. Aplicación de conocimientos y habilidades

1. Ud. ha aislado un gen capaz de estimular el crecimiento humano. Imagine un experimento que permita probar el efecto en animales de consumo y esquematice sus etapas.
2. Utilice la siguiente información para diseñar una terapia contra el cáncer: a) La proteína p54 está codificada por un anti-oncogen que impide el desarrollo de cáncer. Además, esta proteína detecta DNA extraño a la célula y bloquea su transcripción, impidiendo así la reproducción de los virus DNA; b) Los adenovirus, cuyo material genético es DNA, tienen una proteína llamada E1a que bloquea la función de la p54 y de esta manera pueden reproducirse en las células que infectan; c) Las células cancerosas frecuentemente tienen mutaciones en el gen de la proteína p54 que la dejan sin función.

Unidad 3

Investigación científica en Biología

Orientaciones didácticas

Esta unidad tiene como objetivo incentivar a los estudiantes a revisar sus ideas y creencias sobre el conocimiento científico y darles mayores herramientas para que puedan reconocerlo y generarlo. Para esto es necesario guiar su reflexión acerca de textos sobre ciencia y trabajos de investigación científica, dándoles algunas pautas sobre los elementos que siempre se encuentran presentes en las actividad científica. Es importante no dar la idea de que existe un método científico único que puede practicarse mediante una serie de pasos y etapas en orden consecutivo. Los científicos realizan sus investigaciones con aproximaciones muy distintas, generalmente partiendo de intuiciones creadoras, pero el conocimiento que generan es considerado científico fundamentalmente si tiene la posibilidad de ser refutado por evidencias nuevas.

Una de las actividades importantes es que los estudiantes sean capaces de enseñar a otros estudiantes acerca de la naturaleza del conocimiento científico entendiendo las diferencias con otras formas de conocimiento. Las características de una hipótesis científica se analizarán en un texto en inglés diseñado para enseñar esto a estudiantes de cursos inferiores. La idea es que los estudiantes se preparen en base a esta experiencia para que la realicen con compañeros de otros cursos enseñando ellos mismos y consignando las dificultades para luego exponerlas y compartirlas en el curso.

La unidad termina con el diseño de un proyecto de investigación que será presentado al curso. Esto permitirá aplicar el conocimiento adquirido y lograr nuevas experiencias para fortalecer la capacidad de realizar actividad científica.

Contenidos

- Conocer científicamente en biología.
- Diseñando un proyecto de investigación.

Aprendizajes esperados

Los alumnos y alumnas saben y entienden que:

- El conocimiento científico tiene normas de producción, aceptación y transmisión en base a la formulación de teorías, hipótesis y predicciones que pueden ser sometidas a prueba y refutadas. Es un conocimiento que está siempre en evolución, avanzando a través del escepticismo para evaluar las explicaciones propuestas y sugiriendo explicaciones alternativas para las mismas observaciones.
- Un primer paso indispensable para iniciar una nueva investigación científica es el conocimiento de la literatura previa sobre el tema y la formulación de preguntas que abran nuevas visiones y hagan avanzar el conocimiento en aspectos aún desconocidos. Luego se definen los métodos adecuados para probar las hipótesis considerando sus limitaciones y se distinguen las evidencias que la apoyan o refutan.
- Las investigaciones contribuyen al conocimiento científico especialmente cuando sus resultados son publicados.

Mejoran sus habilidades para:

- Informarse en distintas fuentes.
- Razonar, inferir y hacer conjeturas en base a conocimientos previos y problemas.

Conocer científicamente en biología

Actividad 1

Analizar y debatir acerca la naturaleza del conocimiento científico.

Ejemplo Los estudiantes leen los documentos incluidos en el Anexo I.1 ¿Qué es el conocimiento científico? que revisa brevemente las opiniones de algunos importantes pensadores de la ciencia, y el Anexo I.2 (Introduciendo la indagación y la naturaleza del conocimiento científico, de Ernst Mayr). Luego, el docente guiará un debate sobre qué es el conocimiento científico y cómo se genera y transmite.

INDICACIONES AL DOCENTE

Es importante que los estudiantes extraigan de este texto las características que se atribuyen a un conocimiento científico y lo contrasten con otros tipos de conocimiento, por ejemplo el teológico, tal como se analiza en el texto. Aplicar estos conceptos para discutir sobre si la astrología se basa en conocimiento científico o no.

Los estudiantes deben tener claro que un conocimiento o hipótesis es considerado científico si tiene como característica la posibilidad de ser refutado por la experiencia a través de observaciones y experimentación. Si no admite esta posibilidad no puede considerarse un conocimiento empírico o científico.

Las siguientes consideraciones ayudarán a guiar al alumnado en sus actividades y a responder sus preguntas de manera que puedan efectivamente forjarse una idea definida de lo que es la ciencia y la indagación científica:

- 1) Diferentes tipos de preguntas llevan a diferentes tipos de investigación científica. Algunas investigaciones involucran la observación y descripción de objetos, organismos o eventos, mientras que otras involucran la recolección de especímenes. Algunas requieren experimentos y otras la búsqueda de mayor información. Algunas llevan al descubrimiento de nuevos objetos y fenómenos, otras involucran la construcción de modelos.
- 2) El conocimiento científico y el entendimiento son las guías de la investigación científica. Diferentes áreas de la ciencia emplean diferentes métodos, teorías centrales, y estándares para avanzar en el conocimiento y entendimiento científico.
- 3) Las matemáticas son importantes en todos los aspectos de la indagación científica.
- 4) La tecnología utilizada para recolectar datos aumenta la seguridad y precisión y permite a los científicos analizar y cuantificar los resultados de las investigaciones.
- 5) Las explicaciones científicas enfatizan la evidencia, utilizan argumentos con consistencia lógica y principios científicos, modelos y teorías. La comunidad científica acepta y utiliza tales explicaciones hasta que sean desplazadas por otras científicamente más adecuadas o mejores.

- 6) La ciencia avanza en base al escepticismo. Parte de la indagación científica es cuestionar las explicaciones de otros científicos y hacerles preguntas inquisitivas. Los científicos evalúan las explicaciones propuestas por otros científicos examinando la evidencia, comparando evidencias, identificando fallas en el razonamiento, sugiriendo proposiciones que están más allá de las evidencias, y sugiriendo explicaciones alternativas para las mismas observaciones.
- 7) Las investigaciones científicas a veces resultan en nuevas ideas y fenómenos para estudiar, generan nuevos métodos o procedimientos de investigación, o desarrollan nuevas tecnologías que mejoran la recolección de datos. Todos estos resultados pueden llevar a nuevas investigaciones.

*Texto adaptado de: National Academy of Sciences, U. 1996. National Science Education Standards. N. A. Press, editor.

Actividad 2

Enseñar acerca de la naturaleza de la ciencia y las características de una hipótesis científica a otros estudiantes del mismo colegio.

Ejemplo En el Anexo 1.3 se incluyen dos documentos sobre actividades diseñadas para tener la experiencia de lo que significa una hipótesis científica y cómo se origina y se prueba el conocimiento científico. Dividir el curso en grupos que leerán y discutirán estos documentos. Luego prepararán el material necesario para llevar a cabo esta experiencia con alumnos 7° Año Básico y 2° Año Medio.

INDICACIONES AL DOCENTE

Es necesario que los estudiantes practiquen primero entre ellos estas actividades, haciéndose mutuamente preguntas entre los dos grupos, antes que la lleven a cabo entre apropiadamente a estudiantes de cursos entre 7° Año Básico y 2° Año Medio. Divididos en grupos, los estudiantes realizarán esta actividad en distintos cursos y consignarán las dificultades y las preguntas que surgieron, para luego hacer un foro en el que se compartan las distintas experiencias.

Actividad 3

Analizar literatura científica en temas biológicos, identificando los elementos que caracterizan al conocimiento científico.

Ejemplo En el anexo aparecen varios trabajos científicos clásicos de la biología que pueden ser leídos con ayuda del profesor de inglés y dividiendo el curso en grupos para cada trabajo. Identificar en estos trabajos los siguientes elementos o etapas de la investigación que siempre están presentes en la actividad de conocer científicamente: a) la descripción del o los fenómenos a explicar; b) la hipótesis explicativa, que se refiere a un sistema de conceptos capaz de explicar el fenómeno en observación; c) la deducción de otros fenómenos a partir de la hipótesis explicativa; d) la observación de los fenómenos deducidos, distinguiendo las evidencias que apoyan o refutan la hipótesis. Estos elementos no se dan necesariamente en el orden expuesto, pero deben poder reconocerse en un trabajo científico.

INDICACIONES AL DOCENTE

Los trabajos se presentan en su formato original en inglés. Tal como la actividad anterior, se presta para un tratamiento transversal en conjunto con la asignatura de inglés. El esquema de los elementos que definen una actividad científica es el propuesto por Maturana y Varela en “El árbol del conocimiento”, libro que se encuentra en la biblioteca de aula y que los alumnos deben consultar.

Diseñando una investigación

Actividad

Proponer un proyecto de investigación científica sobre temas biológicos ya tratados. Presentarlo y discutirlo en el curso.

Ejemplo Los estudiantes separados en grupos seleccionan un tema de los que han sido estudiados durante este año o años anteriores y siguen una pauta provista por el docente para diseñar una investigación. Primero deben formular una pregunta clara y luego, guiados por el docente, buscarán y recolectarán evidencias previas, elaborarán una estrategia experimental, propondrán una respuesta a la pregunta original, y comunicarán al curso tanto el proceso que siguieron como los posibles resultados de la investigación.

INDICACIONES AL DOCENTE

Este trabajo debe ser propuesto a los alumnos al inicio del curso con el objeto de que puedan escoger sus temas e inicien su investigación bibliográfica. Es importante mantener en todo momento contacto con los alumnos y alumnas, para conocer de sus avances, de la literatura consultada y ayudarles a generar una buena hipótesis de trabajo, que es la que darán a conocer a sus compañeros. Se debe enfatizar que las exposiciones deben ser muy breves, 10 a 15 minutos por grupo, como máximo.

Los estudiantes deben escoger un tema de su común interés y llevar a cabo una investigación en variadas fuentes bibliográficas, incluyendo libros, internet, revistas científicas y separatas. Analizan, seleccionan y sistematizan la información recogida. En esta etapa deben exponer frente al curso el tema y la hipótesis con que trabajarán. El curso aporta críticamente a las explicaciones dadas por sus compañeros y cuestiona al grupo acerca de la factibilidad de poner a prueba la hipótesis planteada, la cual puede ser modificada luego de los aportes del curso.

Los estudiantes deben ser instruidos y guiados para que puedan identificar, dar forma y entender la pregunta que estará bajo investigación o indagación. Esto incluye que sepan claramente lo siguiente: 1) cuál es la pregunta que se está haciendo; 2) cuál es el conocimiento que sirve de base y de marco para esa pregunta; 3) qué es lo que tendrán que hacer para contestar la pregunta.

Es conveniente que el docente provea a los estudiantes con un conjunto de preguntas que los ayudarán a guiar esta actividad. 1) Preguntas que pueden ayudar a enfocar una investigación: ¿Qué es lo que queremos saber o explicar acerca de.....? ¿Qué tipo de observaciones serían las más adecuadas y cómo podríamos hacerlas? ¿Es esta la mejor manera de contestar nuestras preguntas? Si hacemos esto, ¿qué esperamos que ocurra?; 2) Preguntas que deben hacerse y ser contestadas durante la investigación: ¿Qué datos responderán la pregunta? ¿Cuáles son las mejores observaciones y mediciones que se deben hacer?; 3) Preguntas que deben hacerse para centrar las discusiones: ¿Cómo organizaremos los datos para presentar la más clara respuesta a nuestra pregunta? ¿Cómo debemos organizar la evidencia para presentar la más fuerte explicación?

En la búsqueda de los métodos y estrategias experimentales adecuados para poner a prueba una hipótesis de trabajo los estudiantes deben investigar en la literatura y/o consultar con especialistas. Es necesario conocer las limitaciones del método y tomar en cuenta que cuando se trate de comparar datos cuantitativos deben explicar el método estadístico que utilizarán.

Es importante que los estudiantes propongan resultados posibles, indicando cuáles probarían y cuáles descartarían la hipótesis. Es también importante que los estudiantes hagan predicciones según su hipótesis y aprecien cuáles de esas predicciones se pueden poner a prueba experimentalmente en base a la información disponible y cuáles requieren trabajo previo. Es decir, deben distinguir las hipótesis basadas en hechos ya probados y las hipótesis sobre datos hipotéticos.

Es posible que cuando presenten sus posibles resultados surjan nuevas hipótesis planteadas por sus compañeros que no participaron en la investigación. Es parte del juego de la ciencia aceptar las nuevas interpretaciones para los mismos resultados.

Durante las actividades de indagación los estudiantes interactúan con sus profesores y sus pares. Establecen conexiones entre los temas científicos que están tratando y aprendiendo y el conocimiento científico que encuentran en diversas fuentes. Aplican contenido científico a nuevas cuestiones o preguntas, se involucran en la búsqueda de solución a problemas, en la planificación, toma de decisiones, y discusiones grupales.

En todas las etapas de la indagación los docentes guiarán, enfocarán, desafiarán y estimularán a los estudiantes. Es importante que se cuestionen y desafien las creencias populares del alumnado ofreciéndoles explicaciones con base científica como alternativas. En las discusiones abiertas o en la búsqueda de explicación a las observaciones debe intervenir el docente para enfocar las ideas, llamar y mantener la atención sobre el tópico en cuestión, y desafiar a los estudiantes a que formulen nuevas explicaciones, para asegurar que la experiencia llegue a producir entendimiento sobre la materia. Una intervención prematura priva a los estudiantes de las oportunidades de confrontar los problemas y encontrar las soluciones. A su vez, una intervención demasiado tardía tiene el riesgo de frustrar a los estudiantes.

Los estudiantes deben planear y hacer presentaciones al resto de la clase acerca de su trabajo, decidiendo ellos mismos la manera de organizar y presentar los datos. Deben explicar y justificar su trabajo a ellos mismos y a otros como un medio para desarrollar una actitud científica, ejercitando la capacidad de poner a prueba la validez del conocimiento encontrado en sus indagaciones, aceptando y reaccionando positivamente a las críticas constructivas de los demás.

Evaluación Unidad 3

Verificación de conocimientos y habilidad de razonar

1. Explique los criterios que utiliza Ud. para determinar si un conocimiento es o no científico.
2. ¿Por qué en ciencia se evita decir que una hipótesis o teoría es “verdadera”?
3. Discuta el papel que juegan las actividades intelectuales de inducción y deducción en la manera como se genera conocimiento científico.
4. Diseñe una actividad para enseñar la naturaleza del conocimiento científico.

Anexo 1: Enseñando ciencia

I.1 ¿Qué es el conocimiento científico?

a. Ciencia y conocimiento

Hoy día es de cultura general distinguir al conocimiento científico de otro tipo de conocimiento, así como también comprender su naturaleza, utilidad y las características que lo hacen permanecer o evolucionar en el tiempo. La intención de este documento no es presentar una acabada discusión del tema sino proveer algunos elementos básicos que nos sirvan para estimular la reflexión sobre cómo se construye y cómo adquiere validez el conocimiento científico. Revisaremos brevemente la opinión de algunos pensadores que han analizado el problema sólo con el fin de ilustrar que en la actividad científica confluyen y se interrelacionan elementos de la experiencia, la psicología y la lógica formal.

El conocimiento científico aspira a ser completamente impersonal y procura establecer lo que ha sido descubierto por la inteligencia colectiva de la Humanidad, por sobre barreras geográficas, razas y creencias. El éxito de esta empresa ha llevado a establecer estándares que deben cumplirse en todo proceso científico, dando además una base compartida de conocimientos que puede ser discutida, y a la que contribuyen investigadores desde los más diversos campos específicos.

En el acto de conocer científicamente se construye una herramienta para ver el mundo. En las palabras de Karl Popper, la ciencia es una forma de construir la realidad que depende fundamentalmente de acciones destinadas a corroborar la correspondencia entre teorías o hipótesis y fenómenos. Las teorías, dice Popper, “son redes que lanzamos para atrapar aquello que llamamos “el mundo”; para racionalizarlo, explicarlo, y dominarlo. Y tratamos que la malla sea cada vez más fina”.

b. Sobre método científico

Maturana y Varela (1) explican el acto de conocer científicamente como una manera de construir una visión del mundo que adquiere validez por la forma de generar explicaciones que utilizan los científicos. Una explicación siempre reformula o recrea las observaciones de un acontecimiento poniéndolas en un sistema de conceptos que cumple con ciertos criterios de validación. En el caso de la ciencia, el criterio de validación considera al menos cuatro condiciones que deben ser satisfechas en cualquier método científico: a) Descripción del o los fenómenos a explicar; b) Proposición de un sistema de conceptos aceptables (hipótesis explicativa). Esto es provisional, aún no está en absoluto justificada puesto que carecemos de una lógica inductiva; c) Deducción de otros fenómenos a partir de la hipótesis explicativa, y descripción de sus condiciones de observación; d) Observación de estos otros fenómenos, midiendo variables y evaluando nuevas evidencias en términos de la hipótesis explicativa, contrastando lo que se esperaba de acuerdo a las deducciones con lo que se obtuvo por la observación (1, 4).

Cada uno de estos pasos queda registrado explícitamente en documentos que persisten más allá de una persona o una generación, pero no tienen por qué ocurrir en la secuencia que hemos puesto. El manejo del método científico no garantiza que se vaya a generar conocimiento de interés, sólo establece los criterios de validación de este conocimiento para considerarlo científicamente producido.

El hombre de ciencia, ya sea teórico o experimental, propone enunciados, o sistemas de enunciados, y los contrasta paso a paso. En el campo de las ciencias empíricas construye hipótesis (suposiciones para sacar de ellas una consecuencia), o sistemas de teorías, y las contrasta con la experiencia por medio de observaciones y experimentos (4).

El experimento es una acción planeada, en la que todos y cada uno de los pasos están guiados por la teoría. Los enunciados de las observaciones y los enunciados de resultados experimentales son siempre interpretaciones de los hechos observados, es decir, son interpretaciones a la luz de teorías. Si las conclusiones singulares resultan aceptables, o verificadas, la idea, hipótesis o teoría ha pasado con éxito las contrastaciones, sin encontrarse, por el momento, razones para rechazarla. Si por el contrario, las conclusiones han sido falseadas, se revela que la teoría de la cual derivaron lógicamente las conclusiones es también falsa (4).

No es posible destilar ciencia de las experiencias sensoriales sin interpretar. Y el único medio que tenemos de interpretar la Naturaleza son las ideas audaces, las anticipaciones injustificables y el pensamiento especulativo. Sin embargo, una vez propuestas, ni una sola de nuestras “anticipaciones” se mantiene dogmáticamente. Nuestro método de investigación no consiste en defender estas anticipaciones para demostrar qué razón teníamos; sino, por el contrario, en tratar de derribarlas con todas las armas de nuestro arsenal lógico, matemático y técnico. Intentamos mostrar que eran falsas con el objeto de proponer nuevas anticipaciones injustificadas e injustificables, nuevos prejuicios precipitados y prematuros. Los que no están dispuestos a exponer sus ideas a la aventura de la refutación no toman parte en el juego de la ciencia (4).

c. ¿Cómo podemos distinguir si un conocimiento es o no científico?

Un sistema es científico o empírico si permite ser contrastado por la experiencia a través de observaciones y experimentación teniendo la posibilidad de ser falseado (el término falsear se utiliza aquí en el sentido de “poner de manifiesto algo que es o era falso”, como antónimo de verificado). Si no admite esta posibilidad, si no incluye un clase de enunciados falseadores cuya ocurrencia puede echar por tierra total o parcialmente una teoría, no se trata entonces de conocimiento empírico o científico. Una teoría se reconoce como empírica si admite enunciados básicos incompatibles con la teoría (enunciados falseadores). La falseabilidad, no la verificabilidad, representa el criterio capaz de discriminar entre el carácter empírico y el metafísico de un sistema teórico.

d. El acto de crear y conocer científicamente

Para entender el acto de crear conocimiento científico, Maturana y Varela nos invitan a suspender el hábito de caer en la tentación de la certidumbre (1). Nuestra situación cotidiana, nuestra condición cultural, y nuestro modo corriente de ser humanos muestran una tendencia a vivir en un mundo de certidumbre, de solidez perceptual donde nuestras convicciones prueban que las cosas son de la manera como las vemos, y lo que nos parece cierto no puede tener otra alternativa. Sin embargo, la ciencia nos muestra que lo que sabemos por la percepción directa es menos de lo que habitualmente pensamos.

En la creación científica, como en cualquier otro tipo de creación humana, la etapa inicial es necesariamente una percepción individual. Esta constituye la base de todo nuestro conocimiento. Luego se pretende eliminar la subjetividad de la sensación y sustituirla por una especie de conocimiento que pueda ser el mismo para todos los que lo perciban. ¿Cómo ocurre esto?

Es importante distinguir el proceso psicológico por el cual se llega al conocimiento científico de la lógica formal del conocimiento. Todo descubrimiento tiene un elemento irracional o una intuición creadora. Einstein (2) decía que la tarea del físico es “la búsqueda de aquellas leyes elementales... a partir de las cuales puede obtenerse una imagen del mundo por pura deducción. No existe una senda lógica que encamine a estas leyes. Sólo pueden alcanzarse por la intuición, apoyada en algo así como un introyección de los objetos de la experiencia”.

En otras palabras, el acto de concebir o inventar una teoría no es susceptible de un análisis lógico, es más bien un problema de la psicología empírica. Nuestras creencias sobre hechos o sucesos se basan algunas veces directamente en la percepción o en la memoria mientras que en otros casos son inferidas. En el proceso de generación de conocimiento científico se realizan inferencias a partir de datos de la experiencia, pero estas inferencias no pueden justificarse por la lógica si no más bien por intuiciones creadoras.

Bertran Russell (3) describe estas inferencias de la siguiente manera: “Las inferencias de la ciencia y del sentido común difieren de las de la lógica deductiva y las matemáticas en un aspecto importante, a saber: que cuando las premisas son verdaderas y el razonamiento correcto, la conclusión es sólo probable”. Las inferencias de la lógica deductiva y de las matemáticas son en cambio demostrativas. Las inferencias probables pueden ser tan fuertes que lleguen a constituirse en certezas prácticas. La intensidad de este tipo de certeza varía en ciencia para las distintas inferencias de acuerdo a grados de probabilidad asignados por el sentido común científico. Pero no habrían principios aceptados para la estimación de tales probabilidades. De manera que las inferencias por las cuales se pasa de hechos percibidos a hechos no percibidos están siempre abiertas a duda.

Desde la perspectiva de la lógica formal, tal como nos hace ver Karl Popper (4), no existe un principio de inducción que justifique formalmente un tránsito de lo particular a lo universal o general. De ahí que Popper sostiene que los enunciados universales, tales como hipótesis o sistemas de teorías, no están basados en inferencias inductivas, es decir en inferencias que pasan de enunciados singulares, tales como descripciones de los resultados de observaciones o experimentos, a enunciados universales. Esto evidentemente se contrapone a la noción más corriente que ha prevalecido en el tiempo. En el deductivismo de Popper, en contraposición al inductivismo, una hipótesis sólo puede contrastarse empíricamente, y únicamente, después que ha sido formulada.

Por lo tanto, no existiría un método lógico de tener nuevas ideas, ni una reconstrucción lógica de este proceso. Los conceptos y teorías científicas surgen y evolucionan a través de una secuencia que incluye intuiciones iniciales, en niveles muy crudos, que se van redefiniendo, precisando, y refinando mediante sucesivas aplicaciones del intelecto al problema, hasta llegar a los conceptos de más alta sofisticación.

e. Naturaleza del conocimiento científico

Como no existe un principio de inducción, los sucesos experimentales y las observaciones particulares, si ocurren tal como fueron deducidas a partir de los enunciados más generales, sólo pueden corroborar las hipótesis o teorías. La corroboración no es un “valor veritativo”, es decir, no puede equipararse a los conceptos de “verdadero” y “falso”, que implican permanencia temporal. (Los conceptos lógicos describen o evalúan un enunciado independientemente de cualquier cambio en el mundo empírico). Esto le da un carácter temporal a las teorías científicas, ya que otras contrastaciones que resulten negativas posteriormente pueden derrocarlas. Durante el tiempo en que la teoría resiste las contrastaciones exigentes y minuciosas, y en que no la deja anticuada otra teoría en la evolución del progreso científico, decimos que ha demostrado su temple o que está corroborada. Pero evitamos decir que es verdadera puesto que nuevos hechos podrían mostrar lo contrario. De ahí que la ciencia no puede pretender alcanzar la verdad. Todo enunciado científico es provisional para siempre. Un conocimiento científico tiene siempre posibilidad de cambio según nuevas interpretaciones y nuevos hechos experimentales (4).

Sin embargo, el esforzarse por el conocimiento y la búsqueda de la verdad siguen constituyendo los motivos más fuertes de la investigación científica. El avance de la ciencia se realiza descubriendo incesantemente problemas nuevos, más profundos y más generales, y condicionando nuestras repuestas (siempre provisionales) a contrastaciones constantemente renovadas y cada vez más rigurosas. Tal como lo expone Popper (4), el avance de la ciencia se encamina hacia una finalidad infinita, y sin embargo alcanzable: la de descubrir incesantemente problemas nuevos, más profundos y más generales, y de sujetar nuestras repuestas (siempre provisionales) a contrastaciones constantemente renovadas y cada vez más rigurosas.

f. Referencias

1. Maturana, H. and F. Varela, Conocer el conocer, en El árbol del conocimiento. Las bases biológicas del entendimiento humano. 1986, Editorial Universitaria: p. 5-18.
2. Russel, B., El conocimiento Humano. Cuarta Edición ed. 1968, Taurus Ediciones, S. A.
3. Einstein, A., Mi visión del mundo. Tercera ed. 1981, Tusquets Editores.
4. Popper, K.R., La lógica de la investigación científica. 1971, Editorial Technos-Madrid.

1.2 Lo que concierne a la ciencia

(Extracto traducido del libro "Esto es la Biología: La ciencia del Mundo Viviente (1997)) De Ernst Mayr

Se ha dicho que el científico busca la verdad, pero muchas personas que no los son pretenden lo mismo. El mundo y todo lo que hay en él constituye la esfera de interés no sólo de los científicos, sino también de los teólogos, filósofos, poetas y políticos. ¿Cómo puede uno establecer un límite entre sus intereses y las del científico?

En qué difiere la ciencia de la teología

El límite entre ciencia y teología tal vez sea fácil ya que los científicos no invocan a lo sobrenatural para explicar cómo funciona el mundo ni tampoco confían en la revelación divina para comprenderlo. Cuando los primeros seres humanos trataban de explicarse los fenómenos naturales, especialmente las catástrofes, invariablemente invocaban seres y fuerzas sobrenaturales, y aún hoy en día la revelación divina es una fuente de la verdad tan legítima como la ciencia para muchos cristianos devotos. Prácticamente todos los científicos que yo conozco personalmente consideran a la religión en el mejor sentido de la palabra, pero los científicos no invocan la causalidad sobrenatural o la revelación divina.

Otra característica de la ciencia que la distingue de la teología es su apertura. Las religiones se caracterizan por su relativa inviolabilidad; en las religiones reveladas una diferencia en la interpretación de siquiera una sola palabra en el documento fuente de la revelación puede llevar al origen de una nueva religión. Esto contrasta notablemente con la situación en cualquier campo activo de la ciencia en el que uno encuentra versiones diferentes de casi cada teoría. Continuamente se hacen nuevas conjeturas, se refutan las anteriores y en todo momento existe considerable diversidad intelectual. Realmente la ciencia avanza por un proceso de variación y selección darwiniano en la formación y comprobación de las hipótesis.

A pesar de la apertura de la ciencia a los nuevos hechos e hipótesis se debe decir que prácticamente todos los científicos -al igual que los teólogos- traen consigo un conjunto de lo que podríamos llamar "primeros principios" al estudio del mundo natural. Uno de estos supuestos axiomáticos es que hay un mundo real independiente de las percepciones humanas. Este podría llamarse el principio de la objetividad (como opuesto a subjetividad) o realismo de sentido común. Este principio no significa que cada científico individualmente sea siempre "objetivo", o incluso que la objetividad entre los seres humanos sea posible en algún sentido absoluto. Lo que significa es que existe un mundo objetivo fuera de la influencia de la percepción humana subjetiva. Muchos científicos -aunque no todos- creen en este axioma.

Segundo, los científicos asumen que este mundo no es caótico sino que estructurado de alguna manera y lo que es más, si bien no todos, los aspectos de esta estructura se rendirán a las herramientas de la investigación científica. Una herramienta primaria usada en toda actividad científica es la prue-

ba. Cada nuevo hecho y cada nueva explicación debe ser probada una y otra vez, preferentemente por distintos investigadores que usen métodos diferentes. Cada confirmación fortalece la probabilidad de la “verdad” de un hecho o explicación y cada demostración de falsedad o refutación fortalece la probabilidad de que una teoría opuesta sea la correcta. Una de las características más relevantes de la ciencia es su apertura al desafío. La voluntad para abandonar una creencia habitualmente aceptada, cuando se propone una nueva y mejor, es una diferencia importante entre la ciencia y el dogma religioso.

El método usado para comprobar la “verdad” en la ciencia variará dependiendo de si lo que se está probando es un hecho o una explicación. La existencia del continente de la Atlántida entre Europa y América se tornó digna de duda cuando dicho continente no fue descubierto durante los primeros cruces del Atlántico en el período de los descubrimientos a fines del siglo quince y comienzos del dieciséis. Después de llevar a cabo completas investigaciones oceanográficas del Océano Atlántico, y aún más convincentemente, después de que en este siglo se tomaron fotos desde satélites, la nueva evidencia demostró fehacientemente que dicho continente no existía. A menudo en la ciencia se puede establecer la verdad absoluta de un hecho. La verdad absoluta de una explicación o teoría es mucho más difícil y habitualmente demora mucho más en obtener aceptación. La “teoría” de la evolución por medio de la selección natural no fue totalmente aceptada como válida por los científicos por más de cien años, y aún hoy en día hay personas de algunas sectas religiosas que no creen en ella.

Tercero, la mayoría de los científicos asume que hay continuidad histórica y causal entre todos los fenómenos del universo material, e incluyen dentro del dominio del estudio científico legítimo todo lo conocido que existe o que sucede en este universo; pero no van más allá del mundo material. Los teólogos también pueden estar interesados en el mundo físico, pero además habitualmente creen en un dominio metafísico o sobrenatural habitado por almas, espíritus, ángeles o dioses y a menudo se cree que este cielo o nirvana es el futuro lugar de descanso de todos los creyentes después de la muerte. Tales constructos sobrenaturales están más allá del ámbito de la ciencia.

I.3 Documentos para practicar la enseñanza de la naturaleza de la ciencia

I.3.a. Introduciendo la indagación y la naturaleza de la ciencia

(Extractos traducidos del libro: "Teaching about Evolution and the Nature of Science. National Academy of Sciences, USA).

ACTIVIDAD 1

Esta actividad presenta procedimientos básicos involucrados en la investigación y los conceptos que describen la naturaleza de la ciencia. En la primera parte de la actividad, el profesor utiliza un cubo numerado para motivar a los alumnos a formular una pregunta -¿qué hay en la base?- y los estudiantes proponen una explicación fundamentada en sus propias observaciones. A continuación, el docente les presenta un segundo cubo y les pide que usen la evidencia disponible para proponer una explicación para lo que hay en la base de este cubo. Finalmente los alumnos y alumnas diseñan un cubo que intercambian y usan para una evaluación. Esta actividad le ofrece a los estudiantes la posibilidad de aprender las habilidades y conocimientos asociados con la ciencia como investigación y la naturaleza de la ciencia. Diseñada para los cursos desde 5° básico a 4° medio, la actividad requiere un total de cuatro períodos de clase para su completación. Los cursos de niveles inferiores podrían completar sólo el primer cubo y la evaluación en que los alumnos diseñan un problema basándose en la actividad del cubo.

RESULTADOS ESPERADOS

Esta actividad ofrece a los alumnos oportunidades de desarrollar habilidades de investigación científica". Específicamente, los capacita para:

- identificar preguntas que se pueden responder a través de la investigación científica,
- diseñar y dirigir una investigación científica,
- utilizar herramientas y técnicas apropiadas para reunir, analizar e interpretar información,
- desarrollar descripciones, explicaciones, predicciones y modelos utilizando evidencias,
- pensar crítica y lógicamente para establecer relaciones entre la evidencia y las explicaciones,
- reconocer y analizar explicaciones y predicciones alternativas, y
- comunicar los procedimientos y explicaciones científicas.

Esta actividad proporciona a todos los alumnos la posibilidad de desarrollar la comprensión respecto a la investigación y la naturaleza de la ciencia. Específicamente, presenta los siguientes conceptos:

- Diferentes clases de problemas sugieren diferentes tipos de investigaciones científicas.
- El conocimiento y la comprensión científica actuales orientan las investigaciones científicas.
- La tecnología utilizada para reunir información mejora la precisión y permite a los científicos analizar y cuantificar los resultados de las investigaciones.

- Las explicaciones científicas enfatizan la evidencia, tienen argumentos lógicamente consistentes y utilizan principios, modelos y teorías científicas.
- La ciencia se distingue de otras formas del saber y de otros cuerpos de conocimiento por el uso de estándares empíricos, argumentos lógicos y escepticismo, y los científicos se esfuerzan por lograr las mejores explicaciones posibles sobre el mundo natural.

EXPLICACIONES CIENTÍFICAS

La búsqueda de explicaciones científicas a menudo comienza con una pregunta acerca de un fenómeno natural. La ciencia es una manera de desarrollar respuestas o mejorar explicaciones respecto a las observaciones o hechos del mundo natural. La pregunta científica puede originarse a partir de la curiosidad de un niño sobre dónde se fueron los dinosaurios o por qué el cielo es azul. O la pregunta puede ampliar las interrogantes de los científicos al proceso de extinción o la química de la reducción del ozono.

Una vez que se plantea la pregunta comienza un proceso de indagación científica y finalmente puede haber una respuesta o una explicación propuestas. Los aspectos críticos de la ciencia incluyen la curiosidad y la libertad para satisfacer esa curiosidad. Otras actitudes y hábitos de pensamiento que caracterizan la indagación científica y las actividades de los científicos incluyen inteligencia, honestidad, escepticismo, tolerancia a la ambigüedad, apertura al nuevo conocimiento, y la voluntad para compartir públicamente el conocimiento.

La indagación científica incluye aproximaciones sistemáticas a la observación, la recolección de información, la identificación de variables significativas, la formulación y comprobación de hipótesis y a hacer mediciones precisas, exactas y confiables. La comprensión y el diseño de experimentos son también parte del proceso de investigación.

Las explicaciones científicas son más que los resultados de reunir y organizar información. Los científicos también participan en procesos importantes como la elaboración de leyes, la construcción de modelos y el desarrollo de hipótesis basadas en información. Estos procesos extienden, clarifican y unen las observaciones y la información y, algo muy importante, desarrollan explicaciones más profundas y más amplias. Los ejemplos incluyen la taxonomía de organismos, la tabla periódica de los elementos y teorías de la descendencia común y selección natural.

Una característica de la ciencia es que muchas explicaciones cambian continuamente. Dos tipos de cambios ocurren en las explicaciones científicas: se desarrollan nuevas explicaciones y las antiguas se modifican.

Sólo porque alguien formula una pregunta sobre un objeto, organismo o hecho de la naturaleza no quiere decir, necesariamente, que esa persona esté buscando una explicación científica. Entre las condiciones que se deben cumplir para establecer explicaciones científicas están las siguientes:

- *Las explicaciones científicas se basan en observaciones o experimentos empíricos.* Apelar a la autoridad como explicación válida no cumple con los requisitos de la ciencia. Las observaciones se basan en experiencias sensoriales o en la extensión de los sentidos por medio de la tecnología.
- *Las explicaciones científicas se hacen públicas.* Los científicos hacen presentaciones en encuentros científicos o publican en revistas profesionales haciendo público el conocimiento y poniéndolo a disposición de otros científicos.
- *Las explicaciones científicas son tentativas.* Las explicaciones pueden, y de hecho cambian. No hay verdades científicas en un sentido absoluto.

- *Las explicaciones científicas son históricas.* Las explicaciones del pasado son las bases para las explicaciones contemporáneas, las cuales a su vez son las bases de las del futuro.
- *Las explicaciones científicas son probabilísticas.* La visión estadística de la naturaleza es evidente explícita o implícitamente al establecer predicciones científicas de los fenómenos o al explicar la probabilidad de que ocurran los hechos en situaciones reales.
- *Las explicaciones científicas suponen relaciones de causa-efecto.* Gran parte de la ciencia está orientada a determinar las relaciones causales y desarrollar explicaciones para las interacciones y vínculos entre objetos, organismos y hechos. Las distinciones entre causalidad, correlación, coincidencia y contingencia separan a la ciencia de la seudo-ciencia.
- *Las explicaciones científicas son limitadas.* A veces las explicaciones científicas están limitadas por la tecnología, por ejemplo, el poder de resolución de los microscopios y telescopios. Las nuevas tecnologías pueden derivar en nuevos campos de investigación o ampliar áreas de estudio ya existentes. Las interacciones entre la tecnología y los avances en biología molecular y el rol de la tecnología en exploraciones planetarias sirven como ejemplos.

La ciencia no puede responder todas las preguntas. Algunas están simplemente más allá de los parámetros de la ciencia. Muchas preguntas que se refieren al sentido de la vida, a la ética y la teología son ejemplos de preguntas que la ciencia no puede responder.

MATERIALES Y EQUIPAMIENTO

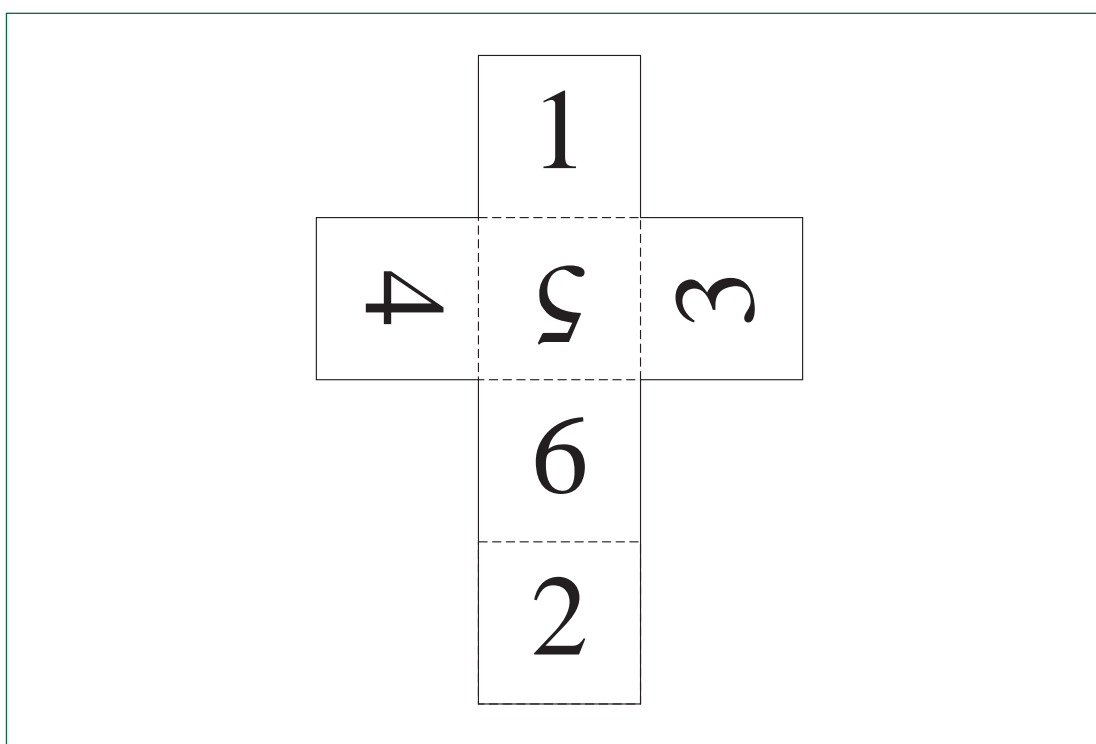
- Un cubo para cada grupo de cuatro alumnos (se entregan modelos).
(Nota: usted podría querer completar la primera parte de la actividad como una demostración para el curso, en ese caso, construya un cubo grande utilizando una caja de cartón. Los lados deben tener los mismos números y marcas del modelo)
- Diez sondas pequeñas como baja-lenguas o lápices.
- Diez espejos de bolsillo pequeños.

ESTRATEGIA INSTRUCCIONAL

Motivación: comience por pedirle al curso que le diga lo que saben sobre cómo hacen su trabajo los científicos. ¿Cómo describirían ellos una investigación científica? Hágalos que piensen sobre los procesos de investigación científica y la naturaleza de la ciencia. Esta es también una oportunidad para que usted evalúe su comprensión actual de la ciencia. Acepte las respuestas de los alumnos y registre las ideas claves en el retro proyector o en el pizarrón.

Explorar: (la primera actividad de cubos se puede hacer como una demostración si usted construye un cubo grande y lo sitúa en el centro de la sala): Primero haga que los alumnos formen grupos de tres o cuatro. Ubique los cubos en el centro de la mesa donde ellos están trabajando; no deben tocar, dar vuelta, levantar o abrir el cubo. Dígales que tienen que identificar una pregunta asociada al cubo. Permítales formular sus propias preguntas. Las preguntas posibles incluyen:

- ¿Qué hay en el cubo?
- ¿Qué hay en la base del cubo?
- ¿Qué número hay en la base?



Usted debe orientar a los alumnos a la pregunta general *¿qué hay en la base del cubo?* Dígale que tienen que contestar la pregunta proponiendo una explicación y que tendrán que convencerlo a usted y a los otros que su respuesta está basada en evidencia. (La evidencia se refiere a las observaciones que el grupo puede hacer sobre los lados visibles del cubo). Dé tiempo a los alumnos para explorar el cubo y para desarrollar respuestas a su pregunta. Algunas observaciones o afirmaciones de hechos que los alumnos podrían hacer incluyen:

- El cubo tiene seis lados.
- El cubo tiene cinco lados expuestos.
- Los números y puntos son negros.
- Los lados expuestos tienen los números 1, 3, 4, 5 y 6.
- Los lados opuestos suman siete.
- Los lados con números pares están sombreados.
- Los lados con números impares son blancos.

Pídale a los alumnos que usen sus observaciones (la información) para proponer una respuesta a la pregunta: *¿qué hay en la base del cubo?* Los grupos de alumnos deberían ser capaces de hacer una afirmación como: Concluimos que hay un 2 en la base. Los alumnos deberían presentar sus razonamientos para esta conclusión. Por ejemplo, podrían basar su conclusión en la observación que los lados opuestos son 1, 3, 4, 5 y 6 porque el 2 no aparece en la secuencia, ellos concluyen que está en la base.

Use esta oportunidad para hacer que los alumnos desarrollen la idea que al combinar dos observaciones diferentes pero relacionadas lógicamente se crea una explicación más convincente. Por ejemplo, 2 no está en la secuencia (es decir 1, ____, 3, 4, 5, 6) y que los lados opuestos suman 7 (es decir, 1 – 6; 3 – 4; __ – 5) y porque 5 está arriba y 5 y 2 suman 7, 2 podría estar en la base.

Si se hace como una demostración, usted podría sacar el cubo sin mostrar la base o permitir a los alumnos que lo desarmen. Explique que los científicos a menudo no tienen certeza de las respuestas que proponen y que a menudo no tienen manera de conocer la respuesta absoluta a un problema científico. Ejemplos como la edad exacta de las estrellas y las razones de la extinción de los organismos prehistóricos apoyarán este punto.

Explicar: comience la hora de clase con una explicación de cómo la actividad estimula la investigación científica y ofrece un modelo para la ciencia. Estructure la discusión de manera tal que los alumnos hagan las conexiones entre sus experiencias con el cubo y los puntos fundamentales (conocimientos) que usted desea desarrollar.

Los puntos fundamentales incluyen lo siguiente:

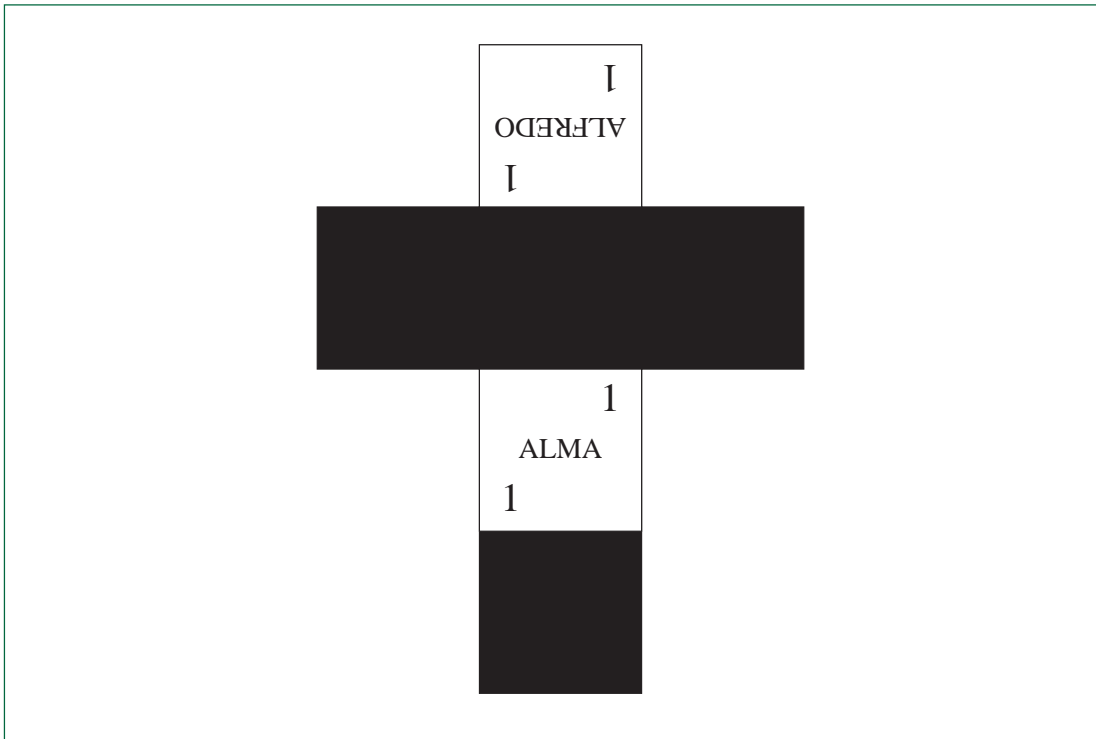
- La ciencia se origina en interrogantes acerca del mundo.
- La ciencia utiliza las observaciones para construir explicaciones (respuestas a las interrogantes). Mientras mayor sea la cantidad de observaciones que usted tenga que apoyen la explicación que propone, más convincente será su explicación, aún cuando no pueda confirmar la respuesta examinando la base del cubo.
- Los científicos hacen públicas sus explicaciones mediante presentaciones en encuentros y revistas profesionales.
- Los científicos presentan sus explicaciones y critican las explicaciones propuestas por otros científicos.

La actividad no describe explícitamente el método científico. Los alumnos tuvieron que trabajar para responder la pregunta y probablemente lo hicieron en forma menos que sistemática. Elementos identificables de un método -como observación, información e hipótesis- fueron claros pero no aplicados sistemáticamente. Usted puede utilizar las experiencias para señalar y clarificar los usos científicos de términos como observación, hipótesis e información.

Para lo que queda de la segunda hora de clases usted debería presentar el “relato” de un verdadero descubrimiento científico. Ejemplos históricos como el de Charles Darwin serían ideales. También le puede dar a los alumnos como tarea que preparen informes breves para presentar.

Elaborar: El principal objetivo del segundo cubo es ampliar los conceptos y habilidades presentadas en las actividades anteriores e introducir el rol de la predicción, el experimento y el uso de la tecnología en la investigación científica. El problema es el mismo que el del primer cubo *¿Qué hay en la base del cubo?* Divida al curso en grupos de a tres e instrúyalos para hacer observaciones y proponer una

respuesta sobre la base del cubo. Los grupos de alumnos deberían registrar sus planteamientos objetivos sobre el segundo cubo. Déjelos identificar y organizar sus observaciones. Si se sienten demasiado frustrados, entrégueles sugerencias que los ayuden. La información esencial sobre el cubo incluye lo siguiente (véase el modelo):



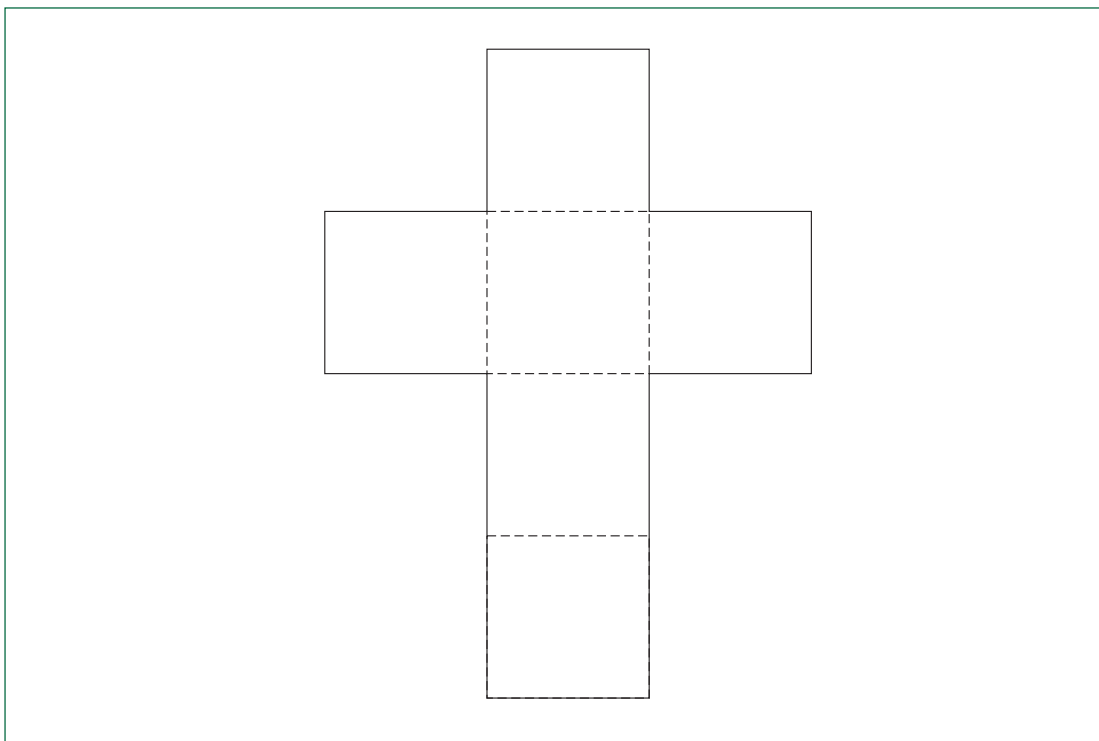
- Los nombres y los números están en negro.
- Los lados opuestos tienen un nombre ya sea masculino o femenino.
- Los lados opuestos tienen un nombre masculino a un lado y uno femenino en el otro.
- Los nombres en los lados opuestos comienzan con las mismas letras.
- El número en la esquina superior derecha de cada lado corresponde al número de letras en el nombre de ese lado.
- El número en la esquina inferior izquierda de cada lado corresponde al número de la primera letra que los nombres en los lados opuestos tienen en común.
- El número de letras en los nombres de los cinco lados expuestos aumenta de tres (Rob) a siete (Roberta).

Cuatro nombres, todos femeninos pueden estar en la base del cubo: Fran, Frances, Francene y Francine. Debido a que no hay información para mostrar el nombre exacto, los grupos pueden tener hipótesis diferentes. Dígale a los grupos que los científicos usan modelos de la información para hacer predicciones y que enseguida diseñan un experimento para evaluar la exactitud de su predicción. Este proceso produce también nueva información.

Dígale a los grupos que usen sus observaciones (la información) para hacer una predicción sobre el número de la esquina superior derecha de la base. Estas predicciones serán muy probablemente 4, 7 u 8. Haga que el grupo decida qué esquina de la base desean examinar y por qué desean examinarla. Los alumnos podrían encontrar difícil determinar qué esquina deberían revisar. Déjelos lidiar con esto e incluso que cometan un error -¡esto es parte de la ciencia! Haga que un alumno obtenga un utensilio como unas pinzas, sonda o baja lengua y un espejo. El estudiante puede levantar la esquina designada menos de una pulgada y usar el espejo para mirar bajo la esquina. Esto simula el uso de la tecnología en una investigación científica. Los grupos deberían describir la información que obtuvieron por medio del “experimento”. Considere que los estudiantes usaron la tecnología para ampliar sus observaciones y conocimiento sobre el cubo, aún cuando no identifiquen la esquina que revelaba la evidencia más productiva.

Si los estudiantes observan la esquina con la información más productiva, descubrirán un 8 en el fondo. Esta observación confirmará o refutará sus hipótesis de trabajo. Francine o Francene son los dos nombres posibles de la base. Los estudiantes proponen sus respuestas a la pregunta y diseñan otro experimento para responder la pregunta. Retire el cubo sin mostrar la base. Haga que cada uno de los grupos presente informes breves sobre su investigación.

Evaluar: El cubo final es una evaluación que consta de dos partes. Primero, en grupos de a tres, los alumnos deben crear un cubo que se usará como ejercicio de evaluación para otros grupos. Después de una hora de clase para desarrollar un cubo, los grupos deberían intercambiar cubos. Los grupos plantearían la misma pregunta: ¿Qué hay en la base del cubo? Deben seguir las mismas reglas -por ejemplo, no pueden levantar el cubo. Los grupos deben preparar un informe escrito sobre el cubo desarrollado por sus pares. (Usted puede hacer que los estudiantes presenten informes orales utilizando el mismo formato). El informe debería incluir lo siguiente:



- título,
- la pregunta a responder,
- observación – información,
- experimento – nueva información,
- respuesta propuesta e información de apoyo,
- un diagrama de la base del cubo, y
- experimentos adicionales sugeridos.

Debido a las múltiples fuentes de datos (información), este cubo puede ser difícil para los alumnos. Puede tomar más de una hora de clase y usted puede tener que proporcionar recursos o ayudarles con alguna información. Recuerde que esta actividad es una evaluación. Usted puede entregar algunas pistas útiles, especialmente para la información, pero ya que la evaluación se refiere a la investigación y la naturaleza de la ciencia, usted debería limitar la información que entregue respecto a estos tópicos.

Los grupos de alumnos deberían completar y entregarle sus informes. Si los grupos no pueden ponerse de acuerdo, usted podría asegurarse de recibir informes individuales o de “minoría”. Usted podría desear que los grupos presentaran informes orales (una conferencia científica). Tiene dos oportunidades para evaluar a los alumnos en esta actividad: puede evaluar su comprensión de la investigación y la naturaleza de la ciencia cuando diseñan un cubo, y puede evaluar sus habilidades y conocimientos cuando descifren el cubo incógnito.

I.3.b. Enseñando acerca de la naturaleza de la ciencia

(Extractos traducidos del libro: “Teaching about Evolution and the Nature of Science. National Academy of Sciences, USA).

DIÁLOGO

ENSEÑANDO ACERCA DE LA NATURALEZA DE LA CIENCIA

En el siguiente ejemplo, Bárbara, Doug y Karen utilizan un modelo para continuar su discusión sobre la naturaleza de la ciencia y sus implicaciones para la enseñanza de la evolución.

“Gracias por reunirse conmigo esta tarde”, dice Bárbara. “Para comenzar esta demostración necesito primero preguntarles qué creen ustedes que es la ciencia”.

“Oh, aprendí eso en la facultad” dice Karen. “El método científico es para identificar un problema, reunir información sobre él, desarrollar una hipótesis que lo resuelva y luego hacer un experimento que compruebe o refute la hipótesis”.

“Pero ese fue uno de mis argumentos sobre la evolución”, dice Doug. “Nadie estaba allí cuando ocurrió la evolución y no podemos hacer experimentos sobre lo que sucedió en el pasado. Por lo tanto, según tu definición, Karen, la evolución no es ciencia”.

“La ciencia es mucho más que sólo apoyar o rechazar hipótesis”, responde Bárbara. “También implica observación, creatividad y criterio. Aquí hay una actividad que yo utilizo para enseñar la naturaleza de la ciencia”.

Bárbara toma un tubo de cartón para envíos postales de aproximadamente un pie de largo, que tiene los extremos de cuatro cuerdas saliendo de él.

Mientras Bárbara tira de las distintas cuerdas de a una a la vez, ella le pide a Doug y Karen que hagan observaciones de lo que ocurre. Después de tres o cuatro tirones, les pide que predigan lo que ocurrirá cuando ella tire una de las cuerdas. Ambos pueden predecir que si Bárbara tira la cuerda A, la cuerda B se moverá. Bárbara les pregunta si hay otras manipulaciones que a ellos les gustaría ver, y ella hace lo que le piden.

Bárbara les pide, en seguida, a Doug y Karen que esbocen un modelo de lo que está dentro del tubo que pueda explicar sus observaciones.

Cuando Karen y Doug se muestran sus esbozos, se dan cuenta que ambos han desarrollado diferentes modelos. Bárbara les pregunta si quieren hacer cambios a sus esbozos basándose en la comparación y ambos hacen modificaciones, aunque sus modelos finales continúen siendo distintos.

Bárbara les da entonces tubos de cartón y cuerda y les pide que construyan el modelo que ellos propusieron. Cuando sus modelos están contruidos, Bárbara levanta su tubo y les pide a Doug y Karen que imiten sus acciones con sus propios modelos, para ver si ambos modelos se comportan de la misma manera que el tubo de Bárbara. Pero cuando Bárbara tira la cuerda A de su tubo, el modelo de Karen no funciona de la misma manera. Karen pregunta si puede hacerle algunos cambios a su modelo y una vez que los hace el nuevo parece funcionar de la misma forma que el de Bárbara. El modelo de Doug se comporta consistentemente de la misma manera que el tubo de Bárbara.

“Ahora esperen un minuto”, dice Karen. “¿Qué tienen que ver las cuerdas y los tubos con la ciencia y la evolución?”

“Ustedes pueden no saberlo, pero lo que acabamos de hacer tiene mucho que ver con lo que es la ciencia. Ustedes observaron lo que pasaba cuando yo tiraba estas cuerdas. Entonces, basándose en sus observaciones iniciales ustedes hicieron una predicción sobre lo que ocurriría si manipulábamos el sistema de una manera específica. ¿Qué tan exacta fue su predicción?”

“Estábamos en lo correcto”, respondió Doug.

“Y por qué ustedes pudieron predecir lo que pasaría antes que yo tirara la cuerda?”

“Yo utilicé lo que había observado en los primeros tirones para ayudarme a predecir lo que pasaría después”.

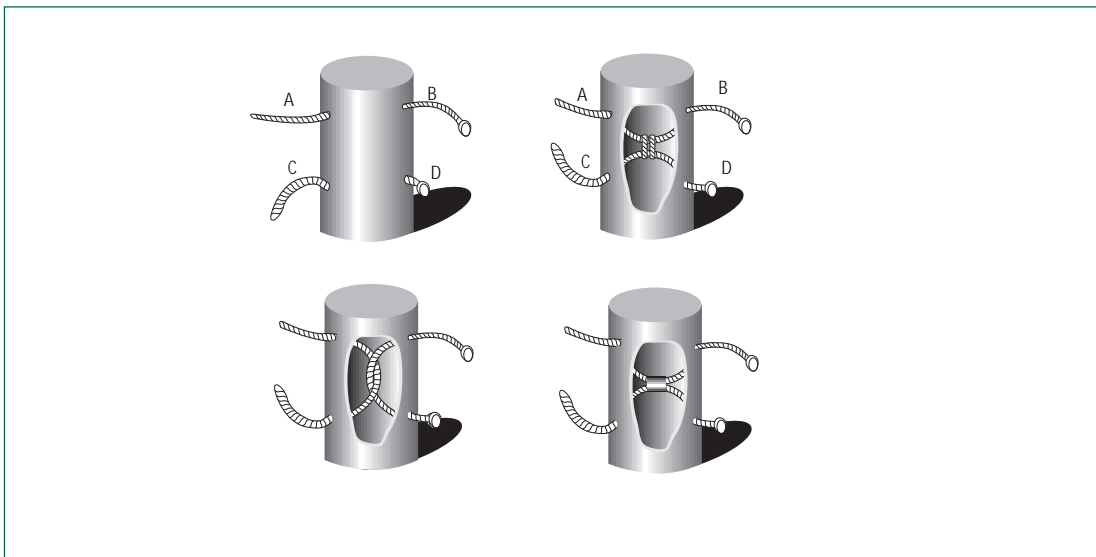
“Básicamente lo que cada uno hizo fue especular acerca de cómo estaba funcionando mi tubo en base a algunas observaciones limitadas. Los científicos generalmente hacen lo mismo. Hacen observaciones y tratan de explicar lo que está pasando o a veces reconocen que más de una explicación se ajusta a su información. Entonces someten a prueba las explicaciones propuestas haciendo predicciones que comprueban. Al principio yo les pedí que hicieran un dibujo de cómo creían ustedes que funcionaba mi tubo, y les pedí que cada uno explicara su ilustración. Ustedes oyeron el punto de vista del uno y el otro respecto a cómo funcionaba el sistema. Doug, ¿cambiaron en algo tus ideas después de escuchar a Karen?”

“Bueno, sí. Primero pensé que las cuerdas A y C eran los dos extremos de una misma cuerda y que B y D eran los dos extremos de otra. Karen tenía A y B como extremos de la misma cuerda y C y D como extremos de otra y su explicación parecía calzar mejor que la mía”.

“Bien, la comunicación sobre las observaciones e interpretaciones es muy importante entre los científicos porque distintos científicos pueden interpretar la información de maneras diferentes. El escuchar los puntos de vista de otro puede contribuir a que el científico revise su interpretación. En esencia eso era lo que ustedes estaban haciendo al compartir sus diagramas. Karen, cuando tu modelo no funcionó, ¿qué hiciste?”

“Todo lo que hice fue ajustar el largo de una de las cuerdas y entonces funcionó perfectamente”.

“Entonces, como un resultado de tu prueba formal de las predicciones en tu modelo, revisaste tu explicación del sistema. Tu comprensión mejoró. En términos científicos, revisaste tu modelo para hacerlo más consistente con tus observaciones posteriores”.



En ciencia, la validez de cualquier explicación está determinada por su coherencia con las observaciones en el mundo natural y por su capacidad para predecir observaciones posteriores”.

“Pero aún así tenemos modelos diferentes”, observa Karen. “¿Cómo sabemos cuál es el correcto?”

Dice Doug: “Tú nos dijiste eso, ¿o no?, Bárbara. Puede haber dos explicaciones posibles para la misma observación”.

“Por lo tanto es posible que a veces los científicos estén en desacuerdo”, dice Karen. “¿Pero significa eso que nosotros no entendemos la evolución porque los científicos no están de acuerdo sobre cómo ocurre?”

“De ninguna manera”, responde Bárbara, “ustedes dos crearon modelos diferentes de mi tubo, pero ambos modelos eran bastante exactos. Y no olviden que había limitantes en los modelos posibles que ustedes podían crear que eran consistentes con la información. No cualquier explicación sería aceptable. En la evolución hay algunas cosas que sabemos no pueden haber ocurrido al igual que confiamos en que algunas cosas ocurrieron”.

“Y si distintos científicos tienen explicaciones diferentes como nos ocurrió a Karen y a mí, entonces me imagino que la ciencia tiene que involucrar, en alguna medida, el criterio”, dice Doug.

“Pero yo pensaba que se suponía que los científicos eran totalmente objetivos”, dice Karen.

“La buena ciencia siempre trata de ser objetiva, pero también confía en las visiones individuales de los científicos. Y los problemas que ellos se plantean, así como los métodos que deciden utilizar, sin mencionar las interpretaciones que puedan tener, pueden estar teñidos por sus intereses y experiencias individuales. Pero las explicaciones científicas son revisadas por otros científicos y deben ser consistentes con el mundo natural y futuros experimentos, por lo tanto hay controles sobre la subjetividad. Lo que leemos en los libros de ciencia es una combinación de las observaciones y de las explicaciones inferidas de aquellas observaciones que pueden cambiar con nuevas investigaciones”.

“Aún así me pregunto”, dice Karen, “¿cómo podemos averiguar cuál es el modelo correcto?”

“Abramos el tubo de Bárbara”, dice Doug.

“Podríamos hacer eso”, dice Bárbara. “Pero asumamos en esta analogía que abrir el tubo no es posible. A veces los científicos se imaginan cómo abrir el mundo natural y mirar hacia adentro, pero a veces no pueden. Y el no abrir el tubo es una buena metáfora respecto a cómo a menudo trabaja la ciencia. La ciencia implica presentar explicaciones que se basan en la evidencia. Con el tiempo, la evidencia adicional puede requerir el cambio de las explicaciones, es decir que en todo momento lo que tenemos es la mejor explicación posible sobre cómo funcionan las cosas. En el futuro, con información adicional, podemos cambiar nuestra explicación original, tal como tú lo hiciste, Karen”.

“¿Recuerdan cuando estábamos hablando sobre si la evolución es un hecho o una teoría? Esa conversación es muy importante en relación a lo que hemos estado haciendo con los tubos. En la medida que los científicos comenzaron a percibir patrones en la naturaleza, empezaron a especular sobre algunas explicaciones para estos patrones. Estas explicaciones son análogas a sus ideas iniciales sobre cómo funcionaba mi tubo. En los términos de la ciencia, estas ideas iniciales son llamadas hipótesis. Ustedes percibieron algunos patrones respecto a cómo las cuerdas estaban relacionadas la una con la otra y usaron estos patrones para desarrollar un modelo que los explicara. El modelo que ustedes crearon es análogo al comienzo de una teoría científica. Salvo que en la ciencia las teorías sólo se formalizan después de muchos años de probar las predicciones que se originan a partir del modelo.

“Debido a nuestras limitaciones humanas para reunir la información completa, las teorías necesariamente contienen algunos juicios sobre qué es lo importante. Los juicios no son una debilidad de la teoría científica; son una parte esencial del cómo trabaja la ciencia”.

“Siempre me imaginé a la ciencia como un puñado de hechos absolutos”, dice Doug. “Nunca pensé en cómo los científicos desarrollan el conocimiento”.

“La creatividad y la intuición son lo que contribuye a hacer de la ciencia una forma poderosa de comprender el mundo natural.

“Hay otra cosa importante que yo trato de enseñarle a mis alumnos con esta actividad”, continúa Bárbara. “Es importante para ellos distinguir las preguntas que pueden ser respondidas por la ciencia de aquellas que no. Aquí hay una lista de preguntas que yo utilizo para hacerlos hablar. Les pregunto si la ciencia puede responder determinada pregunta, si no puede o si éstas contienen algunos aspectos que pertenecen a la ciencia y otros que no. En seguida le pido al grupo que seleccione un par de preguntas y discutan sobre si sabrían cómo responderlas”.

Bárbara le pasa a Doug y a Karen la siguiente lista de preguntas:

¿Encantan los espíritus las casas viejas por la noche?

¿Qué edad tiene la tierra?

¿Debería seguir los consejos de mi horóscopo diario?

¿Cambian las especies a través de largos períodos de tiempo?

¿Debería hacer ejercicio regularmente?

“Por supuesto ustedes pueden formular otras preguntas si está pasando algo en las noticias o si hay algo relacionado con alguna clase anterior. A veces yo incluyo problemas morales o religiosos para que quede claro que se encuentran fuera de la ciencia”.

“Me doy cuenta que eso haría pensar a los alumnos”, dice Karen. “Creo que entender la naturaleza de la ciencia es verdaderamente importante para la vida real”.

“Sobre eso es este ejercicio”.

I.4. Lectura de trabajos científicos en biología

Sobre el rol del timo, el bazo y las gónadas en el desarrollo de la leucemia en una cepa de ratones de alta incidencia de leucemia

por D. P. Mc Endy, M. C. Boon y J. Furth

Cancer Research (Investigación del cáncer) 1944, 4: 377 - 383

“Sobre el papel del Timo, Bazo, y Gónadas en el desarrollo de leucemia en ratones con alto-potencial leucémico”. Traducción del trabajo de D.P.McEndy, M.C. Boon, y J. Furth publicado en Cancer Research Vol: 4, pags. 337-383 (1944). Introducción y comentario de Donald Metcalf. Extraídos de “OUTSTANDING PAPERS IN BIOLOGY” Current Biology, Ltd. Ed. Rebeca Palmer.

Trabajo Destacado en Biología –Seleccionado y Presentado por **Donald Metcalf**

Este trabajo no es sino uno de una serie de estudios originales de Jacob Furth, el más creativo y menos reconocido de los investigadores del cáncer del siglo XX. En éste, él y sus colegas demostraron que la timectomía evitaba el desarrollo de la leucemia en ratas de la raza AKR. Esta fue una observación fundamental que iba a guiar la investigación de aquellos que comenzaron un análisis detallado de la biología del desarrollo de la leucemia linfóide en los años 50.

El estudio -un primer precursor de los actuales estudios transgénicos con ratones sobre la cancerogénesis- explotaba una raza de ratón endogámico que había sido desarrollada por Furth y en la que se producía una leucemia espontánea con una frecuencia mayor al 90%. Furth demostró que el efecto de la timectomía era atribuible en parte al hecho que las primeras células leucémicas que se transformaban estaban localizadas en el timo. La información también sugería que el timo podría tener un rol de control de cierta importancia en la biología de las poblaciones linfoides. El estudio condujo directamente al trabajo de Miller y otros que documentaron los efectos inmunológicos de la timectomía neonatal, la existencia de linfocitos T y B y el rol del timo en regular la formación y selección de linfocitos T. El rol dominante del timo en el desarrollo de leucemia linfóide en ratones AKR, catalizaron los siguientes ingeniosos estudios de Law, Kaplan y posteriormente

Haran-Ghera que establecieron los mecanismos de desarrollo de la leucemia linfóide. También condujo al trabajo de Gross en el aislamiento del primer retro-virus capaz de producir leucemia en mamíferos.

En este laboratorio, nuestra búsqueda de factores reguladores del timo se frustró por la falta de ensayos de cultivos in-vitro adecuados, pero con el desarrollo de ensayos de clonación para poblaciones de granulocitos -macrófagos, los conceptos planteados por el estudio de Furth condujeron al aislamiento exitoso y, finalmente a un uso clínico de los factores estimulantes de colonia.

Pocos trabajos en la investigación del cáncer han motivado tan diversas corrientes de descubrimiento creativo. Ciertamente, pocos procedimientos experimentales simples han conducido a un resultado tan inequívoco como el efecto de la timectomía en la prevención del desarrollo de la leucemia linfóide, ya sea en razas de ratones con alta incidencia de leucemia o siguiendo el uso de la radiación, los carcinógenos químicos o los virus.

SOBRE EL ROL DEL TIMO, EL BAZO Y LAS GÓNADAS EN EL DESARROLLO DE LA LEUCEMIA EN UNA CEPA DE RATONES DE ALTA INCIDENCIA DE LEUCEMIA*

D. P. McEndy, M.D., M. C. Boon, M.A., y J. Furth, M.D.

*(Del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Cornell, New York 21 N.Y.)
(Recibido para publicación el 18 de Febrero de 1944)*

Existe poco conocimiento respecto de los factores que llevan al desarrollo de la leucemia espontánea en una cepa de ratones de alta incidencia de leucemia. Se sabe que la ocurrencia de la enfermedad está determinada por factores hereditarios (2), que las células de la leucemia no están presentes como tales en el período pre-leucémico (13), y que la transformación maligna que tiene lugar entre el quinto y octavo mes de vida, se posterga o evita mediante alimentación reducida (13). Más aún, los estudios genéticos (4) han sugerido que ciertas células con altas potencialidades neoplásicas pueden estar presentes en forma latente en ratas con susceptibilidad hereditaria a la leucemia. Se ha señalado que el timo está casi siempre involucrado en la leucemia que afecta a la cepa de alta incidencia de la leucemia (Ak) sometida a investigación. A veces es el único órgano involucrado mientras que el grado de infiltración de la leucemia en el bazo y en los nódulos linfáticos es variable y la médula ósea a menudo aparece normal. Así, el timo puede ser la ubicación más común de los linfocitos potencialmente neoplásicos y, en consecuencia, parecía conveniente averiguar qué efecto tendría su eliminación a una edad temprana en la incidencia de la leucemia. El bazo es otro órgano linfóide, y si los neoplasmas se originan en él a partir de células preformadas destinadas a transformarse en malignas a una edad posterior, entonces la extirpación del bazo durante el período preleucémico podría reducir la incidencia de esta enfermedad. También es posible que estos órganos tengan influencia en la ocurrencia de la leucemia de una u otra forma y que esto sería demostrado por su extirpación.

La relación de los órganos sexuales con la leucemia en los ratones está indicada por la mayor frecuencia de esta enfermedad en animales hembras (2) y por la producción experimental de la

*Estas investigaciones han sido apoyadas por la Fundación internacional de Investigación del Cáncer, El Fondo Anna Fuller, Memorial Trust Lady Tata y el Memorial Fund para Investigación Médica Infantil Jane Coffin.

leucemia mediante hormonas sexuales. Ya en 1937 Gardner (5) y Lacassagne (7) habían señalado la frecuente ocurrencia de leucemia en cepas de ratones tratados con estrógeno y en los que la leucemia no era común.

Esta línea fue seguida por Gardner y sus asociados (6); Shimkin, Grady y Andervont (15); así como Bischoff, Long, Rupp y Clarke (1) todos los cuales han demostrado bajo condiciones experimentales bien controladas que la incidencia de la leucemia puede ser enormemente aumentada en la mayoría de las cepas de ratones por medio de una administración prolongada de dosis relativamente grandes de hormonas estrogénicas naturales o sintéticas. Marine y Rosen (8) descubrieron que la linfomatosis era más común en las aves de corral castradas que en los machos normales.

Para saber más acerca del rol jugado por las hormonas sexuales en la incidencia de los neoplasmas linfoides en la cepa de alta incidencia de leucemia Ak, se sometieron a una gonadectomía tanto los machos como las hembras de esta cepa y se mantuvieron bajo observación hasta su muerte natural.

Materiales y métodos

Todos los experimentos fueron llevados a cabo en ratones de la cepa de alta incidencia de leucemia Ak, criados en este laboratorio durante los últimos 15 años. De vez en cuando hay una ligera variabilidad en el porcentaje de incidencia de leucemia para los diferentes sub linajes de esta cepa y, por lo tanto, cada grupo de animales experimentales fue hecho coincidir con ratones parientes de la misma generación y sub-linajes como controles. La incidencia de leucemia espontánea en los diferentes sub-linajes es aproximadamente la misma.

Todos los ratones fueron mantenidos bajo las condiciones más idénticas posibles hasta su muerte natural. A todos los animales se les practicó autopsia; cuando el diagnóstico inicial fue dudoso se hicieron secciones microscópicas del hígado, el bazo, los nódulos linfáticos, la médula ósea y a veces del timo.

Las timectomías se efectuaron en los ratones que estaban entre los 31 y 71 días de edad debido a que la mortalidad operatoria era muy alta entre los ratones más jóvenes. La técnica utilizada fue esencialmente la misma que la descrita por Segaloff para la rata (14). Durante la autopsia el mediastino fue cuidadosamente examinado.

TABLA I: INCIDENCIA DE LEUCEMIA EN RATONES EXPERIMENTALES Y DE CONTROL

Ratones	Timectomía				Esplenectomía				Gonadectomía			
	Hembras		Machos		Hembras		Machos		Hembras		Machos	
	experi- mental	control	experi- mental	control	experi- mental	control	experi- mental	control	experi- mental	control	experi- mental	control
N° en exp.	40	44	46	44	71	75	87	94	56	67	83	67
N° c/ Leuc	3	34	5	27	38	43	40	48	25	50	50	35
% c/leuc	8	77	11	61	54	57	46	51	45	74	60	52

Las esplenectomías se llevaron a cabo en ratones de entre 28 y 48 días de edad. Se hizo una incisión lateral en la región del bazo a través de la piel y la pared abdominal. El bazo fue extraído a través de esta abertura, se ligaron los vasos sanguíneos y el órgano fue extirpado.

Las ovariectomías se realizaron en animales de entre 23 y 56 días de edad. Los ovarios fueron expuestos por medio de una incisión lumbar y removidos junto con los oviductos y una porción del cuerpo grasoso. Las orquidectomías se llevaron a cabo en ratones de entre 20 y 56 días de edad. Se hizo una incisión escrotal, y se ligaron las vías deferentes y los vasos testiculares con una sola ligadura y se extrajo el testículo y el epidídimo.

Los animales que murieron antes de la aparición del primer caso de leucemia fueron descontados del experimento. En concordancia, en los grupos de timectomía y gonadectomía y sus controles están incluidos animales que vivieron seis meses o más; mientras que en los grupos de esplenectomía y sus controles se incluye animales que vivieron cinco meses o más. La pérdida en cada uno de los grupos de hembras fue pequeña (1 a 3 ratones), mientras que entre los machos fue relativamente alta (3 a 27 ratones) debido a peleas entre los 3 y 5 meses de edad.

Resultados experimentales y su discusión

El efecto de la timectomía se ve en las figuras 1 y 2, el de la esplenectomía en las figuras 3 y 4, el de la ovariectomía en la figura 5 y el de la orquidectomía en la figura 6. Los resultados de todos los experimentos se resumen en la tabla I.

La reducción en la incidencia de leucemia como consecuencia de la timectomía es notable tanto en los ratones machos como hembras. Nunca se habían observado cifras de porcentajes tan bajas para la leucemia (11 % y 8%) en los ratones normales de esta cepa. Cifras similarmente bajas (10,1%) se han encontrado sólo en una serie experimental, es decir, en ratones que fueron subalimentados (13) y surge la pregunta de si los efectos de la timectomía se deben a la mala nutrición.

Fig. 1: Incidencia de la leucemia y mortalidad por otras causas entre ratones hembras timectomizados de la cepa AK y controles

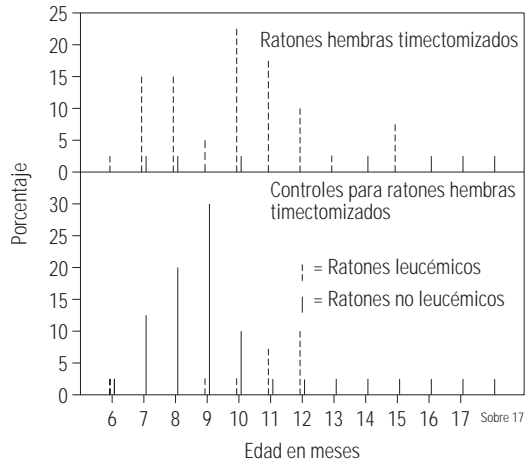


Fig. 2: Incidencia de la leucemia y mortalidad por otras causas entre ratones machos timectomizados de la cepa AK y controles

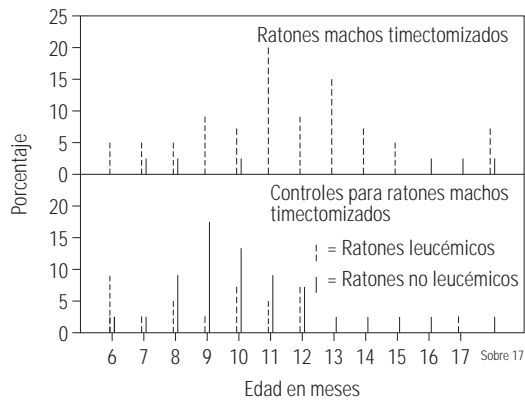


Fig. 3: Incidencia de la leucemia y mortalidad por otras causas entre ratones hembras esplenectomizados de la cepa AK y controles

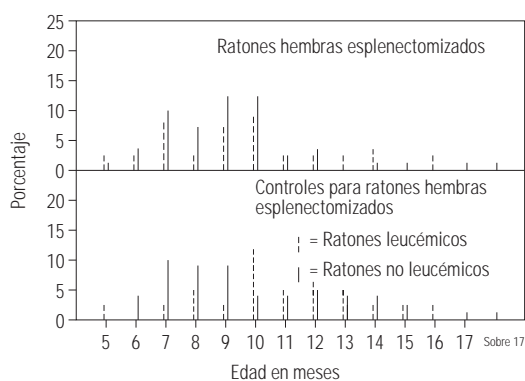


Fig. 4: Incidencia de la leucemia y mortalidad por otras causas entre ratones machos esplenectomizados de la cepa AK y controles

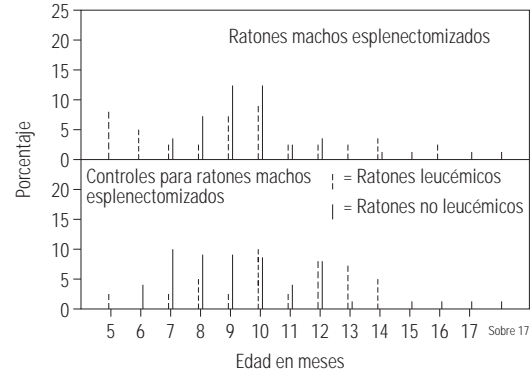


Fig. 5: Incidencia de la leucemia y mortalidad por otras causas entre ratones hembras ovariectomizadas de la cepa AK y controles

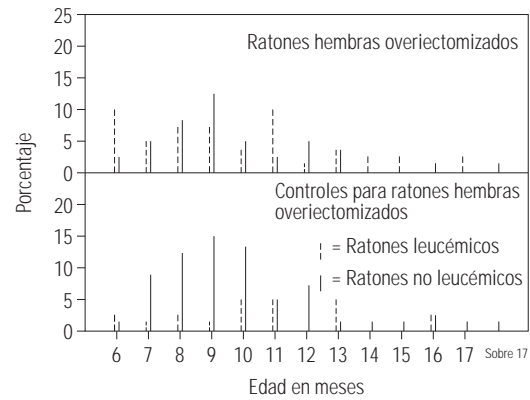
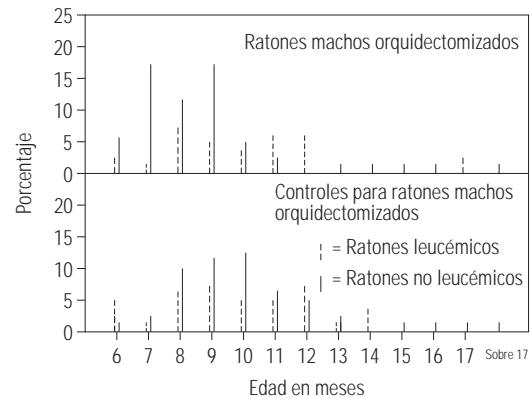


Fig. 6: Incidencia de la leucemia y mortalidad por otras causas entre ratones machos orquidectomizados de la cepa AK y controles



En los experimentos de subalimentación (13) la reducción calórica de una dieta adecuada comenzó a la edad de cuatro semanas y los animales presentaban claramente peso bajo y talla pequeña al ser comparados con los controles, mientras que los animales de la serie actual eran casi tan grandes como los controles aunque parecían tener un peso ligeramente más bajo. Los animales de esta serie experimental no fueron pesados. Los datos precisos sobre la relación del timo y el peso corporal vendrán a continuación a partir de experimentos que están en desarrollo. Los animales sub-alimentados permanecieron estériles (13), mientras que los animales timectomizados se reproducían bien. Tanto en los animales sub-alimentados como en los timectomizados la mortalidad durante los primeros meses de vida fue mayor que en la de los controles. Entre los ratones sub-alimentados la mortalidad excesiva ocurría entre 1 y 6 meses de edad y entre los timectomizados entre 1 y 10 meses. Las figuras 1 y 2 indican que una proporción mayor de animales timectomizados alcanzaron la vejez, en comparación a los controles y esto también es así para los animales sub-alimentados (13).

El retardo del desarrollo de las ratas por sub-alimentación causa involución del timo y un aumento en la proporción de peso corporal en relación al peso del timo; sin embargo, después de aproximadamente 250 días, la diferencia en estas proporciones es escasa y las cifras son aún más altas en los animales normalmente alimentados que en los retardados (12). Por lo tanto es concebible que la disminución en la incidencia de neoplasmas linfoides resultante de la sub-alimentación sea indirecta y sea la consecuencia inmediata de la involución del timo. Sin embargo, otros neoplasmas fuera de la linfomatosis son igualmente infrecuentes entre los animales sub-alimentados, y si los efectos de la sub-alimentación están relacionados con la atrofia del timo, se debe suponer que este órgano contiene sustancias que influyen sobre las tendencias neoplásicas en general. En consecuencia hay por lo menos tres posibilidades para explicar los resultados de la timectomía: (a) extirpación de sitios de origen de la leucemia, (b) perturbación del desarrollo no específicamente debido a la ausencia de timo, (c) falta de hormonas tímicas hipotéticas. La última suposición parece improbable, ya que la administración de estrógeno produce un aumento de la incidencia de leucemia con involución del timo (6). Una interpretación de las consecuencias de la timectomía aquí descrita debe, por lo tanto, ser postergada hasta que los datos se obtengan a partir de experimentos como aquel sobre el efecto del extracto tímico en animales normales y timectomizados.

La esplenectomía no tuvo un efecto significativo en la incidencia de leucemia o en la longevidad de los animales (figuras 3 y 4). La incidencia de la leucemia fue ligeramente menor entre los animales esplenectomizados que entre los controles, pero hubo una incidencia ligeramente mayor de muerte por otras causas fuera de la leucemia entre los animales esplenectomizados de entre 5 a 9 meses de edad. Los resultados sugieren que en la mayoría de los casos la implicación del bazo en la leucemia es un proceso secundario. Esta conclusión está en armonía con los resultados de experimentos dirigidos a determinar el inicio de la leucemia por medio de bio análisis de varios órganos (13).

El bazo generalmente no es considerado como un órgano esencial para la vida y no disponemos de información que indique que la extensión de la vida de los animales y la incidencia de la enfermedad sea notoriamente alterada al llevar a cabo una esplenectomía en animales adultos inmaduros que no son portadores de infecciones latentes. Los experimentos actuales no han podido establecer ninguno de estos efectos como resultante de la esplenectomía.

La figura 5 muestra que la incidencia de la leucemia espontánea se redujo en ratones por medio de la ovariectomía y la figura 6 que se elevó por la orquidectomía. La gonadectomía fue practicada entre los 20 y

56 días y es probable que los animales hayan sido estimulados en ese tiempo por algunas hormonas androgénicas o estrogénicas. En los estudios sobre el carcinoma Cori de la glándula mamaria (3), siguiendo las observaciones de Leo Loeb se encontró que la incidencia de la enfermedad se reducía de 78,5% a 10% en animales ovariectomizados entre los 2 y 6 meses de edad y a cero por ciento en aquellos ovariectomizados entre los 15 y 22 días. En los experimentos de Murray (9) la incidencia de los tumores mamarios entre los ratones hembra a los que se les había sacado los ovarios entre las 4 y 6 semanas fue de 17,1% en comparación con el 11,5% en hembras normales no reproductoras y 80% en las reproductoras. De estos estudios se puede inferir que algunas hormonas instrumentales en la producción de cáncer mamario ya han sido secretadas entre las 4 y 6 semanas de edad o un poco antes en cantidades suficientes para influir en que aparezca este neoplasma en animales altamente sensibles.

La magnitud de los cambios resultantes de la gonadectomía no fue grande en nuestros experimentos, pero parecía definitiva. La incidencia de la leucemia en hembras a las cuales se les había extraído los ovarios fue de 45% en comparación con el 74% en los controles, mientras que se evidenció el efecto inverso entre los animales orquidectomizados, elevándose la incidencia de leucemia a 60% en los machos del experimento en comparación con el 52% de los controles. Los resultados de la orquidectomía en sí misma probablemente no son estadísticamente significativos, pero es la única instancia hasta ahora conocida por nosotros en la que la leucemia fue más alta en un grupo de ratones que había sido sometido a un procedimiento de operación, que entre los controles correspondientes. Más aún, el resultado está en armonía con las observaciones (a) de que la incidencia de leucemia es definitivamente más alta entre los ratones hembras que entre los machos y (b) que la ovariectomía reduce considerablemente la incidencia de la leucemia.

Pybus y Miller (10) se dieron cuenta que la castración retrasaba el comienzo de la leucemia en una de sus cepas. En los experimentos de Gardner y sus asociados (6) los animales intactos o reproductores no tenían más linfomas que las hembras castradas o vírgenes. Sin embargo, la incidencia de tumores linfoides no fue más alta en las hembras que en los machos de las cepas que ellos estudiaron, indicando que en estos grupos el rol de las hormonas sexuales en la ocurrencia espontánea de esta enfermedad es insignificante. La tendencia de los estrógenos a ser más efectivos en el aumento de la incidencia de tumores linfoides en algunas cepas más que en otras ha sido señalada por Gardner, Dougherty y Williams (6), y esto podría no estar relacionado con una tendencia concomitante a adquirir tumores mamarios de la hipófisis o testiculares en respuesta a los estrógenos. La acción que provoca el linfoma fue inhibida por el propionato de testosterona (6).

Resumen

La extirpación del timo de ratones de una cepa de ratones con alta incidencia de leucemia (Ak) entre los 31 y 71 días de edad dio como resultado una reducción en la incidencia de leucemia espontánea de un 77 a un 8 por ciento en las hembras y de un 61 a 11 por ciento en los machos.

La leucemia es más común en ratones hembra que en machos. La incidencia de esta enfermedad se redujo de un 74 a un 45 por ciento mediante la ovariectomía entre los 23 y 56 días. Entre los machos sometidos a orquidectomía entre los 20 y 56 días, la incidencia de la leucemia fue de 60% en comparación con el 52% que presentaron los controles de esta serie experimental.

La esplenectomía entre los 28 y 48 días no alteró significativamente la incidencia de la leucemia espontánea.

El rol del timo, el bazo y las gónadas en la causalidad o evolución de la leucemia espontánea se discute a la luz de la información que aquí se presenta.

Nuestros reconocidos agradecimientos a la ayuda del Dr. J. A. Saxton Jr. y a la Srta. Alice Klauber en las operaciones necesarias.

Referencias

- a) BISCHOFF, F., LONG, M. LOUISA, RUPP, J. J., AND CLARKE, GEORGENA J. Influence of Toxic Amounts of Estrin Upon Intact and Castrated Male Marsh-Buffalo Mice. *Cancer Research*, 2: 198-199. 1942.
- b) COLE, R. K., AND FURTH, J. Experimental Studies on the Genetics of Spontaneous Leukemia in Mice. *Cancer Research*, 1: 957-965. 1941.
- c) CORI, C. F. The Influence of Variectomy on the Spontaneous Occurrence of Mammary Carcinomas in Mice. *J. Exper. Med.*, 45: 983-991. 1927.
- d) FURTH, J. Experimental Leukemia. In *A Symposium on the Blood and Blood-Forming Organs*. Madison, Wis.: University of Wisconsin Press 1939, pp. 105-125.
- e) GARDNER, W. U. Influence of Estrogenic Hormones on Abnormal Growths. *Occas. Publ. Am. Assn. Adv. Sci.* N° 4. Lancaster, Pa.: Science Press. 1937, 67-75.
- f) GARDNER, W. U. DOUGHERTY, T. F., AND WILLIAMS W. L. Lymphoid Tumors in Mice Receiving Steroid Hormones. *Cancer Research*, 4: 73-87. 1944.
- g) LACASSAGNE, A. Sarcomes Lyphoides apparatus chez des souris longuement traitées par des hormones oestrogènes. *Comp. Rend. Soc. De Biol.*, 126: 193-195. 1937.
- h) MARINE, D., AND ROSEN, S. H. Increase in the Incidence of Lymphomatosis in Male Fowls by Castration. *Am. J. Cancer*, 39: 315-318. 1940.
- i) MURRAY, W. S. Ovarian Sacretion and Tumor Incidence. *J. Cancer Research*, 12: 18-25. 1928.
- j) PYBUS, F. C., AND MILLER, E. W. Unpublished work. Cited from *The Genetics of the Mouse*, by H. Grüneberg. Cambridge: Cambridge University Press. 1943.
- k) SAXTON, J. A., Jr. An Experimental Study of Nutrition and Age as Factors in the Pathogenesis of Common Diseases of the Rat. Abstract, *Proc. N.Y. Pathological Society*. New York State J. Med., 41: 1095-1096. 1941.
- l) SAXTON, J. A., Jr. Unpublished data.
- m) SAXTON, J. A., Jr. BOON, M. C., AND FURTH, J. Observations on the Inhibition of Development of Spontaneous Leukemia in Mice by Underfeeding. In press.
- n) SEGALOFF, A. In *the Rat in Laboratory Investigation*. Griffith, J. Q., Jr., and Farris, A. J., Editors. Philadelphia: J. B. Lippincott Company. 1942, pp. 388-389.
- o) SHIMKIN, M. B., GRADY, H. G., AND ANDERVONT, H. B. Induction of Testicular Tumors and Other Effects of Stilbestrol-Cholesterol Pellets in Strain C Mice. *J. Nat. Cancer Inst.*, 2: 65-80. 1941.

Una estructura para el ácido desoxirribonucleico

Por J. D. Watson y F. H. C. Crick

Nature 1953, 171: 737 - 738

"Una estructura para el ácido desoxirribonucleico" Traducción del trabajo de J.D. Watson y F.H.C. Crick publicado en Nature Vol: 171, pags. 737-738 (1953). Introducción y comentario de Sydney Brenner. Extraídos de "OUTSTANDING PAPERS IN BIOLOGY" Current Biology, Ltd. Ed. Rebeca Palmer.

Trabajos destacados en Biología – Seleccionado y presentado por Sydney Brenner

Cuando fui a Oxford en octubre de 1952 para trabajar sobre bacteriófagos con Hinshelwood tenía la intención de ver si la química física podría proporcionar ayuda para resolver problemas biológicos. Yo debería haber ido a estudiar biología molecular pero esa asignatura aún no existía. De mi experiencia anterior en citología y en citogenética yo sabía que el DNA era el material base de la herencia y que el RNA era importante para la síntesis de las proteínas. Había leído el libro de Schrödinger (*What is Life? ¿Qué es la Vida?* Cambridge; 1944) pero, aún más importante, yo había leído el artículo de Neuman (in *Cerebral Mechanisms in behaviour: The Hixon Symposium (Mecanismos Cerebrales del Comportamiento)* editado por Jeffress L A: Hafner Publishing Company, New York; 1951) sobre la teoría de las máquinas autoreproductoras. Más allá de eso yo tenía muchas ideas confusas sobre cómo podrían ejercer su función los ácidos nucleicos y sobre cómo podríamos probarlos, incluyendo una ridícula propuesta de que la estructura de los ácidos nucleicos podría ser resuelta por medidas dicroicas de DNA complejizadas con tinturas de acridina. Conocí a Jack Dunitz y Leslie Orgel en Oxford y tuvimos muchas e interesantes discusiones sobre estos temas. Fue Jack quien me dijo que la estructura del DNA había sido probablemente resuelta por dos personas en Cambridge, Francis Crick y Jim Watson, y me puedo acordar de haber tratado de entender la explicación de Jack sobre el trabajo de Francis acerca de la difracción helicoidal.

En una fría mañana de abril de 1953 con Jack, Leslie y otro cristalógrafo fuimos a Cambridge, vi el modelo y conocí a Francis y a Jim. Fue el día más emocionante de mi vida. El doble espiral fue una experiencia reveladora; para mí, cada pieza encajó en su lugar y mi vida científica futura se decidió allí y en ese momento.

Cuando apareció el trabajo unas pocas semanas más tarde no fue bien recibido por el sistema, compuesto mayoritariamente por bioquímicos profesionales. En ese momento ellos no podían ver con qué profundidad su campo de especialización iba a cambiar, ofreciéndonos un marco para estudiar la química de la información biológica.

UNA ESTRUCTURA PARA EL ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO

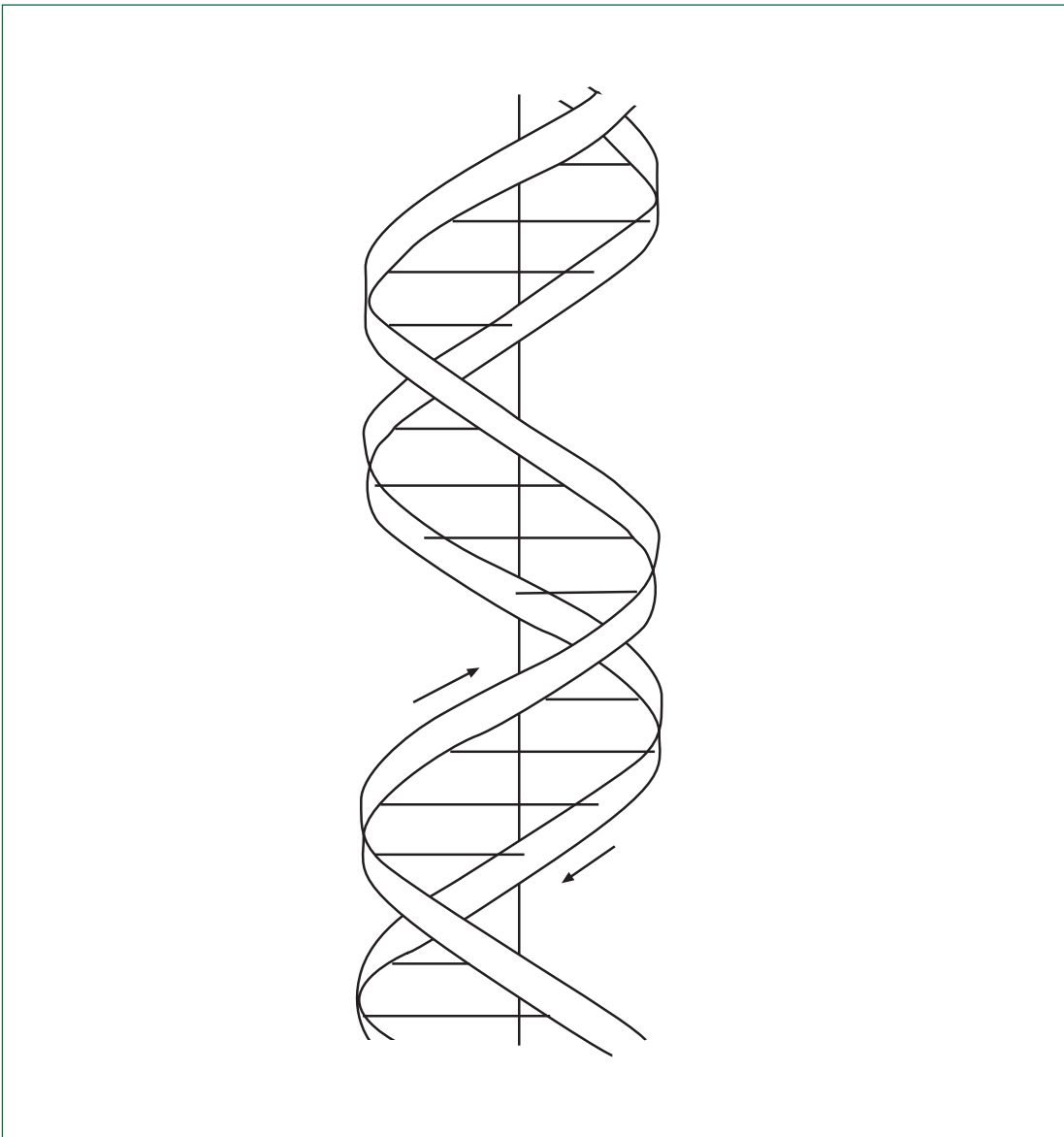
Deseamos proponer una estructura para la sal del ácido desoxirribonucleico (DNA). Esta estructura tiene características nuevas que son de considerable interés biológico.

Una estructura para el ácido nucleico ya ha sido propuesta por Pauling y Corey¹, quienes amablemente pusieron a nuestra disposición su trabajo antes de que fuera publicado. Su modelo consiste en tres cadenas entrelazadas, con los fosfatos cerca del eje de la fibra y las bases en el exterior. En nuestra opinión, esta estructura es insatisfactoria por dos razones: (1) Creemos que el material que da los diagramas de rayos-X es la sal, no el ácido libre. Sin los átomos de hidrógeno ácidos no queda claro qué fuerzas mantendrían unida la estructura, especialmente debido a que los fosfatos cargados negativamente cerca del eje se repelen el uno al otro. (2) Algunas de las distancias de van der Waals parecen ser demasiado pequeñas.

Otra estructura de tres cadenas ha sido propuesta por Fraser (en imprenta). En su modelo, los fosfatos están en la parte externa y las bases en la interna unidas por enlaces de hidrógeno. La descripción de esta estructura es poco clara y por esta razón no haremos comentarios sobre ella.

Queremos presentar una estructura radicalmente diferente para la sal del ácido desoxirribonucleico. Esta estructura tiene dos cadenas helicoidales, cada una de las cuales está enrollada alrededor del mismo eje (véase diagrama). Hemos hecho las suposiciones químicas habituales, es decir que cada cadena consta de grupos de fosfato di-ésteres que se unen a residuos beta-D-desoxiribofuranos con enlaces 3', 5'. Las dos cadenas (pero no sus bases) están relacionadas por una diáda perpendicular al eje de la fibra. Ambas cadenas siguen espirales de giro derecho, pero debido a la diáda las secuencias de los átomos de ambas cadenas se mueven en direcciones opuestas. Cada cadena se asemeja levemente al modelo N° 1 de Furberg²; es decir las bases están en la parte interna de la espiral y los fosfatos en la externa. La configuración del azúcar y de los átomos cercanos a ella se asemeja a la configuración estándar de Furberg, estando el azúcar relativamente perpendicular a la base adyacente. Hay un residuo en cada cadena cada $3,4 \text{ \AA}$. en la dirección z . Hemos supuesto un ángulo de 36° entre los residuos adyacentes de la misma cadena, de manera tal que la estructura se repite después de 10 residuos en cada cadena, es decir, después de 34 \AA . La distancia de un átomo de fósforo desde el eje de la fibra es 10 \AA . Como los fosfatos están en la parte externa, los cationes tienen fácil acceso a ellos.

La estructura es abierta y su contenido de agua es más bien alto. A contenidos más bajos de agua podríamos esperar que las bases se inclinen de manera tal que la estructura podría tornarse más compacta. La característica nueva de la estructura es la forma en la cual se mantienen unidas las dos cadenas por las bases de purina y pirimidina. Las líneas de las bases son perpendiculares al eje de la fibra. Están unidas en parejas, una base única de una cadena unida por un enlace de hidrógeno a una única base de la otra cadena de manera tal que ambas se extienden paralelamente con coordenadas z idénticas. Un elemento del par debe ser una purina y el otro una pirimidina para que ocurra el enlace. Los enlaces de hidrógeno están formados como sigue: purina en posición 1 a pirimidina en posición 1; purina en posición 6 a pirimidina en posición 6.



Esta figura es puramente diagramática, las dos cintas simbolizan las dos cadenas de azúcar-fosfato y las líneas horizontales las parejas de bases que mantienen unidas las cadenas. La línea vertical señala el eje de la fibra.

Si se supone que las bases ocurren sólo en la estructura en la forma tautomérica más verosímil (es decir con el keto más que con la configuración del enol) se concluye que sólo pares específicos de bases se pueden enlazar. Estos pares son: adenina (purina) con timina (pirimidina) y guanina (purina) con citosina (pirimidina).

En otras palabras, si un adenino forma un miembro de un par en cualquier cadena, entonces de acuerdo con esa suposición, el otro miembro debe ser una timina; lo que es similar para la guanina y la citosina. La secuencia de bases en una única cadena no parece estar restringida en ninguna

forma. Sin embargo, si sólo se pueden formar parejas específicas de bases se desprende que si la secuencia de bases en una cadena está dada, entonces la secuencia en la otra cadena está automáticamente determinada.

Experimentalmente se ha descubierto^{3,4} que la proporción de las cantidades de adenina para la timina y la proporción de guanina para la citosina están siempre muy cercanas a la unidad para el ácido ribonucleico.

Es probablemente imposible construir esta estructura con un azúcar ribosa en lugar de la desoxiribosa ya que el átomo de oxígeno extra haría muy probable un contacto van der Waals. La información de rayos X publicada anteriormente sobre el ácido desoxirribonucleico es insuficiente para una prueba rigurosa de nuestra estructura. Hasta donde podemos decir es relativamente compatible con la información experimental pero debe ser considerada como no probada hasta que haya sido confrontada con resultados más exactos. Algunos de estos se dan en los siguientes informes. No estábamos conscientes de los detalles de los resultados allí presentados cuando creamos nuestra estructura, la cual se basa principal, aunque no completamente, en información experimental publicada y en argumentos estereoquímicos.

No ha escapado a nuestra atención que el apareamiento específico que hemos postulado sugiere inmediatamente un posible mecanismo de copia del material genético. En algún momento se publicarán detalles completos de la estructura, que incluyen las condiciones supuestas al construirla, al igual que un conjunto de coordenadas para los átomos.

Le debemos mucho al Dr. Jerry Donohue por sus constantes consejos y críticas, especialmente en lo relativo a las distancias interatómicas. También nos hemos sentido estimulados por el conocimiento de la naturaleza general de los resultados e ideas experimentales no publicadas del Dr. M. H. F. Wilkins, del Dr. R. E. Franklin y sus colaboradores del King's College de Londres. Uno de nosotros (J. D. W.) ha sido apoyado por una beca de la Fundación Nacional para la Parálisis Infantil.

J. D. Watson

F.H.C. Crick

Unidad del Consejo de Investigación Médica para el Estudio de la Estructura Molecular de los Sistemas Biológicos, Laboratorio Cavendish, Cambridge.

Abril, 2.

Referencias

1. Pauling, L., and Corey, R. B., *Nature*, 171, 346 (1953); *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.*, 39, 84 (1953)
2. Furberg, S., *Acta Chem. Scand.*, 6, 634 (1952).
3. Chargaff, E., for references see Zamenhof, S., Brawerman, G., and Chargaff, E., *Biochim. et Biophys. Acta*, 9, 402 (1952).
4. Wyatt, G. R., *J. Gen. Physiol.*, 36, 201 (1952).
5. Astbury, W. T., *Symp. Soc. Exp. Biol.* 1, *Nucleic Acid*, 66 (Camb. Univ. Press, 1947).
6. Wilkins, M. H. F., and Randall, J. T., *Biochim. et Biophys. Acta*. 10, 192 (1953).

Virus sarcoma Rous: una función necesaria para la mantención del estado transformado

Por G. S. Martín

Nature 1970, 227: 1021-1023

“El virus sarcoma de Rous: una función requerida para la mantención del estado transformado” Traducción del trabajo de G.S. Martín publicado en Nature Vol: 227, pags. 1021-1023 (1970). Introducción y comentario de Michael Bishop. Extraídos de “OUTSTANDING PAPERS IN BIOLOGY” Current Biology, Ltd. Ed. Rebeca Palmer.

Trabajo Destacado en Biología- Seleccionado y presentado por J. Michael Bishop

Peyton Rous utilizó su discurso del Nobel de 1966 para negar cualquier rol de las mutaciones genéticas en la tumorigénesis aunque el virus que descubrió (virus sarcoma Rous), finalmente proporcionó el primer medio para demostrar que el cáncer puede ser una enfermedad de los genes. Hidesaburo Hanafusa y Peter Vogt determinaron el escenario al usar el virus sarcoma Rous para iniciar el análisis genético de los retro virus. Sin embargo, los mutantes condicionales iniciales (sensibles a la temperatura) originados de esos esfuerzos (Toyoshima K., Vogt P K: Virología 1969, 39:930-931) afectaban la reproducción y la transformación neoplásica coordinadamente, fracasando por lo tanto en asociar la transformación con una función genética distintiva. Los mutantes condicionales del DNA de los virus de los tumores, descritos varios años antes, habían sufrido de la misma desventaja.

Por lo tanto, le correspondió a Steven Martín aislar mutantes del virus sarcoma Rous que son sensibles a la temperatura únicamente para la transformación, y descubrir que el gen mutante es necesario tanto para la iniciación como para la mantención de la transformación. Así fue puesto en evidencia el oncogén *src*. Poco después, Vogt y otros demostraron que *src* puede perderse por eliminación sin efecto adverso en el bienestar del virus, consolidándose así el punto de vista que aunque *src* pueda ser mortal es también superfluo.

La descripción del *src* y sus propiedades atrajo irrevocablemente mi atención hacia el cáncer. El enigma intelectual de esta enfermedad ahora parecía solucionable. Para el virus sarcoma Rous, por lo menos, necesitábamos estudiar sólo un gen, una proteína, una actividad bioquímica para obtener nuestra primera visión de cómo podía originarse una célula cancerosa. La aparente poca importancia del *src* para el ciclo de la vida viral nos condujo a Harold Varmus y a mí a considerar cuidadosamente los orígenes del gen y así a descubrir la proto-oncogénesis -la primera observación de genes potencialmente cancerosos en el genoma vertebrado.

Entré en la investigación biomédica durante la etapa inicial de la genética fago bacteriana. El valor de los mutantes condicionales estaba entre las lecciones que aprendí entonces. Desde ese momento he visto ese valor altamente recompensado. El descubrimiento de la oncogénesis viral prefiguraba un nuevo día en la investigación del cáncer.

Nature vol. 227 5 septiembre 1970

VIRUS SARCOMA ROUS: UNA FUNCIÓN NECESARIA PARA LA MANTENCIÓN DEL ESTADO TRANSFORMADO

Por G. S. MARTIN Laboratorio de Virus, Universidad de California, Berkeley, California 94/20

Un virus mutante de un tumor ARN sensible a la temperatura ha sido aislado y sus propiedades indican que parte del genoma viral se requiere para la transformación pero no para el crecimiento.

Ahora parece posible que el genoma de virus tumorales que contienen DNA o del RNA contenga virus tumorales que persisten en las células transformadas por ellos, al menos en la mayoría de los casos o quizás en todos. En el caso de los virus tumorales DNA, la presencia de DNA viral puede ser demostrada por la hibridización DNA-RNA o por la producción de virus infecciosos que se originan después de la fusión con células que permiten el crecimiento de los virus (para revisión véase refs. 1 y 2). Las células transformadas por los virus tumorales del RNA pueden liberar virus infecciosos mientras continúa la división de estos virus³⁻⁶, los que a diferencia de los virus tumorales DNA, no son citotóxicos. En ciertas situaciones, dependiendo especialmente del tipo de células y de la cepa de los virus utilizados se liberan partículas no infecciosas que pueden ser detectadas por microscopio electrónico o por marcación con precursores radioactivos^{7, 8}. Aún en aquellos casos en que las partículas no son detectables, el genoma puede ser frecuentemente rescatado por co-cultivo o fusión con células permisivas⁸⁻¹⁰.

El rol de los genes virales en la generación de los cambios fisiológicos característicos de la transformación permanece, sin embargo, aún no aclarado. En el caso de los virus tumorales de DNA, aún no se sabe si la expresión continua de genes virales se requiere para mantener el estado transformado^{1,2}. Un número considerable de mutantes de virus polyoma, sensibles a la temperatura, han sido aislados¹¹⁻¹³. Pero ninguno de los mutantes descritos hasta ahora es defectuoso en la habilidad para estimular la síntesis del DNA en células confluentes, para producir transformaciones abortivas o mantener el estado transformado¹¹⁻¹⁵. Por otra parte, en el caso de los virus tumorales RNA, la comparación de los virus de la leucosis y del sarcoma sugiere un rol específico de los genes virales en la transformación. Estos virus, que estructural y químicamente no se distinguen, crecen en cultivos de fibroblastos, pero sólo los virus de sarcoma los transforman. Golde¹⁷ y K. Toyoshima, R. R. Friis y P. K. Vogt (documento en preparación) han demostrado recientemente que la irradiación de ciertas cepas de virus de sarcoma aviar dan como resultado la formación de virus que mantienen la capacidad de crecer pero que pierden la de transformarse. Estos experimentos indican que parte del genoma de los virus tumorales RNA es necesaria para la transformación pero no para el crecimiento. A continuación describo el aislamiento de un mutante sensible a la temperatura de la cepa de virus sarcoma Rous de Schmidt-Ruppin, cuyas propiedades indican que la mutación afecta a una función necesaria para mantener el estado transformado, pero no el crecimiento del virus.

Aislamiento del mutante

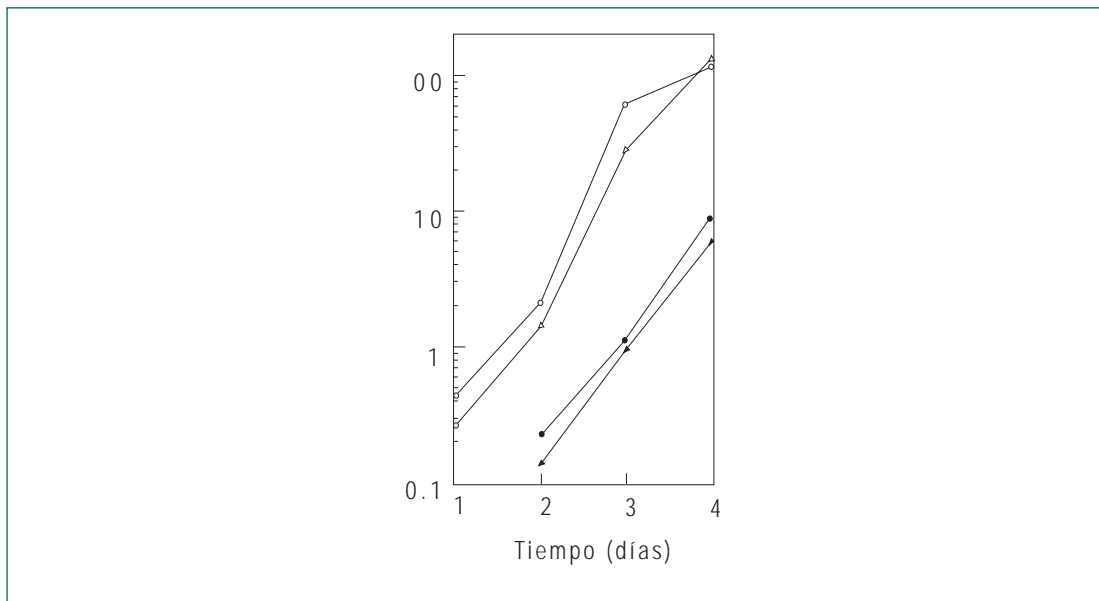
Los métodos usados para el crecimiento y ensayo de las cepas de virus fueron aquellos descritos previamente¹⁸, excepto que la capa de agar usada en el ensayo, se complementó con 3 mg/ml de

glucosa y se le agregó 4 ml extra de recubrimiento de agar después de 4 días de incubación. En todo el proceso se usaron fibroblastos de pollo C/O o C/B (ref. 19). El método utilizado para clonar las cepas de virus implicó escoger clones de células transformadas en una suspensión de agar: las células transformadas se desarrollan en grandes colonias en la suspensión de agar, mientras que las células normales o no se dividen, o forman sólo pequeñas colonias^{20, 21}. Las células fueron puestas en un placa plástica de 1.5×10^6 por 10 cm (Falcon Plastics) en medio 199 (Grand Island Biological Co.) que contenía un 2% de caldo de fosfato de triptosa (TPB, (CFT) Difco) y 1% de suero de ternero (Microbiological Associates). Al día siguiente el medio fue extraído y las células fueron infectadas con 0.5 ml de una cepa de virus diluida entre 2 y 20 unidades formadoras de foco (u.f.f.) por ml. Después de una hora de absorción, las células fueron tripsinizadas y resuspendidas a 1.5×10^6 por ml en medio 199 o en medio Scherer que contenía 10% de TPB (CFT), 4% de suero de ternero y 1% de suero de pollo (Microbiological Associates; inactivado por calor durante 60-90 min. a 60° C). 0.5 ml de esta suspensión celular se agregó a 1 mg del mismo medio que contenía 0.6% de agar y vertido sobre una base de capas de 5 ml de la misma mezcla de agar. (Los clones transformados tienden a crecer más rápido en el medio 199 que en el de Scherer, pero son menos fáciles de distinguir de los clones pequeños de células normales que también crecen en una mayor extensión en el medio 199). Después de la incubación por alrededor de una semana a 38-39° C o dos semanas a 36° C los clones fueron depositados en células en crecimiento de una sola capa, utilizando 2 capilares de 2 ul. (Drummond Microcaps) y pipetas de extracción Pasteur. Las células fueron enseguida cultivadas y transferidas cuando se estimó necesario, hasta que se logró la transformación extensiva.

Una cepa del virus de Schmidt Ruppín, SR-VSR-A, libre del virus de leucosis aviar fue amablemente proporcionada por el Dr. W. Levinson, quien había obtenido el virus previamente del Dr. P. K. Vogt. El virus fue reaclonado por el método anteriormente descrito. El virus reaclonado Schmidt-Ruppín no se instaló en células infectadas RAV 1 o C/A y antisueros de pollo preparados contra él neutralizaron al VSR (RAV 1) pero no VSR (RAV 2), confirmando que este virus pertenece al subgrupo A^{19, 22, 23} de virus de tumor aviar. Se ha informado²⁴⁻²⁷ que la cepa Schmidt-Ruppín, a diferencia de la cepa Bryan no es “defectuosa”, en el sentido que ningún virus auxiliar es necesario para la producción de infecciones virales para el tipo de fibroblastos comúnmente usados C/O o C/B. Se pueden preparar cultivos de la cepa Schmidt-Ruppín en el que los virus leucémicos no son detectables por procedimientos de dilución terminal²⁴⁻²⁷; la infección en las multiplicidades bajas da como resultado la formación de focos^{24, 25, 27} o pústulas en la membrana corioalantoidea²⁴, todos los cuales liberan virus infecciosos. Para confirmar que las células infectadas solamente por SR-VSR-A liberan progenie infecciosa, las células fueron infectadas en una multiplicidad de cerca de 10^{-5} SR-VSR-A y también con la cepa auxiliar dependiente de Bryan, RSV (RAV 1). Las células infectadas fueron depositadas en suspensión de agar y los clones recogidos, como ya se describió. Tal como se esperaba, todos los clones infectados SR-RSV-A liberaron virus infecciosos (6 de 6 en un experimento, 20/20 en otro) mientras la mayoría de los clones Bryan no lo hicieron (5/6).

Para aislar mutantes del virus se usó el mutagen N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (“nitrosoguanidina”, MNNG): Hanafusa ha demostrado que este mutagen lleva a la producción de mutantes de Bryan VSR B (0) los que son incapaces de producir infecciones en la progenie para células empequeñecidas. Un cultivo en estado natural de RS-VRS-A con una concentración de cerca de 10^6 UFF/ml., fue mezclado con un volumen igual de 0.2 ml con un regulador de fosfato M (pH 6.0 que contenía 0.002 EDTA M y 2 mg/ml de MNNG (de la Aldrich Chemical Co., disuel-

tos a 100 mg/ml en dimetilsulfóxido, inmediatamente antes de su uso). Después de 10 minutos de incubación a 30° C, se enfrió la mezcla y se dializó extensamente contra un regulador estándar (0.1 M NaCl-0.01 M Tris-HC (pH 7.6)-0.001 EDTA M). La concentración del cultivo mutagenizado fue aproximadamente 5×10^2 u.f.f./ml., representando una sobrevivencia de cerca de 10^{-3} comparado con un control sin nitrosoguanidina. Los virus sobrevivientes fueron clonados a 35-36° C utilizando el método de la suspensión de agar ya descrito. Se recogieron doscientos sesenta clones y los cultivos de virus resultantes, cultivados a 35-36° C fueron probados en su habilidad para producir focos a 36° C y a 41° C. Se descubrió que seis eran incapaces de producir focos a 41° C; uno de estos mutantes, T1 fue reclonado y las propiedades de este mutante se describirán. Debido a que las temperaturas permisivas y no permisivas se diferencian en sólo 5° C, la caracterización de este mutante fue llevada a cabo utilizando cultivos desarrollados en frascos plásticos sellados de 25cc (Falcon Plastics), inmersos en baños de agua controlados, con una exactitud de +5° C, por termoreguladores de contacto de mercurio.



1) Figura 1. Crecimiento de SR-VSR-A y T1 a 41° C y a 36° C. Las células fueron implantadas en 4 frascos (5×10^5 células por botella en medio 199 que contenía 2% TPB y 1% de suero de ternero) e infectado después de 24 horas con $2-4 \times 10^4$ u.f.f. ya sea de SR-VSR-A o T1. Después que el virus había absorbido por 1 hora, las células fueron lavadas y el medio fue cambiado a uno 199 más 10% de TPB y 5% de suero de ternero. Un frasco de cada par fue mantenido a 36° C, el otro a 41° C y el medio fue cambiado cada 24 horas. Después de 4 días, los cultivos mantenidos a 36° C fueron transformados parcialmente, el cultivo infectado SR-VSR-A a 41° C se transformó completamente, mientras que las células infectadas T1 a 41° C no mostraron transformación. El virus en el medio recolectado cada día fue concentrado a 36° C. La producción de virus se expresa como la cantidad de virus en 5 ml de medio, dividido por la cantidad de virus utilizado para infectar las células ($2,1 \times 10^4$ u.f.f. de SR-VSR-A; $3,4 \times 10^4$ u. f.f. de T1) D, SR-VSR-A a 41° C; D, SR-VSR-A a 36° C; O, T1 a 41° C; O, T1 a 36° C.

Crecimiento del mutante a temperatura no permisiva

La habilidad del mutante para crecer en la temperatura no permisiva fue probada como se registra en la figura 1. No hay diferencias significativas entre el tipo original y el mutante en la tasa de acumulación de virus, ya sea a 41° C o a 36° C. Debido a que el virus sarcoma Rous está térmicamente inactivado en una proporción significativa, la cantidad de virus infecciosos en el medio depende no sólo de la tasa de producción sino también de la tasa de inactivación³. Por lo tanto, se midieron las tasas de inactivación del tipo original a 41° C y la del mutante (cultivado a 41° C). La supervivencia del tipo original después de dos horas fue de 46% y después de 4 horas 22%; la del mutante después de dos horas fue de 44% y después de 4 horas, 19%. A 41° C no hay diferencia significativa entre el mutante y el tipo original ni en la tasa de acumulación de virus ni en la tasa de inactivación, por lo tanto se puede concluir que la mutación no afecta el crecimiento de los virus. El mutante cultivado a 41° C no pudo formar focos en posteriores exposiciones a 41° C, indicando que el defecto no se altera por el crecimiento a temperatura no permisiva.

Tabla 1. Superinfección de células infectadas T1 desarrolladas a 41° C

N° de células infectadas (por placa 100 mm) capaces de formar focos a 45° C.		
Virus	Células no infectadas	Células infectadas T1
Ninguno	0	4.0 x 10 ⁸
SR-VSR-A	1.4 x 10 ⁵	4.2 x 10 ⁸
VSR (RAV 1)	1.5 x 10 ⁴	6.5 x 10 ⁸
PR-VSR-C	1.8 x 10 ⁴	2.8 x 10 ⁴

Las células fueron infectadas con T1 en una multiplicidad de infecciones de cerca de 10-2 u.f.f./células y éstas y un cultivo paralelo de células no infectadas se desarrollaron a 41° C durante 7 días con una transferencia. Las células infectadas y las no infectadas fueron puestas en placas de 100 mm a 1.5 x 10⁸ y después de un día a 41° C se llevó a cabo una segunda infección con 2-10 x 10² u.f.f. de ya sea SR-VSR-A, VSR (RAV 1), o PR-VRCA-C (virus de Praga, un virus sarcoma del grupo C proporcionado amablemente por el Dr. P. K. Vogt). Después que el virus había absorbido por una hora, las células fueron lavadas con tri-saline y enseguida expuestas a 0.05 M de regulador glicina-HCl (pH 2.2) por 60 segundos para inactivar los virus²⁹ adsorbidos pero no penetrados. Después de restaurar el pH a la neutralidad con tres lavados de tri-saline, las células fueron incubadas por dos horas en el medio. Las células fueron enseguida tripsinizadas y puestas en varias diluciones en las células sensibles para determinar el número de células infectadas capaces de formar focos a 41° C; se agregó anticuerpo anti-SR-VSR-A al medio de las placas de ensayo, para reducir el sedimento proveniente de la diseminación (antes del baño de agar) de reversiones de T1 resistentes a la temperatura.

A 41° C el comportamiento de este mutante es similar a aquel de los virus de leucosis aviar que crecen en cultivos de fibroblastos sin transformarlos. Las células infectadas por un virus de leucemia aviar son, en general, resistentes a la súper-infección por virus del mismo subgrupo²¹,

probablemente debido al bloqueo de los receptores requeridos para la penetración viral. Para determinar si las células infectadas por el mutante también mostraban esta interferencia específica del subgrupo, se llevaron a cabo los experimentos documentados en la tabla I. Como se esperaba, las células infectadas T1 son resistentes a la súper infección de los virus del grupo A, VSR (RAV 1) y SR-VSR-A, pero no a la infección por PR-VSR-C. El alto grado de resistencia a los virus del grupo A, indica que casi todas las células están infectadas.

Efecto de la mutación en la habilidad para transformarse

El mutante crece a 41° C sin producir ningún efecto visible en la morfología de las células infectadas. Si la función que es defectuosa a 41° C se requiere sólo para iniciar el estado transformado, se esperaría que las células transformadas T1 que crecen a la temperatura permisiva, permanecieran transformadas al cambiarlas a la temperatura no permisiva. Sin embargo, se descubrió que las células transformadas T1, al cambiarlas a 41° C perdían rápidamente su apariencia refractiva redonda y asumían una apariencia normal o cercana a la normal, completándose el cambio ampliamente dentro de 4 horas; las células infectadas por el tipo original no fueron afectadas por el cambio. Esto indica que la función mutante se requiere para mantener las alteraciones morfológicas que son características del estado transformado. El cambio inverso, de la morfología normal a la transformada ocurre cuando un cultivo infectado T1 que se desarrolla a 41° C hasta la infección completa (a juzgar por la resistencia de la población celular a la súper-infección) es cambiado de 41° C a 36° C. Sin embargo, este cambio es lento, tomando cerca de dos días; presumiblemente esto es al menos en parte debido a que el metabolismo celular es lento a la temperatura permisiva.

El efecto de la mutación sobre la capacidad de las células infectadas para crecer en la suspensión de agar también se investigó (tabla 2). Se puede ver que las células infectadas T1 no forman clones transformados a 41° C. Más aún, aunque sean cultivadas a 37° C por 4 días, son incapaces de convertirse en clones transformados reconocibles al ser cambiadas a 41° C. Las células infectadas T1 mantenidas a 41° C por 4 días pueden, sin embargo, producir clones transformados al ser cambiadas a 37° C. En un experimento similar, las células infectadas en la suspensión de agar fueron cambiadas de 41° C después de 9 días de crecimiento a 37° C, tiempo en el cual los clones transformados eran claramente distinguibles. Después de la incubación por otros 6 días más, fue claro al examen que los clones producidos por T1 después de la incubación por 15 días a 37° C eran más grandes que aquellos cambiados a 41° C después de 9 días. Estos resultados indican que la función mutante es necesaria para mantener el desarrollo en la suspensión de agar.

Tabla 2. Efecto de la temperatura en el crecimiento en suspensión de agar de células infectadas con SR-VSR-A o T1

N° de clones transformados por frasco			
Temperatura de incubación	SR-VSR-A		T1
41° C durante 16 días	310,	330	0, 0
37° C durante 16 días	210,	222	209, 204
37° C durante 4 días; luego 41° C durante 12 días	274,	270	0, 0
41° C durante 4 días; luego 37° C durante 12 días	233,	220	197, 174

Un experimento preliminar indicaba que la temperatura permisiva óptima para el crecimiento de las células infectadas T1 en suspensión de agar era 37° C y que a esta temperatura los clones transformados podían ser distinguidos de los clones pequeños de las células normales después de la incubación durante 5-6 días. Por lo tanto las células fueron infectadas con SR-VSR-A o T1 (cerca de 1000 u.f.f. por 1.5 x 10⁸ células) en la suspensión de agar de Scherer ya descrita y mantenidas a 37° C o a 41° C. Después de 4 días, justo antes que los clones transformados se hicieran distinguibles, algunos frascos fueron cambiados de una temperatura a la otra. El número de clones transformados se contó después de 16 días.

Genes para el crecimiento y la transformación

Las propiedades de este mutante indican que se necesita parte del genoma viral para la transformación, pero no para el crecimiento, porque sólo la transformación es afectada a la temperatura no permisiva. Esto está de acuerdo con las conclusiones de Goldé¹⁷ y de Toyoshima et al., quienes han demostrado que la irradiación de virus de sarcoma aviar por rayos-γ o luz ultravioleta conduce a la producción de mutantes no transformables que son capaces de crecer tan bien como (o mejor que¹⁷) el tipo original. Goldé (referencia 17 y comunicación personal) ha propuesto que la parte del genoma que codifica las funciones oncogénicas incluye información de la síntesis de un inhibidor de la multiplicación viral. Las propiedades de T1 no apoyan ni contradicen esta propuesta, pero si existe tal inhibidor, la mutación en T1 no lo puede afectar ya que el mutante crece a la misma proporción que el tipo original tanto a temperaturas permisivas como no permisivas (figura 1).

Macpherson³⁰ ha observado que las células transformadas BHK 21 por la cepa de Schmidt-Ruppin (presumiblemente SR-VSR-D, véase ref. 31) pueden dar origen a células no transformadas en las cuales un genoma transformable activo no puede ser rescatado al inyectarlo en pollos. El sugiere que esta reversión surge de la pérdida o inactivación del genoma viral. Se desprende que la presencia o expresión de genes virales es requerida para mantener el estado transformado. Esta conclusión, en particular la idea que la expresión de genes virales es necesaria para mantener la transformación, es apoyada por las propiedades de mutantes sensibles a la temperatura de virus de sarcoma aviar que son incapaces de sostener la transformación si las células infectadas son transferidas a una temperatura alta. Estos mutantes incluyen al mutante aquí descrito y los mutantes de B77 recientemente aislados por Toyoshima y Vogt³², los que difieren de T1 en que son incapaces de crecer o transformarse a la temperatura no permisiva.

Caracterizaciones posteriores de estos y otros mutantes pueden contribuir a identificar los cambios bioquímicos en las células infectadas que están presentes en la transformación.

Agradezco al Dr. H. Rubin, en cuyo laboratorio se llevó a cabo este trabajo, por los consejos y la discusión; P. H. Duesberg, T. Gurney, H. Fraenkel-Conrat, G. R. Martín y M. Weber por sus sugerencias y críticas; P. K. Vogt y B. R. Burmester por aportar células C/A y Mildred Hughes por asistencia técnica. Este trabajo fue apoyado por una beca de la Fundación Jane Coffin Childs Fund para la Investigación Médica; y un subsidio de investigación del Servicio de Salud Pública de Estados Unidos (al Dr. Rubin) otorgado por el Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos.

Referencias

- ¹ Dulbecco, R., *Science*, 166,962 (1969).
- ² Eckhart, W., *Nature*, 224, 1069 (1969).
- ³ Rubin, H., *Virology*, 1, 445 (1955).
- ⁴ Temin, H. M., and Rubin, H., *Virology*, 8, 209 (1959).
- ⁵ Vogt, P. K., *Proc. US Nat. Acad. Sci.*, 58,801 (1967).
- ⁶ Zavada, J., and Macpherson, I., *Nature*, 225, 24 (1970).
- ⁷ Hanafusa, H., and Hanafusa, T., *Virology*, 34, 630 (1968).
- ⁸ Valentine, A. F., and Bader, J. P., *J. Virol.*, 2, 224 (1968).
- ⁹ Chang, S. S., Toni, R. J., Gilden, R. V., Hatanaka, M., and Huebner, R. J., *J. Gen. Virol.*, 5, 443 (1969).
- ¹⁰ Svoboda, J., Machala, O., and Hlozaneck, I., *Folia Biol.*, 13, 155 (1967).
- ¹¹ Fried, M., *Virology*, 25, 669 (1965).
- ¹² Eckhart, W., *Virology*, 38, 120 (1969).
- ¹³ Di Mayorca, G., Callender, J., Martin, G., Giordano, R., *Virology*, 38, 126 (1969).
- ¹⁴ Fried, M., *Proc. US Nat. Acad. Sci.* 53, 486 (1965).
- ¹⁵ Stoker, M., and Dulbecco, R., *Nature*, 223,397 (1969).
- ¹⁶ Duesberg, P. H., *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 51, 79 (1970).
- ¹⁷ Goldé, A., *Virology*, (in the press).
- ¹⁸ Rubin, H., *Proc. US Nat. Acad. Sci.* 46, 1105 (1960).
- ¹⁹ Vogt, P. K., and Ishizaki, R., *Virology*, 26, 664 (1965).
- ²⁰ Rubin, H., *Exp. Cell Res.*, 41, 149 (1966).
- ²¹ Bader, J. P., *J. Cell Physiol.* 70, 301 (1967).
- ²² Vogt, P. K., and Ishizaki, R., *Virology*, 30, 368 (1966).
- ²³ Ishizaki, R., and Vogt, P. K., *Virology*, 30, 375 (1966).
- ²⁴ Hanafusa, H., *Nat. Cancer Inst. Monog.*, 17, 543 (1964).
- ²⁵ Dougherty, R. M., and Rasmussen, R., *Nat. Cancer Inst. Monog.*, 17, 337 (1964).
- ²⁶ Goldé, A., *Acad. Sci.*, 262, 320 (1966).
- ²⁷ Graf, T., and Bauer, H., *Proc. Second Intern. Cong. Oncogenic Viruses, Royaumont, 1969* (in the press).
- ²⁸ Hanafusa, H., *Current Topics Microbiol. Immunol.*, 51, 114 (1970).
- ²⁹ Steck, F. T., and Rubin, H., *Virology*, 29, 642 (1965).
- ³⁰ Macpherson, I., *Science*, 148, 1731 (1965).
- ³¹ Duff, R. G., and Vogt, P. K., *Virology*, 39, 18 (1969).
- ³² Toyoshima, K., and Vogt, P. K., *Virology*, 39, 930 (1969).

I.5. Guía para diseñar actividades de indagación científica

a) Propósito de la indagación científica como estrategia multifacética de aprendizaje

En cada nivel y en cada dominio de la ciencia, los estudiantes deben tener la oportunidad de utilizar la indagación científica y desarrollar la capacidad de pensar y actuar de manera acorde con la indagación. Esto incluye la formulación de preguntas, planificación y conducción de investigaciones, la utilización de herramientas y técnicas apropiadas para coleccionar datos, pensamiento lógico y crítico acerca de las relaciones entre evidencia y explicación, construcción y análisis de explicaciones alternativas, y comunicación de argumentos científicos. En estas actividades tendrán la oportunidad para moldear sus experiencias acerca de la práctica de la ciencia y las reglas del pensamiento y conocimiento científico.

Involucrar a alumnas y alumnos en procesos de indagación ayuda a desarrollar:

- a. El entendimiento de los conceptos científicos.
- b. Una apreciación de cómo conocemos y qué conocemos en ciencia.
- c. Entendimiento sobre la naturaleza de la ciencia.
- d. Habilidades para llegar a ser inquisidores independientes acerca del mundo natural.
- e. Disposiciones para utilizar las habilidades, capacidades y actitudes asociadas con la ciencia.

Durante las actividades de indagación los estudiantes interactúan con sus profesores y sus pares. Establecen conexiones entre los temas científicos que están tratando y aprendiendo y el conocimiento científico que encuentran en diversas fuentes. Aplican contenido científico a nuevas cuestiones o preguntas, se involucran en la búsqueda de solución a problemas, en la planificación, toma de decisiones, y discusiones grupales. Los estudiantes tendrán la oportunidad de comprometerse en procesos de investigación o indagación completa o parcialmente, partiendo de cuestiones de interés e importancia para ellos.

En una indagación completa, luego de la fase de formulación de una pregunta clara, guiados por el docente, diseñarán una investigación, buscarán y recolectarán evidencias, propondrán una respuesta a la pregunta original, y comunicarán tanto el proceso que siguieron como los resultados de la investigación. En un proceso de indagación parcial, se ejercitarán en cualquiera de estas etapas y aspectos. Por ejemplo, en la definición de preguntas o de un problema de interés, en la descripción de cómo realizarían la investigación, en el desarrollo de explicaciones en base a información científica y a evidencias provistas por el docente durante la clase. Las preguntas pueden ser contestadas y las explicaciones probadas, ya sea, mediante montajes experimentales, recolección de datos atinentes, o una investigación bibliográfica. El programa tiene diversos aspectos y ejemplos que se prestan a estas prácticas.

En todas las etapas de la indagación los docentes guiarán, enfocarán, desafiarán y estimularán a los estudiantes. Es importante que se cuestionen y desafíen las creencias populares del alumnado

ofreciéndoles explicaciones con base científica como alternativas. En las discusiones abiertas o en la búsqueda de explicación a las observaciones debe intervenir el docente para enfocar las ideas, llamar y mantener la atención sobre el tópico en cuestión, y desafiar a los estudiantes a que formulen nuevas explicaciones, para asegurar que la experiencia llegue a producir entendimiento sobre la materia. Una intervención prematura priva a los estudiantes de las oportunidades de confrontar los problemas y encontrar las soluciones. A su vez, una intervención demasiado tardía tiene el riesgo de frustrar a los estudiantes.

Los estudiantes deben planear y hacer presentaciones al resto de la clase acerca de su trabajo, decidiendo ellos mismos la manera de organizar y presentar los datos. Deben explicar y justificar su trabajo a ellos mismos y a otros como un medio para desarrollar una actitud científica, al ejercitar la capacidad de poner a prueba la validez del conocimiento que ellos mismos han producido en sus búsquedas e indagaciones, y de aceptar y reaccionar positivamente a las críticas constructivas de los demás. Con el conjunto de estas prácticas se irá moldeando un entendimiento de lo que es una indagación científica.

INDICACIONES GENERALES SOBRE UNA INDAGACIÓN CIENTÍFICA

- Los estudiantes primero deben establecer y luego refinar los métodos, materiales y datos que coleccionarán.
- Debe motivarse y estimularse a los estudiantes a repetir los procedimientos de colección de datos y a compartir información y datos entre grupos.
- Los estudiantes producirán reportes orales o escritos que presenten los resultados de sus indagaciones. Estos reportes y discusiones deben ser frecuentes.
- Debe evitarse un enfoque rígido a la investigación e indagación científica, como la de abocarse a un cierto “método científico”.
- No debe intentarse que los estudiantes memoricen las habilidades y los entendimientos que da la investigación científica. Estas habilidades y formas de comprender el mundo se logran sólo involucrando a los alumnos en frecuentes actividades de indagación.

DEFINIENDO LAS PREGUNTAS EN UNA INDAGACIÓN CIENTÍFICA

Antes de desarrollar actividades de investigación, alumnas y alumnos deben ser instruidos y guiados para que puedan identificar, dar forma y entender la pregunta que estará bajo investigación o indagación. Esto incluye que sepan claramente lo siguiente: 1) cuál es la pregunta que se está haciendo; 2) cuál es el conocimiento que sirve de base y de marco para esa pregunta; 3) qué es lo que tendrán que hacer para contestar la pregunta.

Preguntas para ayudar a enfocar una investigación:

- ¿Qué es lo que queremos saber o explicar acerca de.....?
- ¿Qué tipo de observaciones serían las más adecuadas y cómo podríamos hacerlas?
- ¿Es esta la mejor manera de contestar nuestras preguntas?
- Si hacemos esto ¿qué esperamos que ocurra?

Preguntas que deben hacerse y ser contestadas durante la investigación:

- ¿Qué datos responderán la pregunta?
- ¿Cuáles son las mejores observaciones y mediciones que se deben hacer?

Preguntas que deben hacerse para centrar las discusiones:

- ¿Cómo organizaremos los datos para presentar la más clara respuesta a nuestra pregunta?
- ¿Cómo debemos organizar la evidencia para presentar la más fuerte explicación?

HABILIDADES NECESARIAS PARA REALIZAR UNA INDAGACIÓN CIENTÍFICA**Identificación de preguntas que pueden ser contestadas mediante la investigación científica**

Los estudiantes deben desarrollar la habilidad de refinar y re-enfocar preguntas muy amplias o mal definidas. Esta habilidad compromete la capacidad de clarificar preguntas e indagaciones y de dirigir las hacia objetos o fenómenos que, en este caso, pueden ser descritos, explicados, o predichos por investigaciones científicas. Los estudiantes deben desarrollar la habilidad de identificar sus preguntas con las ideas y conceptos científicos, y con las relaciones cuantitativas que guían su investigación.

Diseñar y conducir una investigación científica

Los estudiantes deben desarrollar habilidades generales, tales como la observación sistemática, la medición adecuada, la identificación y control de variables. También deben desarrollar la habilidad de aclarar las ideas que guiarán e influenciarán su investigación. Deben entender cómo se comparan esas ideas con el conocimiento científico sobre el tema. Deben aprender a formular preguntas, diseñar investigaciones, ejecutar investigaciones, interpretar datos, utilizar evidencia para generar explicaciones, proponer explicaciones alternativas, y criticar explicaciones y procedimientos.

Utilizar herramientas y técnicas adecuadas para recolectar, analizar, e interpretar datos

El uso de técnicas y herramientas, incluyendo las matemáticas, serán elegidas de acuerdo con el tipo de pregunta que se pretende contestar y con el diseño experimental. Deben utilizar recursos computacionales para coleccionar, resumir y presentar evidencia. Deben saber acceder, agrupar, guardar, recuperar, y organizar datos utilizando programas computacionales diseñados para estos fines.

Desarrollar descripciones, explicaciones, predicciones y modelos basados en evidencias

Deben aprender a basar sus explicaciones en lo que observan. A medida que desarrollan habilidades cognitivas deben ser capaces de diferenciar la explicación de la descripción, estableciendo las causas para ciertos efectos y las relaciones basadas en evidencias o argumentos lógicos.

Pensamiento crítico y lógico para hacer relaciones entre evidencia y explicación

Pensar críticamente acerca de evidencia incluye decidir qué evidencia debe ser utilizada y dar cuenta de datos anómalos. Los estudiantes deben ser capaces de revisar datos a partir de experimentos simples, resumir los datos, y formular un argumento lógico acerca de las relaciones causa-efecto en el experimento. Deben comenzar a establecer explicaciones que relacionen dos o más variables.

Reconocer y analizar explicaciones alternativas y predicciones

Deben desarrollar la capacidad de escuchar y respetar las explicaciones de otros estudiantes. Deben permanecer abiertos a otras ideas y explicaciones, darles crédito y reconocimiento, ser capaces de aceptar el escepticismo de los demás y considerar explicaciones alternativas.

Comunicación de procedimientos y explicaciones científicas

Deben llegar a ser competentes en la comunicación de los métodos científicos, el seguimiento de instrucciones, la descripción de observaciones, resumir los resultados de otros grupos, relatar a otros estudiantes las investigaciones y explicaciones.

Utilizar matemáticas en todos los aspectos de la indagación científica

Comprender que las matemáticas son esenciales en la formulación y respuesta a preguntas acerca del mundo natural. Pueden utilizarse para hacer preguntas, agrupar, organizar, y presentar datos; y para estructurar explicaciones convincentes.

Entendiendo el significado de la indagación científica

Las siguientes consideraciones ayudarán a guiar al alumnado en sus actividades y a responder sus preguntas a lo largo de toda la enseñanza, de manera que puedan efectivamente forjarse una idea definida de lo que es la ciencia y la indagación científica:

- Diferentes tipos de preguntas llevan a diferentes tipos de investigación científica. Algunas investigaciones involucran la observación y descripción de objetos, organismos, o eventos mientras que otras involucran la recolección de especímenes. Algunas requieren experimentos y otras la búsqueda de mayor información. Algunas llevan al descubrimiento de nuevos objetos y fenómenos, otras involucran la construcción de modelos.
- El conocimiento científico y el entendimiento son las guías de la investigación científica. Diferentes áreas de la ciencia emplean diferentes métodos, teorías centrales, y estándares para avanzar en el conocimiento y entendimiento científico.
- Las matemáticas son importantes en todos los aspectos de la indagación científica.
- La tecnología utilizada para recolectar datos aumenta la seguridad y precisión y permite a los científicos analizar y cuantificar los resultados de las investigaciones.
- Las explicaciones científicas enfatizan la evidencia, utilizan argumentos con consistencia lógica y principios científicos, modelos y teorías. La comunidad científica acepta y utiliza tales explicaciones hasta que sean desplazadas por otras científicamente más adecuadas o mejores.
- La ciencia avanza en base al escepticismo. Parte de la indagación científica es cuestionar las explicaciones de otros científicos y hacerles preguntas inquisitivas. Los científicos evalúan las

explicaciones propuestas por otros científicos examinando la evidencia, comparando evidencias, identificando fallas en el razonamiento, sugiriendo proposiciones que están más allá de las evidencias, y sugiriendo explicaciones alternativas para las mismas observaciones.

- Las investigaciones científicas a veces resultan en nuevas ideas y fenómenos para estudiar, generan nuevos métodos o procedimientos de investigación, o desarrollan nuevas tecnologías que mejoran la recolección de datos. Todos estos resultados pueden llevar a nuevas investigaciones.

*Texto adaptado de: National Academy of Sciences, U. 1996. National Science Education Standards. N. A. Press, editor.

b. Desarrollando una actitud científica

Como parte de una actitud científica se pueden considerar los siguientes aspectos:

1. Capacidad de observación e interés en someter a prueba sus opiniones y creencias, mostrando disposición a cambiar de opinión sobre la base de nuevas evidencias.
2. Tendencia a buscar explicaciones válidas y completas, sin prejuicios.
3. Tener conceptos sobre relaciones de causa y efecto.
4. Hacerse el hábito de basar sus juicios en hechos.
5. Tener la capacidad de distinguir entre hechos y teorías.

Anexo 2: Información Complementaria

Terapia génica

II. A. ¿EN QUÉ CONSISTE LA TERAPIA GÉNICA?

En septiembre de 1990, Ashanti DeSilve, de apenas 4 años de edad, fue el primer paciente que recibió terapia génica. Esta niña sufría de una inmuno-deficiencia severa debido a que había heredado un gen defectuoso de cada progenitor. El gen que causaba el problema codifica para una enzima llamada adenosina deaminasa, necesaria para la función del sistema inmune. Sin esta enzima se deprime la función del sistema inmune dejando al paciente vulnerable a una variedad de infecciones. El tratamiento consistió en las siguientes etapas: 1) remoción de los linfocitos de la sangre; 2) inserción de copias normales del gen en estas células; 3) retorno de las células tratadas a la circulación sanguínea de la paciente. El experimento dio buenos resultados. La paciente mejoró su condición después de haber recibido cuatro de estas infusiones en un período de cuatro meses. Dejó de pasar todo el tiempo enferma y de estar permanentemente aislada.

La nueva tecnología de terapia génica posiblemente lleve a otro de los grandes avances que han revolucionado la medicina. La introducción de genes selectivos en células también selectivas de un paciente puede curar o disminuir una gran variedad de desórdenes, incluyendo muchas que se han resistido a los tratamientos farmacológicos, tales como diversas formas de cáncer. Debe considerarse que un gran parte de las enfermedades se producen porque uno o más genes no funcionan de manera apropiada. Los genes defectuosos pueden originar enfermedad cuando hacen que las células no produzcan cantidades apropiadas de alguna proteína que originen copias aberrantes de ella. Más de 4000 enfermedades son causadas por defectos de nacimiento en un gen único. Otras enfermedades, tales como cáncer, alteraciones cardiovasculares, SIDA, artritis, enfermedad de Alzheimer, senilidad, por ejemplo, se producen en cierta medida por defectos en el funcionamiento de uno o varios genes involucrados en los sistemas de defensa del organismo. Estos sistemas de defensa requieren proteínas especificadas en los genes y no sólo se refieren al sistema inmune sino también a los mecanismos de automantenimiento del organismo. Por ejemplo, las células hepáticas producen proteínas que ayudan a mantener los niveles de colesterol en la sangre dentro de límites adecuados para el funcionamiento del organismo. Una falla en estas proteínas puede determinar una elevación del colesterol sanguíneo, llevando a arterioesclerosis y enfermedades del corazón.

El conocimiento de los componentes genéticos de cada enfermedad es un desafío constante para la ciencia. La información sobre el genoma humano ayudará a descubrir nuevos genes involucrados en las enfermedades y abrirá nuevas expectativas para la terapia génica.

II. B. ¿CÓMO SE APLICA LA TERAPIA GÉNICA?

Se han desarrollado diversos métodos que permiten incorporar genes normales dentro de células genéticamente dañadas. El más efectivo de estos métodos emplea virus modificados como portadores. Los virus son muy apropiados porque tienen la capacidad natural de penetrar y descargar su material genético dentro de las células huéspedes. Sin embargo, es evidente que los virus deben ser

modificados antes que se puedan utilizar en terapia génica para evitar que se reproduzcan en la célula que infectan. Para esto se inducen mutaciones que eliminan las funciones de ciertas proteínas que el virus requiere para su reproducción o para causar enfermedad. Cuando estos genes virales son reemplazados con un gen que se quiere introducir dentro de una célula, el virus sirve como portador para la terapia génica, ya que es capaz de infectar la célula y liberar el material genético dentro de ella, junto con el gen de interés terapéutico, pero es incapaz de reproducirse y causar enfermedad.

Anexo 3: Guías para la evaluación

Grilla de evaluación de una disertación oral

	Aspectos a ser evaluados	no	medianamente	sí
1	Plan correcto (introducción, párrafos, conclusión)			
2	Sujeto está bien limitado (no hay cosas de más)			
3	Sujeto está bien limitado (no hay olvidos)			
4	Presencia de al menos un esquema o documento explicativo			
5	Correcta utilización del esquema o documento explicativo			
6	Vocabulario científico correcto y bien utilizado			
7	Respuestas claras a las preguntas formuladas			
8	Presentación general satisfactoria (elocución, claridad)			
9	Tablas bien utilizadas			
10	Tiempo de exposición respetado			
11	Bibliografía o fuente de documentación presentada			

Grilla de evaluación de un panel informativo

Criterios de logro	Puntaje	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
Realización del panel	/5					
1. Claridad de la presentación y legibilidad	1					
2. Cuidado en el manejo de textos y de documentos	1					
3. Calidad del contenido científico	3					
Presentación del panel	/5					
1. Correcta gestión del tiempo	1					
2. Vocabulario utilizado correcto y preciso	1					
3. Expresión clara y audible para todos	2					
4. Distribución correcta de las labores	1					
Total						

Criterios de evaluación

Informarse	Razonar	Comunicarse	Realizar
<p><i>Descriptor</i> Habilidad para:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Obtener y procesar información científica en diversas fuentes (texto, prensa, internet, video educativo, etc.) o bien en material entregado en clase, en forma oral o escrita, y extraer conclusiones. • Reconocer las interacciones de la ciencia con otros ámbitos de la sociedad. • Distinguir las contribuciones y limitaciones de la ciencia. 	<p><i>Descriptor:</i> Habilidad para:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Reconocer variables y relaciones causa-efecto. • Distinguir preguntas que pueden ser contestadas mediante investigación científica. • Identificar preguntas que guían una investigación científica. • Distinguir entre hechos y explicaciones. • Diseño y conducción de una investigación científica. 	<p><i>Descriptor:</i> Habilidad para:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Describir, argumentar, explicar, discutir o concluir, utilizando lenguaje escrito o hablado, con fundamento, conocimiento y vocabulario científico. <p>Capacidad de:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tolerar y respetar otras opiniones o explicaciones. 	<p><i>Descriptor:</i> Destrezas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Técnicas en la obtención y procesamiento de datos. <p>Actitudes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cooperación, seguridad, honestidad en la obtención de datos experimentales o bibliográficos.
<p><i>Procedimiento de evaluación:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Interpretar fotografías, esquemas, gráficos, tablas o resúmenes. • Identificar componentes o detalles relevantes de una fuente de información. • Ordenar o restablecer una secuencia. • Selección múltiple, verdadero-falso. • Medir, contestar un cuestionario. 	<p><i>Procedimiento de evaluación:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Clasifica según distintos criterios. • Relaciona nueva información con conocimientos previos. • Propone explicaciones. • Elabora conclusiones y resúmenes. • Analiza información presentada en diversas formas. • Define preguntas y problemas que orienten el tema en discusión o investigación. • Resuelve problemas biológicos que implique cálculos matemáticos. • Formula críticas a un procedimiento, identifica errores en un procedimiento o conducta. 	<p><i>Procedimiento de evaluación</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Expresión de opiniones y explicaciones. • Redacción de informes o de una síntesis o conclusión luego de finalizar una actividad, etc. • Descripción de hechos, eventos, características de objetos, diseños experimentales o sus resultados, etc. • Disertaciones o intervenciones breves. • redacción de informes, resúmenes, conclusiones en frases cortas. 	<p><i>Procedimiento de evaluación</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Representación de datos o variables en tablas, gráficos, modelos o esquemas funcionales, croquis o poster. • Realización de montajes experimentales (laboratorio). • Manipulación de instrumentos de observación (microscopio) y de medición (temperatura, presión, etc). • Participación en trabajos grupales.

Evaluación sumativa

En las evaluaciones sumativas deben disponerse las preguntas y ejercicios de evaluación en orden de dificultad creciente, primero los relacionados con la verificación de la adquisición de conocimientos y luego los de aplicación de conocimientos y habilidades.

I. Verificación de la adquisición de conocimientos	
<ul style="list-style-type: none"> • Asociar un concepto a una definición. • Completar un crucigrama. • Restablecer una secuencia. 	<ul style="list-style-type: none"> • Completar una tabla. • Verdadero y falso. • Rotular un esquema. • Definir un concepto. • Describir un proceso o fenómeno. • Describir un trayecto en un esquema.
II. Evaluar conjuntamente aplicación de conocimiento y habilidades	
<p><i>I. Habilidad de informarse</i> <i>Lectura e interpretación de:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Texto • Tablas • Gráficos • Esquemas • Fotografías 	<p><i>II. Habilidad de realizar:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • una tabla • un gráfico • un esquema funcional • un montaje experimental • un diseño experimental
<p><i>III. Habilidad de comunicar</i> <i>Utilizar lenguaje científico para:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Describir • Argumentar • Explicar • Discutir • Concluir 	<p><i>IV. Habilidad de razonar</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Clasificar según uno o varios criterios. • Relacionar una información dada (tabla, texto, esquema, gráfico, etc) con los conocimientos adquiridos. • Formular explicaciones o hipótesis. • Establecer una conclusión. • Hacer comparaciones funcionales o estructurales • Resolver problemas biológicos que impliquen cálculos matemáticos. • Analizar un examen. • Formular una crítica positiva o negativa de un procedimiento experimental, una conducta o un texto. • Identificar errores en un experimento o conducta.

Bibliografía

- 1) Invitación a la Biología. Curtis, H., and N. S. Barnes. 1995. Editorial Médica.
- 2) Biología. Villé, C. A., e. P. Solomon, C. E. Martin, D. W. Martin, L. R. Berg, and P. W. Davis. 1992. Interamericana-Mc Graw-Hill. 2º Edición. Panamericana, S.A. 5º Edición.
- 3) Elementos de Biología Celular y Genética. (varios autores) Editores: Spotorno, A.E. y Hoecker G. 2º Edición. 1997.
- 4) Genes con homeobox y el plan corporal de los vertebrados. De Robertis, E., Oliver, G., Wright, C.V.E. Investigación y Ciencia 168: 14-21 (1990).
- 5) National Science Education Standars. National Academy of Sciences, U. 1996. N. A. Press, editor.
- 6) Molecular Biology of the Cell. (Alberts y cols.) Garland 3º Edición.
- 7) Mi visión del mundo. Tercera ed. 1981, Einstein, A. Tusquets Editores.
- 8) El conocimiento Humano. 2. Russel, B. Cuarta Edición ed. 1968, Taurus Ediciones, S. A.
- 9) Conocer el conocer, en El árbol del conocimiento. Las bases biológicas del entendimiento humano. 1986, Maturana, H. and F. Varela. Editorial Universitaria: p. 5-18.
- 10) La lógica de la investigación científica. Popper, K.R. 1971, Editorial Technos-Madrid.