

Aproximació a la docència de Bioquímica, Biologia Cel·lular i Genètica emprant la metodologia basada en problemes

Antoni Benito, Sílvia Barrabés, Elisabet Kádár,
Anna Massaguer, Maria Inés Roldán, Maria Vilanova,
Jordi Viñas i Marc Yeste



Universitat
de Girona

ÍNDIX

INTRODUCCIÓ.....	3
OBJECTIUS GENERALS.....	5
PROPOSTA DE PROBLEMES.....	7
<i>Problema 1</i>	8
<i>Problema 2</i>	9
<i>Problema 3</i>	10
<i>Problema 4</i>	12
<i>Problema 5</i>	13
<i>Problema 6</i>	14
<i>Problema 7</i>	15
<i>Problema 8</i>	16
<i>Problema 9</i>	17
<i>Problema 10</i>	18
<i>Problema 11</i>	19
<i>Problema 12</i>	20
<i>Problema 13</i>	22
<i>Problema 14</i>	24
<i>Problema 15</i>	26
<i>Problema 16</i>	27
<i>Problema 17</i>	28
TAULA. Objectius generals de cadascun dels problemes proposats.....	29
APLICACIÓ D'AQUESTS PROBLEMES A LA METODOLOGIA DOCENT DE L'APRENTATGE BASAT EN PROBLEMES	30
APLICACIÓ D'AQUESTS PROBLEMES A LA METODOLOGIA DOCENT D'ANÀLISI DE CASOS	34
APLICACIÓ D'AQUESTS PROBLEMES A UNA METODOLOGIA DOCENT PRÀCTICA.....	39
<i>Model de guió de les dues pràctiques proposades</i>	41
PROPOSTA DE TEMPORALITZACIÓ.....	55
PROPOSTA D'AVUACIÓ.....	57
PROPOSTA DE SUPORT BIBLIOGRÀFIC PER A L'ESTUDIANT.....	60

INTRODUCCIÓ

La publicació que teniu a les mans és el resultat de l'experiència d'un grup de professors que, aplicant metodologies d'aprenentatge molt centrades en l'estudiant (vegeu més endavant), van construir un mòdul per al primer curs del grau de Medicina. En aquest mòdul es pretenia que els estudiants assolissin uns objectius d'aprenentatge que integren coneixements del que tradicionalment han estat les assignatures de Bioquímica i Biologia Molecular, Biologia Cel·lular i Genètica. A banda de les competències i habilitats generals que s'indiquen més endavant, tots els diferents objectius d'aprenentatge del curs es van validar a través d'enquestes a un col·lectiu de metges que van opinar sobre la rellevància de cada un d'ells per a la professió mèdica.

Amb les diferents metodologies que s'utilitzaven en el mòdul es pretenia que l'estudiant desenvolupés una sèrie d'habilitats i competències molt importants en l'entorn professional actual. Aquestes inclouen l'habilitat per adquirir informació veraç i contrastada, per sintetitzar-la i comunicar-la, la capacitat d'analitzar aquesta informació amb sentit crític i d'elaborar a partir d'ella possibles hipòtesis o la capacitat d'arribar a conclusions argumentades. Aquestes metodologies també ajuden a desenvolupar l'esperit col·laboratiu i de participació i, atès que les diferents competències són adquirides en relació amb els continguts de la matèria, serveixen perquè l'estudiant prengui consciència de la importància d'aquestes. La principal metodologia docent que s'utilitza en aquest mòdul és l'aprenentatge basat en problemes (ABP), emprada majoritàriament en els seus inicis en estudis de l'àmbit de la salut,¹ la qual es complementa amb diferents tipus de tallers. Aquests tallers consistien, d'una banda, en el plantejament de problemes mèdics (tallers de casos), per comprendre els quals calia que l'alumne/a estudiés un conjunt de matèria proposada pel docent, i de l'altra, en un altre conjunt de problemes que es podien tractar mitjançant tallers pràctics al laboratori. Com a resultat d'aquesta feina, s'han dissenyat

1. Branda, L. «El aprendizaje basado en problemas en la formación en Ciencias de la Salud». A: *El aprendizaje basado en problemas: una herramienta para toda la vida*. Madrid: Agencia Laín Entralgo, 2004.

un conjunt de problemes que permeten tractar tots els objectius d'aprenentatge d'aquestes matèries i que es poden adaptar a les diferents metodologies docents amb les quals es treballa. Tot aquest material, juntament amb una guia de com s'ha adaptat a les diferents metodologies d'aprenentatge, pot aportar a docents dels àmbits abans assenyalats un conjunt de recursos que els ajudin a preparar diferents continguts per a metodologies d'aprenentatge centrades en l'estudiant.² No és l'objectiu d'aquesta publicació ser un manual sobre què és l'ABP, atès que ja s'ha escrit sobre això a bastament en moltes publicacions. Aquesta publicació no sols és interessant per a un mòdul que integri aquestes matèries en un primer curs de Medicina, sinó que molts dels recursos presentats es poden utilitzar en assignatures bàsiques de Bioquímica i Biologia molecular, Genètica o Biologia cel·lular d'altres estudis.

Trobareu en aquesta publicació un primer apartat en el qual es descriuen els diferents objectius generals d'aprenentatge que es tracten en aquest mòdul, una presentació de diferents problemes amb una relació dels objectius específics que es poden treballar i finalment una graella que relaciona els objectius generals que es poden tractar amb cada problema. A continuació es presenta una guia docent de com es poden aplicar els diferents problemes a les tres metodologies que s'usen en el mòdul i, per acabar, una proposta de distribució temporal i avaluació de les diferents metodologies utilitzades.

2. Dolmas, D.; Snellen-Balendong. *Construcción de tareas de la serie Educación Médica basada en problemas*. Holanda: Departament d'Educació i Investigació. Universitat de Maastricht, 1995. ISBN 9053980431

OBJECTIUS GENERALS

Els objectius generals que es van plantejar en el moment de definir els continguts d'aquest mòdul són els que es detallen tot seguit. Aquests objectius generals engloben coneixements de les tres matèries esmentades abans: Bioquímica i Biologia Molecular, Biologia Cel·lular i Genètica, i descriuen de manera genèrica els coneixements que s'espera que els alumnes adquireixin en finalitzar el curs. Aquests objectius generals es desenvolupen en objectius concrets o més específics en cadascun dels problemes o casos que es plantegen als alumnes (vegeu l'apartat següent). Aquests objectius persegueixen aconseguir interdisciplinarietat i disminuir la territorialitat de les assignatures sense excloure la possibilitat que un problema o cas estigui més focalitzat en una disciplina concreta si el desenvolupament del curs així ho aconsella.

Objectius generals

1. Saber donar una visió global del metabolisme cel·lular: diferenciar entre catabolisme i anabolisme, tipus de rutes metabòliques i la seva regulació. Saber definir enzim i descriure els mecanismes de regulació de la seva activitat. Saber explicar com es dona la connexió entre rutes productores i consumidores d'energia.
2. Descriure els conceptes d'àcids nucleics, gen, cromosoma, cromatina (estructura), al·lells i proteïna, i també la seva relació.
3. Identificar les rutes centrals del metabolisme (cicle de Krebs, cadena de transport electrònic i fosforilació oxidativa) i conèixer la seva localització cel·lular, factors i punts principals de regulació.
4. Saber descriure les característiques principals d'una cèl·lula eucariota animal respecte d'una cèl·lula procariota. Entendre l'estructura i el funcionament dels diferents components cel·lulars, des de la membrana plasmàtica fins als diferents orgànuls cel·lulars i la xarxa de filaments proteics que constitueix el citoesquelet. Saber relacionar la funció dels diferents orgànuls cel·lulars amb el metabolisme global de la cèl·lula.
5. Tenir una visió global de les interaccions que s'estableixen entre les cèl·lules i la matriu extracel·lular que les envolta. Saber des-

criure els components principals de la matriu extracel·lular i de les làmines basals i relacionar-los amb les funcions específiques que duen a terme. Descriure els diferents tipus d'unions entre cèl·lules i entre cèl·lula - matriu extracel·lular o cèl·lula - làmina basal amb relació a la seva funció i la seva importància en el funcionament cel·lular òptim.

6. Tenir una visió global de les rutes metabòliques principals d'emmagatzemament i mobilització de compostos rics en energia: hidrats de carboni i lípids, com també de les vies de síntesi i degradació d'aminoàcids. Conèixer la seva localització cel·lular, els factors i punts principals de regulació i la connexió amb altres rutes metabòliques. Identificar les vies de transport de nutrients/metabòlits després de la ingesta i entre òrgans o teixits.
7. Utilitzar els coneixements sobre rutes metabòliques per descriure les adaptacions metabòliques i interrelacions dels òrgans principals dels cos humà en situacions d'homeòstasi i en algunes situacions de desequilibri o malaltia (dejú primerenc, dejú perllongat, exercici aeròbic i anaeròbic, diabetis tipus I i II).
8. Descriure les principals vies de biosenyalització i entendre la seva importància en la comunicació cel·lular i en la coordinació entre òrgans i teixits. Definir hormona i tipus principals.
9. Saber descriure com es duu a terme la transmissió de la informació genètica. Entendre el lligam entre el procés de replicació i el cicle cel·lular. Descriure el funcionament del cicle cel·lular, diferenciant cadascuna de les fases que comprèn i els processos que regulen la mort cel·lular programada o apoptosi.
10. Definir què és l'expressió gènica. Saber descriure els punts i els efectors o processos principals que regulen l'expressió gènica: estructura de la cromatina i la seva remodelació, processos de transcripció i posttranscripció, processos de traducció i posttraducció.
11. Descriure i diferenciar mitosi de meiosi. Interpretar l'efecte de falta de disjunció i les seves conseqüències. Diferenciar entre herència mendeliana i no mendeliana. Reconèixer els diferents patrons d'herència.
12. Distingir els conceptes de gens lligats, recombinació, al·lelisme múltiple, herència mitocondrial. Identificar les diferents anomalies cromosòmiques. Interpretar el cariotip humà normal i saber identificar els cromosomes humans.

PROPOSTA DE PROBLEMES

A continuació es presenten un conjunt de problemes elaborats pels professors que signen aquesta publicació docent com a eina per adquirir els objectius generals detallats en l'apartat anterior. Cadascun dels problemes es presenta associat a un conjunt d'objectius més específics que els alumnes podran treballar mitjançant sessions d'ABP, taller de casos o tallers pràctics, la dinàmica dels quals es descriurà en apartats posteriors. Com es podrà observar, una part d'aquests problemes té un marc general interdisciplinari i, per tant, engloba objectius específics de les tres àrees de coneixement implicades (Bioquímica i Biologia Molecular, Biologia Cel·lular i Genètica) (problemes 1-8), però també es presenten problemes amb objectius específics focalitzats en una disciplina concreta (problemes 9-17). De manera general, mentre els primers s'han utilitzat en les sessions d'ABP, els tallers de casos s'han centrat en els darrers problemes. Tot i això, els problemes que es presenten són prou versàtils perquè posteriorment el docent pugui adaptar els objectius específics d'aprenentatge associats segons les seves necessitats, afegint o eliminant objectius més o menys interdisciplinaris. Aquests problemes no s'han de tractar necessàriament en l'ordre en què es van presentant. Cada professional adaptarà l'ordre a la conveniència que cregui que pot ser l'adequada en el seu cas.

Problema 1

Els petits canvis són poderosos

L'Elena pateix la malaltia de Gaucher, una malaltia amb herència autosòmica recessiva causada per un defecte en el procés de digestió lisosòmic. Com a conseqüència d'això, els productes no degradats s'acumulen a l'interior dels lisosomes, que augmenten en nombre i mida i produeixen un funcionament cel·lular anormal i conseqüències patològiques als diferents òrgans. L'estudi genètic que li van practicar assenyalava que és portadora d'una mutació que substitueix una serina per una asparagina, la qual cosa genera un dèficit lleu en un enzim lisosòmic, i per tant té la malaltia de Gaucher tipus I, que afecta especialment els macròfags. Aquestes cèl·lules, acumulades a la melsa i al fetge, són responsables de l'eliminació diària aproximadament de 10^{11} eritròcits senescents mitjançant el procés de fagocitosi.

Objectius del problema 1

- Descriure l'estructura i ultraestructura dels lisosomes.
- Analitzar la funció dels lisosomes en relació amb el procés de fagocitosi.
- Relacionar el procés de fagocitosi amb les cèl·lules fagocítiques professionals.
- Descriure la via de formació dels lisosomes, analitzant l'estructura i ultraestructura dels compartiments implicats.
- Relacionar cada compartiment amb la funció en l'exportació de proteïnes als diferents destins cel·lulars.
- Relacionar la genètica i l'estructura de proteïnes: saber explicar la relació que hi ha entre seqüència, estructura i funció proteica i, per tant, saber relacionar com una mutació pot afectar el funcionament d'aquestes.
- Ser capaç d'explicar com es fa la transcripció i la traducció en un organisme eucariota.
- Diferenciar els patrons d'herència entre ells. Diferenciar les diferents relacions al·lèliques (dominància i recessivitat).

Problema 2

Nous fàrmacs

La companyia farmacèutica Prim & Brothers acaba de fer públic que ha patentat el compost XCR-54353 provinent de l'extracte d'una planta del nord de l'Amazones no especificada. Diferents experiments han demostrat que els ratolins tractats amb XCR-54353 tenen un pes inferior al dels ratolins no tractats, tot i que reben la mateixa alimentació. Un examen anatòmic ha mostrat una reducció del volum de teixit adipós en els ratolins tractats. En aquests moments, els científics del departament de R+D de la companyia estan estudiant si el compost pot alterar la regulació enzimàtica, i afectar les rutes metabòliques de síntesi de lípids dels ratolins.

Objectius del problema 2

- Definir el concepte d'enzim i distingir els elements que el componen (cofactors, centre actiu). Saber explicar com funciona un enzim.
- Distingir els diferents mecanismes de regulació de l'activitat enzimàtica que poden afectar el metabolisme cel·lular (isoenzims; control per disponibilitat de substrat; enzims al·lostèrics; regulació per modificació covalent reversible (fosforilació) i irreversible (zimògens)).
- Saber definir els conceptes de vies metabòliques, anabolisme i catabolisme.
- Descriure quina funció fan les rutes de síntesi d'àcids grassos, síntesi de triglicèrids, de lípids polars i de colesterol.
- Descriure la funció de la ruta de les pentoses-fosfats com a subministradora de poder reductor.
- Conèixer a partir de quines rutes metabòliques les molècules assimilades a la dieta poden esdevenir àcids grassos.
- Descriure funcionalment els orgànuls cel·lulars relacionats amb la síntesi dels lípids.

Problema 3

Comèdia familiar

Un vespre, al menjador d'un pis de Girona, té lloc el diàleg següent.

Rosa (mare): Tothom a taula! Avui hi ha amanida de pastanaga i macedònia! Us llepareu els dits.

Salvador (fill): Verdura un altre cop? D'ençà que vas anar a aquelles conferències que a casa només es mengen vegetals! Jo no em vull convertir en vegetarià!

Rosa: Això de la carn no és bo. A casa no es menjarà ni carn ni peix ni ous a partir d'ara.

Romeu (avi): Ja m'agrada, ja. La carn està plena d'hormones.

Salvador: Però, avi, quina importància tenen les hormones? Es tracta de menjar molta proteïna, que es transporta molt fàcilment a dins les cèl·lules.

Romeu: Tu què saps, si només tens 19 anys! Que m'ho ha dit l'Oleguer, el del quiosc, que té molta cultura. Diu que el seu nebot es va engreixar per menjar pollastre tot el dia.

Salvador: Segur que no és això. A més, a la Roseta no la pots deixar sense carn si només té 8 anys.

Rosa: Per què no? Hi ha molta gent vegetariana!

Sebastià (pare): I tant! A més a més, a mi que m'han trobat les transaminases altes segur que em convé no menjar carn i que el fetge no treballi tant.

Salvador: Pare, tu tens problemes de cor i no de fetge. A part, si menges carn treballaran els ronyons i no pas el fetge.

Roseta (filla): El professor de gimnàstica diu que si no mengem prou ens quedarem petites.

Rosa: Fes-li cas, tu, a aquest!

Salvador: Doncs si menjo molta carn tindrè més músculs, i això agrada a les noies.

Rosa: Greix tindràs més aviat, si no et mous.

Objectius del problema 3

- Descriure en diferents estats de l'organisme quin destí tindran els aminoàcids assimilats a la dieta.
- Saber explicar la importància central del cicle de Krebs i les seves connexions amb l'anabolisme i el catabolisme.
- Ser capaç d'explicar quina funció fa cada una de les rutes del metabolisme dels aminoàcids (transaminases, cicle de la urea, degradació dels aminoàcids, síntesi d'aminoàcids).
- Saber explicar com es transporta el nitrogen entre els òrgans de l'ésser humà.
- Descriure les funcions metabòliques especialitzades que fa el fetge respecte als aminoàcids.
- Descriure els diferents tipus de transport a través de la membrana plasmàtica.
- Conèixer què són les hormones i els tipus principals. Saber definir què són els senyals autocrins, paracrins i endocrins.

Problema 4

En Joan no hi veu però el seu pare sí

En Joan té 23 anys i un percentatge de visió a l'ull esquerre del 5% i a l'ull dret del 9%. Aquest dèficit de visió, que interfereix en la seva vida quotidiana, li fou diagnosticat l'any passat com a neuropatia òptica de Leber. Aquesta malaltia és una malaltia hereditària poc freqüent que afecta sobretot els homes joves. Es produeix per mutacions puntuals en el DNA mitocondrial i afecta un gen que codifica per una de les subunitats del complex I de la cadena de transport d'electrons (NADH deshidrogenasa), situada a la membrana mitocondrial interna. Tot i que la retina pot produir energia a partir de sucres de manera alternativa per fermentació làctica, aquest defecte produeix la degeneració de cèl·lules de la retina i dels seus axons, que les dones, però no els homes, transmeten a la seva descendència. Per tractar-la, una aproximació és el tractament metabòlic mitjançant l'administració de substrats o cofactors de la via de transport d'electrons, com succinat o coenzim Q.

Objectius del problema 4

- Descriure l'estructura i ultraestructura general dels mitocondris.
- Descriure l'estructura del DNA mitocondrial i el seu patró d'herència.
- Descriure l'estructura i composició de les membranes mitocondrials comparant-les amb altres membranes cel·lulars.
- Identificar els components de la membrana implicats en la producció d'ATP en relació amb la funció bioenergètica dels mitocondris.
- Descriure les característiques diferencials dels mitocondris respecte a altres orgànuls cel·lulars quant a la producció de proteïnes mitocondrials no codificades pel DNA nuclear.
- Saber explicar com l'oxidació de molècules genera una gran quantitat d'energia en el procés de transport electrònic mitocondrial i fosforilació oxidativa.
- Ser capaç d'explicar quina funció fan la glucòlisi i la fermentació làctica.

Problema 5

*Amniocentesi: nena o nen?*³

Laura, una dona de trenta-vuit anys, embarassada de deu setmanes, se sotmet a una amniocentesi. Aquesta tècnica consisteix, una vegada extret el líquid amniòtic, a afavorir la divisió de les cèl·lules mitjançant un cultiu cel·lular per determinar el cariotip fetal. D'aquesta manera es pot esbrinar si l'embrió té alguna anomalia cromosòmica, a causa de l'edat avançada de la mare.

El resultat de la prova demostra que és portadora d'un embrió normal: 46, XX. L'ecografia de control rutinari que se li practica a les divuit setmanes posa clarament de manifest els genitals de l'embrió: la Laura duu un fòrmós embrió de sexe masculí.

—Aquí, sens dubte, hi ha un error —planteja la Laura al seu ginecòleg.

—Miri... —comença el metge.

La Laura surt de la consulta del ginecòleg amb un embolic mental bastant impressionant. No entén gaire bé el que li han explicat.

Objectius del problema 5

- Descriure la divisió cel·lular per mitosi i caracteritzar les etapes que la constitueixen.
- Diferenciar entre cromosomes i cromatina, analitzant què representa cadascuna d'aquestes estructures i en quines condicions es presenta.
- Ser capaç de descriure les semblances i diferències entre un nucli interfàsic i un nucli en divisió, en relació amb les estructures intracel·lulars que es localitzen en cada cas.
- Saber diferenciar entre meiosi i mitosi.
- Definir la funció principal de la meiosi i descriure el mecanisme de la meiosi amb les seves fases.
- Conèixer les conseqüències de la recombinació en la meiosi.
- Descriure i definir la recombinació al·lèlica.
- Definir cariotip, i esquematitzar un cariotip humà normal.
- Enumerar i diferenciar les principals anomalies cromosòmiques en humans.

3. Adaptat de: Grau, R. «L'aprenentatge basat en problemes com a estratègia interactiva en l'ensenyament de la Biologia». *Treballs de la Societat Catalana de Biologia*, 2006. 57: 155-167.
ISBN 978-84-8458-391-2

Problema 6

L'embaràs de l'Araceli

L'Araceli té 39 anys i està embarassada. Tot i que està molt contenta, està preocupada perquè no coneix el seu grup sanguini, i sap que el seu marit és Rh+. Si ella fos Rh-, això podria comportar un risc per al nadó, ja que podria desenvolupar anticossos contra la proteïna RhD del nadó que li podrien causar una malaltia hemolítica i fins i tot la mort fetal intrauterina. A més li han comentat que amb l'edat augmenta la possibilitat de tenir un fill amb alguna alteració cromosòmica. Aconsellada pels seus pares, va al ginecòleg i li demana que li facin una amniocentesi perquè així sabrà el cariotip del fetus i podrà saber si té alguna anomalia. A part, el metge li aconsella fer-se una analítica per determinar el seu factor Rh.

Objectius del problema 6

- Saber diferenciar entre meiosi i mitosi.
- Definir cariotip, i esquematitzar un cariotip humà normal.
- Identificar els tipus de cromosomes humans, i classificar-los segons les diferents metodologies.
- Enumerar i diferenciar les principals anomalies cromosòmiques. Delecions, duplicacions, inversions.
- Ser capaç d'esquematitzar l'estructura bàsica del gen.
- Relacionar la genètica i l'estructura de proteïnes: saber explicar la relació que hi ha entre seqüència, estructura i funció proteica i, per tant, saber relacionar com una mutació pot afectar el funcionament d'aquestes.
- Ser capaç d'explicar com es duu a terme la replicació del DNA eucariota i com es coordina amb el cicle cel·lular.

Problema 7

Tot està més relacionat del que sembla

L'Institut d'Antropologia Humana està estudiant una fossa comuna amb molts cadàvers, tots de la mateixa família. Molts dels individus analitzats, però no tots, presenten un desenvolupament anormal de les ungles característic d'una malaltia anomenada síndrome d'ungla-ròtula. Aquesta malaltia està relacionada amb el metabolisme del col·lagen, un component important de la matriu extracel·lular.

A més, aquests mateixos investigadors contacten amb genètics moleculars que mitjançant tècniques basades en DNA han pogut esbrinar el grup sanguini (AB0) de cadascun dels individus. Curiosament, troben una proporció més elevada de la que hi pugui haver per atzar entre individus amb la malaltia i individus amb un determinat grup sanguini.

Objectius del problema 7

- Diferenciar la primera i la segona llei de Mendel.
- Explicar les excepcions a les lleis de Mendel i relacionar-ho amb la llei que contradiuen.
- Diferenciar entre loci lligats i no lligats. Relacionar distància genètica i grup de lligament.
- Definir les diferents relacions al·lèliques i al·lèls múltiples.
- Identificar els components de la matriu extracel·lular, relacionant-los amb les seves funcions.
- Descriure l'estructura del col·lagen i raonar les conseqüències de l'alteració d'aquesta estructura en la funcionalitat del teixit.
- Analitzar el procés de síntesi de la col·làgena relacionant-lo amb els diferents compartiments cel·lulars implicats en el seu transport intracel·lular.

Problema 8

Dopatge

Durant la seva estada al Brescia FC, Josep Guardiola va ser injustament acusat pel Comitè Olímpic Italià de dopatge per nandrolona, un esteroide derivat de l'hormona testosterona. Aquesta substància modifica l'expressió gènica canviant el nivell de transcripció d'alguns gens en un nombre limitat de cèl·lules. El seu efecte esperat és un augment del volum i la força musculars. No és gaire clar com aquesta substància podria ajudar a millorar el rendiment d'un esportista els músculs del qual estan especialitzats en la resistència (exercici aeròbic) i no en la potència (exercici anaeròbic).

Objectius del problema 8

- Descriure i esquematitzar l'estructura bàsica del gen.
- Ser capaç d'explicar com es duu a terme la transcripció en un organisme eucariota.
- Saber explicar com es regula l'expressió dels gens en organismes eucariotes i la seva relació amb l'estat de compactació de la cromatina. Saber definir els conceptes de promotor, transactivador, coactivador, silenciador.
- Saber explicar el sistema de transducció del senyal basat en receptors d'hormones esteroides. Saber explicar com es coordina amb la regulació del metabolisme.
- Saber distingir els conceptes d'exercici aeròbic i anaeròbic. Descriure quines adaptacions metabòliques han de produir-se en els diferents òrgans d'una persona durant l'exercici aeròbic i anaeròbic.
- Analitzar la diferència entre receptors de membrana i receptors intracel·lulars en relació amb la naturalesa química del lligand i les propietats de la membrana plasmàtica.

Problema 9

L'Arnau envelleix ràpidament

En una visita al Servei de Pediatria de l'Hospital de Sant Joan de Déu de Barcelona, el Dr. Vila explicava als alumnes de Medicina l'història clínic de l'Arnau, el cas més recent de progèria. La progèria, també anomenada *síndrome de Werner*, és una malaltia genètica que es manifesta a la infància, molt poc freqüent (s'estima que afecta un de cada 8 milions de nadons) i caracteritzada per un envelliment brusc i prematur. Se sap que es produeix per mutacions de la proteïna anomenada *làmina A/C*, implicada en la formació de la làmina nuclear. Com a conseqüència d'això, les cèl·lules presenten un nucli amb alteracions estructurals i defectes en l'organització de l'heterocromatina. Igualment, els mecanismes de reparació del DNA, que es produeixen durant les fases G1 o G2 del cicle cel·lular i que permeten la progressió a través dels diferents punts de control d'aquest cicle, estan alterats.

Objectius del problema 9

- Descriure l'estructura i ultraestructura del nucli cel·lular: definir els components que el constitueixen i relacionar-los amb la seva funció.
- Analitzar el trànsit nucli-citoplasma: estructures implicades i molècules relacionades.
- Descriure el funcionament del cicle cel·lular pel que fa a les diferents fases, punts de control i proteïnes implicades en la seva regulació.
- Descriure el procés de mort cel·lular programada o apoptosi en relació amb els principals processos cel·lulars associats a aquest procés, les proteïnes efectores i els tipus de senyals inductors, amb una atenció especial a la presència de DNA lesionat.

Problema 10

L'estrès cel·lular de la contracció muscular

En Dídac, quan va néixer i durant els primers mesos, era aparentment un nen com tots els altres. En canvi, en les visites periòdiques, el pediatre aviat observa una certa debilitat muscular i pèrdua de reflexos. Després de totes les proves pertinents per descartar altres malalties, el metge comenta als pares que en Dídac pateix distròfia muscular de Duchenne, una malaltia d'origen genètic amb herència recessiva lligada al cromosoma X. El gen afectat codifica per una proteïna anomenada *distrofina*, la qual s'uneix, d'una banda, amb filaments d'actina, i de l'altra, amb un complex de proteïnes transmembrana que s'uneixen alhora amb la matriu extracel·lular. Així, la distrofina estableix un pont d'unió entre el citoesquelet de les cèl·lules musculars i la seva matriu extracel·lular, fonamental per solucionar l'estrès cel·lular del procés de contracció muscular.

Objectius del problema 10

- Descriure l'estructura i composició de la membrana plasmàtica: identificar els components químics (lipídics, proteics i glucídics) i la seva organització (model del mosaic fluid).
- Detallar les funcions de la membrana plasmàtica i relacionar-les amb els components que la formen.
- Identificar els components principals del citoesquelet i relacionar-los amb les seves funcions.
- Descriure les diferents unions intercel·lulars en relació amb els components del citoesquelet que les formen.
- Identificar els components de la matriu extracel·lular responsables de la interacció amb receptors cel·lulars específics, com a nexes d'unió cèl·lula - matriu extracel·lular.

Problema 11*La mort d'en Martí*

En Martí és un operari de Plàstics Romeu, SL, empresa dedicada a la fabricació de plàstics. Després d'un accident a la planta de fibres acríliques, es comença a trobar molt malament, surt ràpidament de la cambra on estava sol i es desmaia. És traslladat ràpidament a l'hospital amb trastorns de la consciència, dificultats respiratòries i taquicàrdia. Mor abans de poder arribar a l'hospital. En una autòpsia al cadàver s'observa una concentració elevada de cianur a la sang. L'anàlisi sanguínia també mostra concentracions elevades d'oxigen en sang venosa i una acidosi important.

Objectius del problema 11

- Saber explicar com funcionen els amortidors, principalment els que determinen el pH intracel·lular i extracel·lular.
- Descriure el transport d'oxigen a la sang i com aquest és afectat per diferents efectors al·lostèrics.
- Descriure la funció de l'ATP i relacionar-la amb els compostos d'alta i baixa energia. Saber explicar com aquesta molècula es genera i es consumeix.
- Saber explicar la funció dels transportadors electrònics o de poder reductor i com aquests estan implicats en la generació d'energia.
- Saber explicar com l'oxidació de molècules genera una gran quantitat d'energia en el procés de transport electrònic mitocondrial i fosforilació oxidativa.

Problema 12

La vida al carrer

La Maia fa 8 anys que viu al carrer i en fa 7 que és alcohòlica. Passa el dia en una plaça amb altres indigents bevent vi i compartint la barra de pa que els regala la dona de la fleca o els macarrons o croquetes que els regalen els de la botiga de menjar preparat si n'han sobrat en el moment de tancar.

Avui, un veí de la plaça ha trucat a la policia ja que al portal de casa seva ha aparegut la Maia sobre uns cartrons en estat de semiinconsciència. Un cop als serveis mèdics, se li diagnostica un estat de desnutrició i beri-beri. El beri-beri és una malaltia causada per una deficiència de tiamina (vitamina B1) deguda a una mala alimentació i una adsorció deficient de la vitamina pels danys produïts per l'alcohol en el sistema digestiu. Aquesta malaltia afecta sobretot el cor i el sistema nerviós, a causa de l'especialització metabòlica d'aquests òrgans.

Per tot això, la Maia presenta uns nivells alts en sang de piruvat, lactat, cossos cetònics i alanina, i una activitat baixa dels complexos de la piruvat deshidrogenasa i de l'alfa-cetoglutarat deshidrogenasa i altres enzims del cicle de Krebs. La hiperventilació fa sospitar de la possibilitat que hi hagi una certa acidesa metabòlica deguda a l'acumulació de lactat.

Se li administra tiamina i una dieta rica en greixos i aminoàcids, i baixa en carbohidrats.

Objectius del problema 12

- Ser capaç d'explicar quina funció fan les rutes del metabolisme dels glúcids següents: complex de la piruvat deshidrogenasa, fermentació làctica i gluconeogènesi.
- Descriure les funcions metabòliques especialitzades que duen a terme el fetge, el múscul, el cervell, el teixit adipós i la sang. Relacionar aquesta especialització amb l'especialització de rutes metabòliques de cada òrgan.
- Ser capaç d'explicar quina funció fan les rutes metabòliques que s'estableixen entre diferents òrgans (cicle de Cori i cicle de la glucosa-alanina).

- Descriure quines adaptacions metabòliques han de produir-se en els diferents òrgans d'una persona en un estat d'inanició. Identificar les hormones que regulen aquest procés d'adaptació.
- Saber explicar quina és la funció del glucagó i també com aquesta funció es duu a terme en part regulant el metabolisme de sucres i greixos de l'organisme. Saber distingir en quines condicions se secreta aquesta hormona.
- Saber explicar el sistema de transducció del senyal basat en receptors acoblats a proteïnes G. Saber explicar com el sistema de transducció del senyal del glucagó es coordina amb la regulació del metabolisme. Saber explicar com diferents tipus de senyals es poden integrar en una resposta en cada cas.
- Descriure com l'organisme elimina l'etanol de l'organisme i quines adaptacions metabòliques han de produir-se en els diferents òrgans d'una persona alcohòlica.

Problema 13

Menjar en excés acaba passant factura

En Joan, un home de 63 anys amb 120 kg de pes, es presenta a la consulta preocupat perquè d'un mes ençà sent un lleuger dolor al pit quan puja escales o fa algun tipus d'exercici continuat. El metge li fa un electrocardiograma que mostra evidències d'un inici d'infart de miocardi. En vista dels resultats, encarrega una anàlisi de sang i un TAC amb els resultats següents:

El TAC mostra que en Joan presenta una placa arterioscleròtica en una de les coronàries, que obstrueix en el 40%. Planteja la necessitat de fer un cateterisme.

L'anàlisi de sang mostra el perfil de lípids següent:

	Pacient	Rang de referència
Colesterol	510 mg/dl	(140-220 mg/dl)
HDL	33 mg/dl	(35-55 mg/dl)
LDL	323 mg/dl	(65-190 mg/dl)
Triglicèrids	220 mg/dl	(30-200 mg/dl)
Glucosa	130 mg/dl	(60-80 mg/dl)

El metge explica a en Joan que presenta uns nivells de colesterol «dolent» i triglicèrids molt alts, i per tant l'adreça al dietista per programar-li un règim que l'ajudi a reduir pes i nivells de colesterol. S'haurà d'anar controlant els nivells de sucre, ja que és possible que tingui un principi de diabetis.

Objectius del problema 13

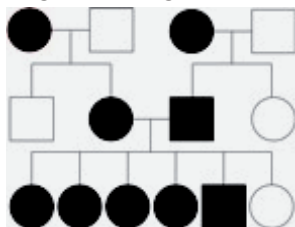
- Descriure com es produeix la captació de glucosa i àcids grassos de la sang a la cèl·lula. Identificar de quina manera i on s'acumulen intracel·lularment.
- Saber explicar quins mecanismes utilitza el cos humà per transportar les substàncies apolars per un medi aquós com és la sang. Distingir les propietats i les funcions dels sistemes lipoproteics: quilomicrons, VLDL, LDL, IDL, HDL.

- Saber explicar la importància del manteniment dels nivells de glucosa en sang.
- Saber explicar com la insulina regula el metabolisme de sucres i greixos.
- Descriure, a través d'un esquema, el mecanisme pel qual un augment de la concentració de sucre provoca la secreció de la insulina.
- Saber explicar el sistema de transducció del senyal basat en receptors enzimàtics. Explicar com el senyal de la insulina es coordina amb la regulació del metabolisme.
- Identificar les causes i saber explicar quines adaptacions metabòliques han de produir-se en els diferents òrgans d'una persona obesa.

Problema 14

L'herència que ha rebut l'Anna no són només diners

L'Anna és la quarta filla d'una parella que presenta un caràcter poc freqüent en la població. L'Anna i el Carles, el seu company, volen tenir fills i volen saber si el caràcter que ella també presenta podria ser heretat per la seva descendència. Per respondre a les seves qüestions, consulten un genetista, que proposa elaborar el pedigrí de la família de l'Anna. Aquest pedigrí és el següent:



Una vegada fet, el genetista els explica les diferents possibilitats, segons les lleis de l'herència aplicades a humans. Així, els descriu cinc patrons d'herència possibles: *a.* autosòmic recessiu, *b.* autosòmic dominant, *c.* lligat al X recessiu, *d.* lligat al X dominant, *e.* lligat al Y.

Objectius del problema 14

- Definir la funció principal de la meiosi.
- Descriure tot el mecanisme de la meiosi amb les seves fases.
- Diferenciar meiosi de mitosi.
- Relacionar meiosi i gametogènesi.
- Enumerar les lleis de Mendel.
- Diferenciar la primera llei de Mendel de la segona llei.
- Relacionar genealogia i pedigrí.
- Esquematitzar un pedigrí, utilitzant el codi internacional.
- Diferenciar els patrons d'herència entre ells. Avaluar el tipus d'herència d'un caràcter segons els patrons d'herència.
- Explicar les excepcions a les lleis de Mendel i relacionar-ho amb la llei de Mendel que contradiuen.

- Diferenciar entre loci lligats i no lligats. Relacionar distància genètica i grup de lligament.
- Definir les diferents relacions al·lèliques (dominància, recessivitat, codominància, herència intermèdia) i entre al·lels múltiples. Il·lustrar amb exemples cada cas.

Problema 15

Vacunes de DNA

Els científics han descrit molts tipus de seqüències de DNA i molècules de RNA que duen a terme diferents funcions en la cèl·lula. En els darrers anys s'ha descobert que el DNA es pot utilitzar per generar vacunes. Una de les vacunes que s'està investigant consisteix en una molècula de DNA que codifica per una nucleoproteïna del virus de la grip. Aquest gen és idèntic o amb poques mutacions en moltes soques del virus i podria protegir contra moltes d'elles. La vacuna consta de DNA lliure, és a dir, sense proteïnes associades. Aquest DNA entra a les cèl·lules i no es replica durant la divisió cel·lular, però pot expressar-se sense la necessitat de les proteïnes virals, utilitzant les proteïnes de la cèl·lula hoste. Els resultats de les primeres proves en ratolins són molt prometedors.

Objectius del problema 15

- Saber explicar els diferents tipus de seqüències de DNA que componen el genoma (seqüència única, moderadament repetitiva i altament repetitiva) i la seva funció.
- Distingir els diferents tipus de RNA i la funció que duu a terme cadascun d'ells.
- Relacionar la genètica i l'estructura de proteïnes: saber explicar la relació que hi ha entre seqüència, estructura i funció proteica i, per tant, saber relacionar com una mutació pot afectar el funcionament d'aquestes.
- Ser capaç d'explicar com es fa la replicació del DNA eucariota i com es coordina amb el cicle cel·lular.
- Ser capaç d'explicar com es duu a terme la transcripció en un organisme eucariota.
- Saber descriure com es produeix el processament del transcrit primari i saber explicar per què aquest processament permet augmentar la diversitat proteica.
- Descriure la funció que fan els tRNA, el ribosoma i les aminoacil tRNA sintetases en el procés de traducció. Ser capaç d'explicar com es duu a terme la traducció en un organisme eucariota i com es pot regular.

Problema 16*L'estatura, l'escola i els cromosomes: una diagnosi*

En Pere és un nen amb un aspecte normal (fenotip normal) que a l'adolescència ha començat a créixer massa. L'escola no li agrada gens ni mica, a més a més li costa seguir el ritme dels seus companys. La pediatra d'en Pere, amb molt ull, explica als seus pares que, encara que amb una freqüència baixa, hi ha una malaltia genètica associada a una anomalia cromosòmica que explicaria aquesta situació, però que caldria fer diverses proves per assegurar-ne la diagnosi i plantejar un tractament que evitaria altres símptomes no desitjables. Les proves són: *a.* estudi del comportament, *b.* genètica de les cèl·lules somàtiques, *c.* cariotip, *d.* anàlisi bioquímica, *e.* anàlisi del pedigrí.

Objectius del problema 16

- Definir cariotip, i esquematitzar un cariotip humà normal.
- Identificar els tipus de cromosomes humans, i classificar-los segons les diferents metodologies.
- Enumerar i diferenciar les principals anomalies cromosòmiques. Delecions, duplicacions i inversions.
- Explicar les translocacions, diferenciar els diferents tipus de translocacions i esquematitzar les seves conseqüències en la meiosi.
- Distingir poliploidia i aneuploidia. Relacionar-les amb polisomies.
- Explicar el mecanisme de manca de disjunció en la meiosi. Relacionar-ho amb l'aneuploidia.

Problema 17

L'Ignasi no para de vomitar

L'Ignasi, un nen de 3 anys d'edat, és portat per la seva mare a urgències ja que fa 4 dies que té febre, diarrea i finalment vòmits i un estat d'apatia. La mare explica que tot va començar amb febre i diarrea i després amb vòmits fins al punt que ara no tolera ni cullerades d'aigua. El metge d'urgències examina el nen i observa que la boca li fa una olor dolça que recorda l'olor d'una intoxicació alcohòlica. El metge comprova que la febre ha remès, però que efectivament el nen no tolera cap tipus d'aliment ni sòlid ni líquid. Demana una anàlisi d'orina, i els resultats indiquen uns nivells de cossos cetònics alts, que normalment són conseqüència d'una secreció elevada de glucagó. Una anàlisi de sang confirma que el nen no pateix diabetis. A poc a poc, l'Ignasi torna a menjar, i en una nova analítica els valors tornen a la normalitat. El metge li recomana que en pocs dies torni a fer una dieta normal.

Objectius del problema 17

- Descriure quines adaptacions han de produir-se en els diferents òrgans d'una persona quan aquesta es troba en un estat de bona nutrició, en un estat de dejú primerenc i en un estat de renutrició.
- Identificar i tenir una visió general de les vies metabòliques destinades a l'obtenció d'energia i glucosa en un estat de dejú (β -oxidació, síntesi de cossos cetònics, degradació de glicogen i gluconeogènesi).
- Conèixer quina és la principal hormona implicada en la regulació metabòlica en un estat de dejú i com aquesta pot regular les vies metabòliques conegudes.
- Descriure quins canvis metabòlics han de produir-se en els diferents òrgans d'una persona afectada de diabetis mellitus de tipus I i de tipus II. Identificar les causes de la malaltia.

TAULA. Objectius generals de cadascun dels problemes proposats

Objectius generals (resumits)	Problemes																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1. Visió global del metabolisme		X									X						
2. Conceptes, àcids nucleics, gen, cromosoma	X				X	X	X	X	X					X	X		
3. Rutes centrals del metabolisme		X	X	X							X						
4. Descripció de la cèl·lula eucariòtica	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X						
5. Cèl·lula i matriu extracel·lular. Interaccions	X	X	X				X	X		X							
6. Metabolisme dels compostos rics en energia		X	X	X							X		X				X
7. Adaptacions metabòliques			X					X				X	X				X
8. Vies de biosenyaltització			X					X			X						X
9. Transmissió d'informació genètica. Cicle cel·lular					X	X			X					X	X		
10. Expressió genètica	X							X							X		
11. Meiosi i mendelisme	X				X		X							X			X
12. Excepcions a Mendel i cariotip				X	X	X	X							X	X		X

APLICACIÓ D'AQUESTS PROBLEMES A LA METODOLOGIA DOCENT DE L'APRENENTATGE BASAT EN PROBLEMES

L'aprenentatge basat en problemes^{4,5} és una proposta educativa centrada en l'estudiant el punt de partida de la qual és un problema o un text que atreu el seu interès. Aquest text li ha de permetre identificar mancances de coneixement que el motivaran a complir uns objectius d'aprenentatge preestablerts, així com desenvolupar hipòtesis explicatives que li permetran comprendre millor el problema. Cada estudiant, d'una manera independent i autodirigida, fa un estudi d'algun dels objectius d'aprenentatge identificats per tornar al grup posteriorment per discutir i refinar els coneixements adquirits. L'estratègia d'aprenentatge basat en problemes ajuda a desenvolupar una sèrie d'habilitats i competències molt importants en l'entorn professional actual que inclouen l'habilitat per adquirir informació veraç i contrastada, sintetitzar-la i comunicar-la; la capacitat d'analitzar aquesta informació amb sentit crític i d'elaborar a partir d'ella possibles hipòtesis, i de provar aquestes hipòtesis a través de l'adquisició d'informació addicional, i la capacitat d'arribar a conclusions argumentades. També fomenta que l'estudiant prengui consciència del seu procés d'aprenentatge i que desenvolupi un esperit col·laboratiu i de participació.

El procés es desenvolupa en grups petits de 8 o 10 estudiants i cada problema es divideix en tres sessions de dues hores cadascuna. És important que entre les sessions hi hagi temps suficient perquè l'estudiant pugui treballar la tasca que el grup li ha encomanat, però que aquest temps d'estudi no sigui excessiu. Considerem que una temporalització de dilluns, dimecres i divendres és adequada.

La primera sessió s'inicia amb el plantejament del problema, que hauria de ser interessant i motivador per a l'estudiant i que tant com fos possible hauria de poder ser percebut com a real. Tot això perquè l'estudiant s'interessi per adquirir nous coneixements. Aquests nous coneixements hauran estat definits pel professorat en el moment de la

4. Wood, D. F. *Problem based learning*, 2003. BMJ 236, 328-330.

5. Thomas, R. E. *Problem-based learning: measurable outcomes*. Med. Educ., 1997. 31, 320-329.

redacció del problema, corresponent als objectius d'aprenentatge del curs, i els estudiants no els coneixeran *a priori*. El problema no ha de ser per força un cas clínic que requereixi que l'estudiant hi trobi necessàriament una solució, aquesta pot estar explicada dins del mateix problema. És interessant que els problemes siguin complexos, ja que això permet incloure un nombre d'objectius d'aprenentatge significatiu i possibilita la interrelació d'aquests objectius.

Durant la sessió es dedica un primer espai de temps a la lectura del problema plantejat i a l'aclariment dels conceptes que no s'entenen. Un cop tothom ha entès el problema es fa una llista de tot allò que els estudiants ja coneixen d'aquest problema. És interessant que els estudiants comuniquin els seus coneixements previs i que, basant-se en les qüestions que puguin plantejar els seus companys o el tutor, es determini si aquests coneixements estan prou ben assolits o, si és necessari, si caldrà madurar-los o ampliar-los. També es fa una pluja d'idees d'aquells coneixements que els alumnes creuen que poden ser rellevants per comprendre el problema plantejat i, si s'escau, per resoldre'l. S'enceta amb aquesta llista un període de discussió sobre l'adequació de cada una de les idees proposades que porta a descartar-ne algunes, proposar-ne de noves o agrupar-les. Un cop es té la llista definitiva, el grup elabora una llista amb un conjunt d'objectius d'aprenentatge que creu que ha d'assolir per entendre el problema plantejat i que constitueix el pla d'aprenentatge. És important que, tant com es pugui, aquest pla d'aprenentatge també reflecteixi els interessos particulars dels diferents membres del grup. Els estudiants es responsabilitzen de la preparació de la informació sobre algun d'aquests objectius per a la propera sessió. És una bona idea que el grup discuteixi quines són les millors fonts en les quals es pot començar a buscar aquesta informació. En funció de l'objectiu, el poden treballar tots els membres del grup (si és necessari per comprendre la majoria dels objectius d'aprenentatge proposats) o pot ser responsabilitat d'un, dos o tres estudiants. Cada estudiant o grup d'estudiants ha de cercar la informació necessària sobre l'objectiu o objectius assignats, contrastar-la en diferents fonts i treballar-la per tal de poder presentar al grup les idees principals en la sessió següent. El tutor no informa dels objectius d'aprenentatge que hi ha previstos per a aquest problema durant aquesta sessió.

El paper del tutor en aquesta i les altres sessions és el de facilitador de l'aprenentatge. El tutor no és qui proposa idees o objectius d'aprenentatge, cosa que és responsabilitat dels estudiants. El tutor, a més d'avaluar com cada estudiant contribueix a l'aprenentatge del grup i al propi aprenentatge, té la funció de vetllar perquè la dinàmica del grup sigui l'adequada per tal que pugui desenvolupar les habilitats per facilitar el coneixement. Si s'escau, es pot plantejar als estudiants preguntes que els ajudin a trobar per ells mateixos el camí millor per entendre o tractar el problema o perquè l'estudiant sigui conscient de si ha entès o no allò que vol comunicar. La inquisició de les fonts d'on s'ha extret la informació també és interessant, ja que dóna l'oportunitat de discutir sobre la seva fiabilitat o saber si la informació és contrastada. El tutor també ha de generar en els seus estudiants la disposició de treballar d'aquesta manera, estimulants la participació de tots els membres i reflexionant amb ells sobre les habilitats i coneixements assolits. El tutor pot actuar com a professor expert fora d'aquestes sessions si algun membre del grup li demana una sessió de tutoria sobre algun aspecte que ha estat treballant i no acaba d'entendre.

En la segona sessió els membres del grup presenten la feina que han fet durant aquests dos dies. No es tracta de fer una exposició magistral de l'objectiu d'aprenentatge encomanat en la qual a cada torn un únic estudiant fa un paper actiu i els altres reben passivament aquesta informació, sinó que cada estudiant presenta un resum de les idees principals i una descripció de les fonts a partir de les quals considera que el grup pot assolir millor aquests coneixements. És molt important que els estudiants discuteixin les fonts d'informació usades en el període d'estudi, ja que això fa que el mateix grup controli la qualitat del que s'està aportant. Atès que cada objectiu està relacionat amb els altres, ja que tots provenen del mateix problema, els altres estudiants han de relacionar la seva feina amb la que es presenta en cada moment. El grup ha d'aplicar la informació presentada en cada moment al problema que s'està discutint, ja que això ajuda a identificar punts foscos, permet analitzar críticament la informació i pot aportar noves qüestions que per al grup pot ser interessant d'investigar. Un cop tothom ha presentat la seva feina i s'ha discutit, el problema és reavaluat, i el grup pot identificar objectius d'aprenentatge que no han estat prou treballats i que

caldria aclarir, o identificar nous objectius d'aprenentatge que es creu que valdria la pena treballar, i en fa una llista. Un cop feta la llista, el tutor presenta la llista d'objectius d'aprenentatge que ell considera que s'hauria de treballar per a aquest problema i es compara amb la llista preparada pels estudiants. Si hi ha algun objectiu d'aprenentatge que encara no ha estat plantejat, s'incorpora, i tot plegat constitueix un nou pla d'aprenentatge per treballar a la tercera sessió. Finalment, el grup es divideix de nou la feina de preparació de la informació sobre aquests objectius.

La dinàmica de la tercera sessió és molt similar a la de la segona. Els estudiants presenten la feina feta, la qual es discuteix en comú. Al final de la sessió cal que el grup sigui conscient de les coses noves que ha après treballant amb el problema i com es relacionen entre elles. Com que no hi ha una quarta sessió, és responsabilitat de cada membre del grup que la feina estigui ben acabada en aquest punt. És bo que amb una certa periodicitat el tutor proposi en aquesta tercera sessió una avaluació del procés d'aprenentatge que va seguint el grup.

APLICACIÓ D'AQUESTS PROBLEMES A LA METODOLOGIA DOCENT D'ANÀLISI DE CASOS

Els tallers de casos constitueixen un mètode complementari al de l'aprenentatge basat en problemes (ABP), a l'hora d'abordar el conjunt d'objectius generals del mòdul. En aquest cas concret, l'alumne també treballa amb un problema que se li planteja, i que té un enunciat que no hauria de ser excessivament extens. Aquest enunciat introdueix un conjunt de conceptes clau que es relacionen amb els objectius d'aprenentatge específics que els professors experts van associar al problema i que s'hauran d'assolir quan l'alumne hagi conclòs el seu treball personal. Posteriorment a la presentació del cas, es fa una sessió dirigida per un professor expert amb els objectius d'aprenentatge que es pretenen abordar. Malgrat que tant l'ABP com el taller de casos utilitzen l'enunciat d'un problema a l'hora d'introduir els objectius d'aprenentatge, ambdós presenten algunes diferències importants.

En primer lloc, els alumnes coneixen l'enunciat del cas i els objectius d'aprenentatge associats al cas una setmana abans de la sessió amb el professor. A més, i aquesta és també una diferència substancial respecte de l'ABP, els alumnes disposen d'un conjunt de preguntes guia que els serveixen de suport a l'hora de dur a terme l'aprenentatge autònom. A partir del cas, i les preguntes guia, els alumnes empraran el material de consulta necessari per assolir els objectius d'aprenentatge. El material que consultin (llibres, articles científics, de divulgació...) és una elecció lliure de l'alumne, atès que l'estudiant universitari ha de tenir una maduresa i un esperit crític suficients per saber quines són les fonts més adients per abordar els objectius i quines són les que ofereixen una resposta més adequada a les preguntes guia. Precisament, aquestes preguntes guia serveixen tant per fomentar la reflexió i la discussió del cas com per deduir la profunditat amb la qual el mateix alumne ha d'assolir els objectius d'aprenentatge.

Els diferents casos es reparteixen temporalment de manera equitativa a fi de no sobrecarregar els alumnes de feina. Un exemple de temporalització es presenta en l'apartat corresponent. En tot cas, la lectura del text, dels objectius i les preguntes, així com el treball personal de lectura, recopilació i comprensió de la informació, és fonamental per a un bon desenvolupament d'aquesta activitat.

Posteriorment, i el dia fixat en el calendari que els estudiants tenen a l'abast a l'inici del mòdul, es duu a terme una sessió que compta amb la presència d'un professor expert, a diferència del tutor facilitador característic de l'ABP. Igualment, a diferència de les tres sessions d'ABP, el taller consisteix en una única sessió de dues hores en què participa un grup mitjà, entre 20 i 30 alumnes. Tot i que el nombre d'alumnes és més nombrós que el del grup petit d'ABP, la participació oberta dels estudiants al llarg de tota la sessió segueix sent bàsica i enriqueix el treball de tot el grup.

Aquesta sessió es divideix en tres parts.

En primer lloc, el professor, o un alumne escollit a l'atzar, llegeix l'enunciat del cas i els objectius d'aprenentatge associats. Atès que els alumnes han tingut l'oportunitat de conèixer el text del cas i els objectius d'aprenentatge una setmana abans, poden posar en comú els dubtes que els han sorgit a l'hora de vincular el problema amb els objectius. En aquest punt, el professor pot elaborar un esquema o mapa conceptual a la pissarra connectant i integrant els diferents objectius d'aprenentatge.

Durant la segona part de la sessió, el professor i el grup desenvolupen els objectius d'aprenentatge, tot presentant els continguts que els alumnes haurien d'haver abordat durant la seva recerca bibliogràfica. El professor expert, en el transcurs d'aquesta part, pot ajudar-se d'un material gràfic que també es facilita als alumnes. El conjunt de diapositives, totes elles relacionades amb el cas i amb els objectius d'aprenentatge associats, permet tant l'explicació del professor com la participació activa dels estudiants. Aquest darrer aspecte, com es comentava inicialment, és bàsic per al bon funcionament del grup, especialment pel que fa al plantejament dels dubtes i de les respostes a les preguntes més complexes. El professor pot incentivar la participació del grup, sol·licitant la resposta a determinades preguntes guia per part dels alumnes a fi de comprovar que la comprensió dels continguts s'ha dut a terme de manera correcta.

Finalment, la tercera part de la sessió són els darrers minuts, durant els quals s'esmenten els aspectes més importants i les conclusions del cas. Es torna a fer una segona lectura del problema que demostra les necessitats d'aprenentatge dels objectius escollits per a la comprensió del cas.

En definitiva, i d'acord amb el que s'ha esmentat, el taller de casos permet adquirir competències molt importants en l'entorn professional actual, entre les quals s'inclouen l'habilitat tant per adquirir informació veraç com per elaborar a partir d'aquesta possibles hipòtesis, així com la capacitat d'arribar a conclusions argumentades. De la mateixa manera, el taller de casos fomenta tant el treball autònom de l'estudiant com la seva participació durant la sessió del grup mitjà. Els estudiants participen activament en el desenvolupament d'aquesta sessió, especialment en el plantejament dels seus dubtes quan s'han preparat de manera acurada els objectius d'aprenentatge. El grau de profunditat dels coneixements que han d'adquirir pertany a l'estudiant, que, guiat per les preguntes i els objectius, demostra unes habilitats i una maduresa suficients a l'hora d'acomplir aquesta tasca.

Com a exemple concret, es presenten les preguntes guia que s'han elaborat per al problema 9, que s'utilitzen per desenvolupar l'activitat tal com s'ha explicat anteriorment.

Preguntes guia associades al problema 9

1. Quines funcions bàsiques té el nucli?
2. Quina estructura té l'embolcall nuclear?
3. Què és la làmina nuclear? Quina estructura i funció té?
4. Què són els complexos de porus nuclear? Quina estructura té? I la seva funció?
5. A través de quins mecanismes travessen l'embolcall nuclear les molècules de PM < 50 daltons? I les molècules proteïques i els mRNA?
6. Què són els senyals de localització nuclear?
7. Què són les importines? I les exportines?
8. Què és la cromatina? Quina és la seva unitat bàsica estructural?
9. Quina diferència hi ha entre nucleosoma i centrosoma? I entre nucleosoma i cromatosoma? Quin paper tenen en aquestes estructures les proteïnes histones?
10. Què és el DNA separador? On es localitza?
11. Quins són els diferents nivells de condensació que pot adoptar la cromatina?
12. Quines diferències hi ha entre l'heterocromatina i l'eucromatina? I entre heterocromatina facultativa i constitutiva?
13. Per què és important la condensació de la cromatina en cromosomes? Quan es produeix?
14. Què és el centròmer?
15. Què són els telòmers? On es localitzen? Quina importància tenen?
16. Què és el nuclèol? Quina funció fa?
17. On es localitzen els gens que codifiquen per l'RNA ribosòmic? I els gens que codifiquen per les proteïnes ribosòmiques?
18. Quin és el procés d'assemblatge de les subunitats preribosòmiques? En quin punt de la cèl·lula es verifica?
19. Quin és el procés d'assemblatge de les subunitats ribosòmiques? En quin punt de la cèl·lula es verifica?
20. En què es diferencien la subunitat 60S (gran) i la subunitat 40S (petita) dels ribosomes?
21. Què és el cicle cel·lular? Quina importància fisiològica té?
22. Què és la interfase? Quina és l'activitat cel·lular durant les fases G1, S i G2? Tenen les diferents fases del cicle una durada variable o fixa?

23. Què és la fase G0? Quines cèl·lules la presenten?
24. En quina fase del cicle cel·lular es donen la mitosi i la citocinesi?
Quina durada tenen?
25. Quina posició pren el nuclèol durant la fase M?
26. Quins altres canvis estructurals es produeixen en el nucli en divisió? Quines serien les diferències estructurals respecte al nucli en interfase?
27. En humans, quins són els mecanismes que regulen el cicle cel·lular?
28. En què consisteix el sistema de control del cicle cel·lular?
29. Què són els punts de control del cicle cel·lular? On es localitzen?
30. Què és el punt de restricció? En quina fase del cicle cel·lular es localitza? A través de quins mecanismes es regula?
31. Què són les ciclines? I les quinases dependents de ciclines? Quina funció fan? Quins altres mecanismes regulen l'activitat de les quinases dependents de ciclines?
32. Amb relació a la quinasa dependent de ciclina de fase M, analitzeu els diferents substrats de fosforilació d'aquesta quinasa per descriure els processos cel·lulars següents:
33. Quina és la seqüència de canvis que tenen lloc a l'embolcall nuclear durant la seva disgregació?
34. Com es produeix la despolimerització de la làmina nuclear? Quines molècules són les responsables d'activar aquesta despolimerització?
35. Com es dona la reorganització de l'embolcall nuclear després de la divisió?
36. Què és el complex condensina? Quina funció té? Com s'activa?
37. Què és l'apoptosi? Quina importància fisiològica té?
38. Quines diferències hi ha entre apoptosi i necrosi?
39. Quin paper tenen les caspases a l'apoptosi? Com es produeix la cascada d'activació de les caspases?
40. Quins senyals externs o interns poden induir l'apoptosi?
41. Quina relació tenen la proteïna p53 i l'apoptosi? Quina relació hi ha entre p53 i lesió del DNA? I amb la progressió del cicle cel·lular?

APLICACIÓ D'AQUESTS PROBLEMES A UNA METODOLOGIA DOCENT PRÀCTICA

Els objectius d'aprenentatge del mòdul, a part de treballar-se mitjançant metodologies docents d'ABP i d'anàlisi de casos, que tenen un marcat component teòric, també es poden treballar mitjançant tallers pràctics realitzats en laboratoris docents. Les pràctiques de laboratori, a més de treballar els objectius d'aprenentatge, permeten desenvolupar altres competències que són més difícils d'assolir a l'aula, com ara la pulcritud en el treball, l'habilitat de desenvolupar un protocol experimental, l'obtenció i interpretació de resultats, l'anàlisi crítica dels procediments i, de manera global, la familiarització amb les tècniques bàsiques d'un laboratori biomèdic.

Això requereix *a priori* una selecció molt curosa dels objectius d'aprenentatge que es poden assolir mitjançant aquesta metodologia docent. Aquests objectius han d'estar relacionats amb tècniques de laboratori assequibles per ser desenvolupades pels estudiants i que siguin interessants des d'un punt de vista biomèdic.

Per tractar els objectius d'aprenentatge es poden preparar diferents pràctiques de laboratori. En el cas d'aquest mòdul, es van preparar dues pràctiques diferents, cada una de les quals engloba dues tècniques de laboratori diferents. Les pràctiques parteixen d'un problema, al qual estan associats els diferents objectius d'aprenentatge. Per treballar cada pràctica s'ha elaborat un guió de pràctiques. Aquest inclou una introducció teòrica en la qual s'explica els conceptes teòrics relacionats amb el problema que són necessaris per comprendre la pràctica i interpretar els resultats, i s'introdueix l'alumne en les tècniques que es treballaran al laboratori. També es detalla la llista de material i reactius necessaris per desenvolupar les diferents tècniques, així com un protocol que permet a l'alumne dur a terme la pràctica de manera autònoma. Al final del guió es proporciona una sèrie de preguntes que permeten completar l'anàlisi crítica dels resultats.

Segons la nostra experiència, per al bon funcionament de la pràctica, l'alumnat s'ha de distribuir en grups d'un màxim de 20 alumnes. Per fomentar el treball en equip, el treball al laboratori es duu a terme en grups de dos alumnes, i al final de la sessió es posen en comú els re-

sultats obtinguts per tothom, per interpretar-los conjuntament i discutir de manera crítica discordances entre els resultats. Finalment es fa una discussió final del problema tenint en compte les preguntes proposades en el guió.

Amb la finalitat de millorar el seguiment de la pràctica, es demana als alumnes que prèviament a cada sessió llegeixin el guió i aprenguin els conceptes bàsics. A l'inici de la pràctica es destinen uns 15 minuts a un examen previ de 2 o 3 preguntes curtes per avaluar si l'alumne ha adquirit els coneixements previs necessaris.

Com a exemple de problema per treballar mitjançant tallers pràctics s'ha seleccionat el problema 6. Per treballar els diferents objectius teòrics associats al problema, es van preparar dues sessions pràctiques diferents. La distribució dels objectius teòrics en cada una de les pràctiques es detalla a continuació. Cal destacar que a més dels objectius teòrics, aquest problema permet assolir una sèrie d'objectius de caràcter eminentment experimental com són: introduir diferents tècniques bàsiques d'un laboratori de recerca biomèdica, familiaritzar-se amb la utilització del microscopi òptic, aprendre tècniques de cultiu cel·lular, adquirir una visió general de les tècniques principals de biologia molecular, aprendre la tècnica de PCR i la interpretació dels seus resultats.

Distribució dels objectius:

Pràctica 1. Realització d'un cariotip humà

1. Saber diferenciar meiosi de mitosi.
2. Definir cariotip, i esquematitzar un cariotip humà normal.
3. Identificar els tipus de cromosomes humans, i classificar els cromosomes segons les diferents metodologies.
4. Enumerar i diferenciar les principals anomalies cromosòmiques. Delecions, duplicacions, inversions.

Pràctica 2. PCR per determinar el factor Rh de la sang

1. Ser capaç d'esquematitzar l'estructura bàsica del gen.
2. Relacionar la genètica i l'estructura de proteïnes: saber explicar la relació que hi ha entre seqüència, estructura i funció proteica i, per tant, saber relacionar com una mutació pot afectar el funcionament d'aquestes.

3. Ser capaç d'explicar com es duu a terme la replicació del DNA eucariota i com es coordina amb el cycle cel·lular.

A més, a continuació es proposen una sèrie de preguntes de l'examen previ a cada una de les pràctiques i seguidament es detalla el guió complet per a cadascuna de les pràctiques.

Exemple de preguntes curtes en l'examen previ de les pràctiques:

Preguntes prèvies a la pràctica 1:

1. Digueu dos criteris que serveixen per ordenar els cromosomes dins d'un cariotip.
2. Anomeneu tres aplicacions de l'anàlisi del cariotip.

Preguntes prèvies a la pràctica 2:

1. Per què en una PCR els processos de desnaturalització, hibridació dels encebadors i extensió es repeteixen entre 30 i 40 vegades?
2. Expliqueu per què cada un dels processos de la PCR requereix una temperatura diferent.
3. Què són els encebadors (*primers*)? Quina funció tenen en una PCR?

Model de guió de les dues pràctiques proposades

Pràctica 1: Realització d'un cariotip humà

Introducció

Un cariotip és el conjunt de cromosomes d'una cèl·lula, individu o espècie. Així, el cariotip és característic de cada espècie i depèn de la dotació cromosòmica de l'espècie / cèl·lules. Segons l'espècie que s'estudiï pot ser que hi hagi o no cromosomes sexuals. En espècies diploides, com és l'home, els cromosomes estan duplicats. Un altre cas són les espècies (o cèl·lules) poliploides, les quals tenen moltes còpies de cada cromosoma, o les espècies (o cèl·lules, com els gàmetes humans) haploides, que només tenen una sola còpia dels cromosomes.

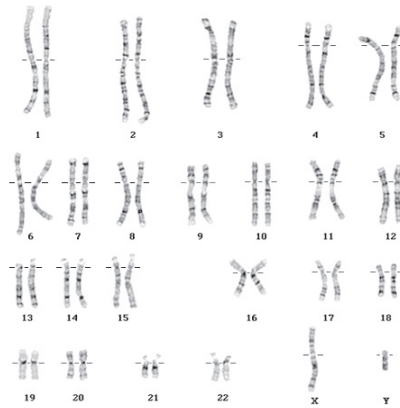


Figura 1. Cariotip humà masculí

La part de la genètica que es dedica a l'estudi i a l'anàlisi dels cromosomes és la citogenètica, la qual té múltiples aplicacions dins de la medicina i la biologia. En el cas de la medicina, una de les aplicacions més importants ha estat l'estudi i detecció de les malalties relacionades amb les anomalies cromosòmiques. D'altra banda, l'anàlisi del cariotip també s'ha utilitzat, encara que avui en dia ja no és gaire habitual, per establir relacions taxonòmiques entre espècies. Unes altres aplicacions dins de la biologia humana són els estudis de la funció cel·lular de certs gens. També cal destacar que l'anàlisi del cariotip és fonamental per determinar el tipus de reproducció d'una espècie, característica biològica que no sempre és fàcil d'establir.

El cariotip humà normal està compost per 23 parells de cromosomes, 22 dels quals són autosomes i l'últim parell són els cromosomes sexuals o heterocromosomes, que en el cas de la dona són iguals i s'anomenen XX i en el de l'home, XY (vegeu la figura 1 d'un cariotip humà d'home). El primer criteri per ordenar els cromosomes dins d'un cariotip és la grandària. Segons aquest criteri, es poden classificar segons siguin grossos, mitjans o petits. Un altre criteri per a la classificació és la posició relativa del centròmer. El centròmer és una constricció del cromosoma durant la metafase que té com a funció l'ancoratge de les fibres del fus durant la mitosi i la meiosi. Així, els cromos-

somes són *metacèntriques* quan el centròmer és al centre del cromosoma, els cromosomes són *acrocèntriques* quan el centròmer se situa en un extrem, i finalment quan el centròmer se situa en una posició intermèdia se'ls anomena *submetacèntriques*. És en aquesta darrera categoria on es troben la majoria dels cromosomes humans. Una altra classificació basada en la situació del centròmer es basa en l'*índex centromèric*, que es defineix com el percentatge de la llargària que ocupa el braç curt respecte al total del cromosoma.

Probablement l'aplicació més important de la citogenètica és detectar anomalies en el nombre de cromosomes totals d'un individu o *aneuploidia*. El cas contrari, tenir una disposició cromosòmica normal (p. ex., 46, XX, per a una dona), se l'anomena *euploidia*.

La tècnica clàssica⁶ per visualitzar els cariotips es basa a obtenir cèl·lules en mitosi, concretament en la fase de metafase o profase tardana, per després poder visualitzar els cromosomes mitjançant la tinció amb el colorant Giemsa. És durant aquesta fase de la mitosi que els cromosomes estan duplicats i per tant es poden localitzar més fàcilment.

La metodologia comença per obtenir un bon cultiu cel·lular, que generalment es fa a partir de cèl·lules sanguínies, encara que també es pot fer d'altres tipus cel·lulars. En aquest pas s'han d'obtenir cèl·lules que es divideixin ràpidament, com és el cas dels leucòcits quan es treballa amb sang, i així poder interrompre la mitosi just en l'estadi de la metafase. La incorporació de medis artificials de cultiu cel·lular cap als anys seixanta va ser un dels avenços clau per obtenir bones preparacions cromosòmiques. Posteriorment, el cultiu cel·lular s'interromp just a la metafase mitjançant l'addició de colquicina. L'obtenció de moltes cèl·lules en metafase incrementa la probabilitat d'obtenir bones preparacions. A continuació, les cèl·lules es posen en un medi hipotònic, on per l'efecte de l'osmosi es fan més grans, però no s'arriben a rebentar. Aquest efecte hipotònic també provoca que els nuclis es dispersin i que per tant siguin més fàcilment visibles. Després, es procedeix a la fixació i a la separació del nucli del citoplasma. Aquest darrer pas es fa mitjançant un aixafament, que consisteix a deixar anar el cultiu cel·lular des d'una altura d'uns 50 cm a 1 m. Immediatament després, els nuclis es tenyeixen amb el colorant Giemsa. Seguidament,

6. Font: *Pràctiques de Genètica Humana*. FC, UdG.

es fa l'observació al microscopi, i finalment l'anotació dels resultats. Si és possible també es fan fotografies per així poder fer la construcció del cariotip de l'individu.

Materials i reactius

1. Medi per al cultiu cel·lular: Karyotyping Medium Gibco BRL 100 ml
2. Reactius:
 - Metanol al 70% o etanol de 96° (neteja dels portaobjectes)
 - Solució hipotònica: 5,4‰ ClK
 - Solució fixadora: $\frac{1}{4}$ àcid acètic + $\frac{3}{4}$ alcohol metílic
 - Solució bloquejadora mitòtica Gibco BRL
 - Colorant:
 - 5 ml Giemsa
 - 5 ml amortidor A KH_2PO_4 0,3 M
 - 5 ml amortidor B Na_2HPO_4 0,3 M
 - 85 ml H_2O destil·lada
3. Pipetes Pasteur de vidre i de plàstic
4. 3 o 4 portaobjectes per estudiant
5. Tubs cònics estèrils amb tap de 15 ml
6. Cubetes per a la solució d'alcohol 96% i per a la solució colorant

Protocol

Dia 1

1. *Extracció de sang*
 - Recollir 1 ml de sang directament en un tub amb 5 ml de medi de cultiu. Abans d'utilitzar, el medi de cultiu s'ha de deixar a temperatura ambient durant 15 min.
 - Homogeneïtzar-ho suaument.
2. *Cultiu cel·lular*
 - Incubar verticalment el tub amb la sang a 37°C durant 68-72 hores a l'estufa. Agitar-ho suaument durant la incubació cada 2 hores.

3. Interrupció de la divisió cel·lular en la metafase

- Afegir 0,3 ml de la solució bloquejadora mitòtica prèviament temperada a 37°C al tub amb la sang. Incubar-ho d'1 a 2 h al bany d'aigua a 37°C.

Dia 2

4. Obtenció dels cromosomes

- En finalitzar la incubació, resuspendre el cultiu amb una pipeta Pasteur.
- Centrifugar-ho durant 10 min a 800 rpm (no passar de 1.000 rpm). Extreure'n el sobrenedant amb una pipeta Pasteur. S'hi pot deixar una petita quantitat de sobrenedant (aproximadament 0,5 ml).
- Afegir 6 ml de solució hipotònica, prèviament temperada a 37°C, gota a gota sobre les cèl·lules amb una pipeta Pasteur de vidre remenant amb suavitat. Barrejar amb la pipeta la solució fent-hi bombolles d'aire.
- Incubar la solució al bany d'aigua a 37°C un màxim de 18 min.
- Centrifugar-ho 8 min a 1.000 rpm.
- Afegir-hi gota a gota 6 ml de la solució fixadora freda (les pipetes Pasteur de vidre han d'estar a -20°C). S'hi ha d'anar insuflant aire suaument amb la pipeta cada 2 ml de solució fixadora.
- Deixar els tubs com a mínim 30 min al congelador o durant tota la nit a 4°C segons les necessitats del laboratori.
- Centrifugar-ho 8 min a 1.000 rpm.
- Eliminar el sobrenedant deixant-ne uns 0,25 ml sobre les cèl·lules. Agitar de nou el tub, afegir-hi 6 ml de solució fixadora freda (de 2 ml en 2 ml). S'hi ha d'anar insuflant aire suaument amb la pipeta entre cada 2 ml de solució fixadora.
- Deixar els tubs 30 min al congelador.
- Centrifugar-ho 8 min a 1.000 rpm.
- Eliminar el sobrenedant, deixant uns 0,5 ml de líquid sobre les cèl·lules (en aquest punt també es pot parar el procés tota la nit a 4°C).

5. Preparació de l'extensió

- Treure amb unes pinces els portaobjectes de la cubeta, els quals estan amb etanol 96% perquè estiguin nets, i deixar-los que s'eixuguin inclinats, tocant només per un costat el paper secant.
- Resuspendre el pellet cel·lular amb una pipeta Pasteur. (Compte de no deixar entrar massa porció de líquid dintre de la pipeta. Es perdrien cèl·lules.)
- Deixar caure verticalment, amb l'ajuda de la pipeta Pasteur, des d'una altura d'uns 50-100 cm 2 gotes de la suspensió cel·lular a cada portaobjectes.
- Deixar-ho assecar a l'aire.
- Tenyir el portaobjectes amb la solució Giemsa durant 10 min. Utilitzar les cubetes de tinció.
- Treure i rentar l'excés de tinció amb aigua destil·lada o aigua de l'aixeta.
- Eixugar la part de sota del portaobjectes amb un paper assecant. Assecar la preparació a l'aire.

Dia 3

6. Observació de la preparació en un microscopi òptic

- Cercar les metafases cel·lulars a 100x i 400x augments.
- Observar a 1.000x augments, amb oli d'immersió, les metafases trobades.
- Obtenir fotografies a 100x, 400x i 1.000x augments. Dibuixar les metafases.
- En cas de necessitat, guardar a 4°C els portaobjectes preparats.

Interpretació dels resultats

1. Feu un esquema del cariograma observat en la preparació. Quants cromosomes diferents heu pogut observar?
2. Reconstruiu el cariotip i determineu la dotació cromosòmica dels dos casos que se us presenten. Basant-vos en aquests resultats, descriuiu el sexe i, si s'escau, l'anomalia cromosòmica.

Pràctica 2: PCR per a la determinació del factor Rh de la sang

Introducció

Els grups sanguinis són sistemes de classificació de la sang que depenen de la presència de determinats antígens (proteïnes o carbohidrats) a la membrana de les cèl·lules sanguínies, principalment dels eritròcits o glòbuls vermells. Hi ha diferents classificacions de grups sanguinis, les dues clínicament més importants són el sistema ABO i el factor Rh.

El factor Rh (Rhesus) va ser descrit el 1940 en una espècie de macaco de l'Índia, el *Macacca rhesus* (avui *Macacca mulatta*). El factor Rh és determinat per unes proteïnes integrals de la membrana de les cèl·lules sanguínies. Aquestes proteïnes estan codificades per gens molt homòlegs, que donen lloc a diferents tipus d'antígens Rh: C, D, i E. De tots ells, l'antigen RhD és el més immunogen i és el que s'utilitza per determinar el factor Rh. El 85% de la població presenta l'antigen RhD als eritròcits i es classifica com a grup Rh positiu. Per contra, en el 15% de la població la proteïna RhD és absent a la membrana eritrocitària i es classifica com a grup Rh negatiu.

La determinació del factor Rh és d'una gran importància en les transfusions sanguínies, ja que les persones Rh positives només poden donar sang a les persones Rh positives. Si una persona Rh negativa és exposada a cèl·lules sanguínies Rh positives, ràpidament produeix anticossos que reaccionen contra l'antigen RhD, ja que és reconegut com a estrany per l'organisme, i es genera una reacció de rebuig aguda que pot produir l'hemòlisi de les cèl·lules de la sang. Per contra, les persones amb Rh negatiu poden donar sang a tothom, tant positiu com negatiu, ja que no presenten l'antigen RhD a la membrana. La determinació del genotip RhD és també d'una gran utilitat en el diagnòstic prenatal d'incompatibilitat de Rh entre el fetus i la mare. Durant l'embaràs, un fetus Rh positiu pot provocar en una mare Rh negativa la formació d'anticossos anti-RhD que poden causar una malaltia hemolítica del nounat i fins i tot la mort fetal intrauterina.

La proteïna RhD està codificada pel gen RHD, localitzat al cromosoma 1 dins de l'anomenat *locus RH*. En aquest locus, també hi ha adjacent el gen RHCE, altament homòleg al gen RHD, que codifica per altres antígens del sistema Rh (C, E) (figura 2).

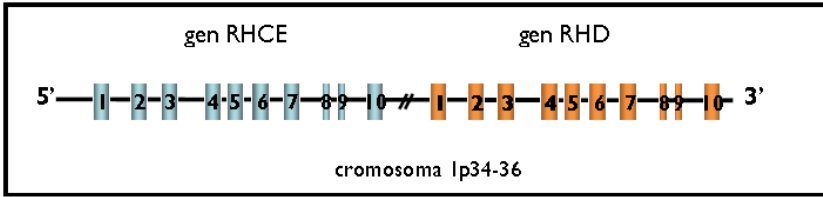


Figura 2. Esquema del locus RH

El coneixement de la seqüència nucleotídica dels gens RHD i RHCE ha permès el desenvolupament de diferents mètodes per determinar el genotip RHD. En aquesta pràctica, la determinació del genotip RHD es farà mitjançant el mètode descrit per Arce i col·laboradors (Blood, 1993; 82: 651-655), que es basa en l'amplificació simultània de dos fragments dels gens RHD i RHCE mitjançant la tècnica de reacció en cadena per la polimerasa o PCR (*polymerase chain reaction*), tal com s'explica a continuació. El gen RHD és més curt que el gen RHCE a causa de l'existència d'una deleció d'uns 600 parells de bases. Aquesta diferència permet identificar clarament els individus portadors del gen RHD, fent l'anàlisi electroforètica del producte amplificat (figura 3):

- El fragment específic del gen RHD (de 600 parells de bases nitrogenades (pb)) només estarà present en les persones RHD positives.
- El fragment del gen RHCE (de 1.200 parells de bases nitrogenades) estarà present tant en les persones RHD positives com en les persones RhD negatives.

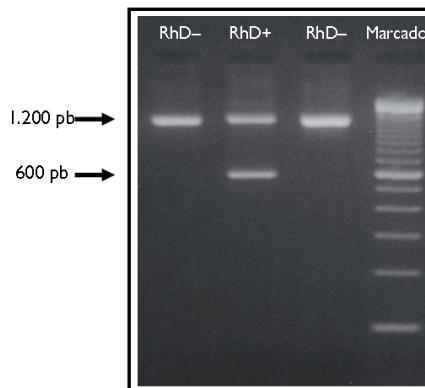


Figura 3. Anàlisi electroforètica dels productes amplificats per PCR

La reacció en cadena per la polimerasa:

La PCR és una tècnica que permet obtenir de manera ràpida milions de còpies d'una determinada regió del DNA. Mitjançant cicles repetits de desnaturalització i replicació, la PCR pot amplificar una regió concreta del DNA per a la seva anàlisi o clonatge posteriors a partir d'una mostra biològica molt petita: una gota de sang, un fol·licle capil·lar, gotes de saliva, una cèl·lula, etc. Aquesta tècnica s'utilitza molt en medicina en el diagnòstic de malalties genètiques i infeccioses, el diagnòstic prenatal de malalties hereditàries, les tècniques forenses (identificació d'individus a partir d'una mostra biològica), les proves de paternitat, i també en recerca científica.

En una PCR hi intervenen diferents components:

- La mostra de DNA que conté la regió que interessa amplificar. Aquest DNA s'anomena *DNA motllo*, ja que proporciona la seqüència de bases nitrogenades que es van amplificant durant el procés de la PCR.
- 2 fragments curts de DNA de cadena senzilla (normalment de 20 nucleòtids) anomenats *encebadors* (en anglès, *primers*). Cada un d'aquests fragments de DNA és complementari d'una de les cadenes del DNA motllo als extrems de la regió que volem amplificar. Els encebadors s'hibriden amb les seves regions complementàries del DNA motllo i funcionen com a punts d'iniciació per a la síntesi de les noves cadenes de DNA.
- Deoxinucleòtids trifosfat (A, C, G, T), són els components bàsics per a la síntesi de noves cadenes de DNA.
- Un enzim DNA polimerasa estable a la calor (la més comuna és la *Thermus aquaticus* polimerasa (Taq)). L'enzim DNA polimerasa s'uneix als extrems de l'encebador hibridat al DNA motllo i enllaça els deoxinucleòtids per formar noves cadenes de DNA complementàries al DNA motllo.
- Ions magnesi (Mg^{2+}): Necessaris perquè la DNA polimerasa pugui dur a terme la seva activitat enzimàtica. S'afegeixen a la reacció en forma de $MgCl_2$.
- Un tampó per mantenir un pH òptim per a l'activitat de l'enzim DNA polimerasa.

La PCR es produeix mitjançant una sèrie de reaccions cícliques que es van repetint, normalment entre 30 i 40 vegades. Cada cicle de la PCR consta de 3 processos seqüencials que es donen a diferents temperatures:

1. Desnaturalització: Consisteix en la separació de les dues cadenes del DNA motllo mitjançant l'escalfament a temperatures elevades (94°C-95°C).
2. Hibridació dels encebadors (*annealing*): S'afegeixen els encebadors. Cada encebador s'uneix a la seva seqüència complementària a les cadenes del DNA motllo. Per a això és necessari que la temperatura disminueixi (normalment la hibridació dels encebadors es produeix entre els 45°C i els 65°C), de manera que es poden establir enllaços tipus pont d'hidrogen entre els encebadors i la cadena de DNA motllo. Tot i que el DNA del genoma humà conté bilions de parells de bases, els encebadors només necessiten segons per localitzar la seva seqüència complementària i hibridar-se.
3. Extensió de la cadena de DNA: En aquesta etapa la DNA polimerasa sintetitza la cadena de DNA complementària del DNA motllo partint de l'encebador. La temperatura augmenta fins als 72°C (en el cas de la Taq polimerasa), ja que és la temperatura en la qual la DNA polimerasa presenta l'activitat màxima.

Un cop s'han completat tots els cicles, la PCR acaba amb una etapa de síntesi addicional (72°C) durant 10 minuts que permet que la DNA polimerasa completi totalment la síntesi del nou DNA.

Cada vegada que es repeteix un d'aquests cicles es dobla el nombre de molècules de DNA. Després de 25-40 cicles, s'han produït milions de còpies de DNA.

Els diferents cicles de la PCR es duen a terme de manera automatitzada en un aparell anomenat *termociclador*, que permet escalfar i refredar ràpidament els diferents tubs de reacció. El termociclador consta d'un bloc de resistència elèctrica que distribueix una temperatura homogènia, amb un rang de 4°C a 96°C, a través d'una placa on es disposen els tubs de reacció. Tant la temperatura com el temps de reacció, i també el nombre de cicles, es poden programar.

Per confirmar que la PCR ha amplificat el fragment de DNA previst, s'utilitzen tècniques d'electroforesi, que separen els fragments de DNA

segons la seva càrrega, la qual és proporcional a la seva longitud. Es pot fer l'electroforesi en un gel d'agarosa o en un gel d'acrilamida. Per determinar la longitud del producte de la PCR s'utilitza un marcador de pesos moleculars de DNA (*DNA ladder*), que conté fragments de DNA de mides conegudes i es fa córrer juntament amb la mostra.

Per ampliar la informació sobre la PCR, podeu accedir a les pàgines web següents:

<http://www.dnalc.org/ddnalc/resources/pcr.html>

http://www.bio-rad.com/LifeScience/jobs/2004/04-0522/04-0522_PV92_PCR.html

http://insilico.ehu.es/edu/PCR_animation/

<http://www.medmol.es/tecnica.cfm?id=13>

Material i reactius

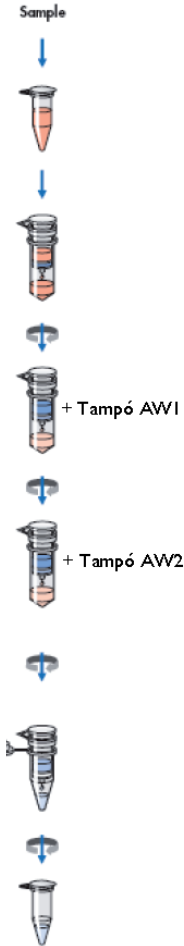
1. Columnes de QIAGEN QIAamp DNA Blood Mini Kit
2. Etanol absolut
3. Bany d'aigua
4. Minicentrífuga
5. Micropipetes i puntes
6. Encebadors:
Rh-D1: 5' - TGT TCG CAG CCT ATT TTG GG - 3'
Rh-D2: 5' - TGA CAC TTG GCC AGA ACA TC - 3'
7. Taq DNA polimerasa (Biotools)
8. Tampó polimerasa i solució MgCl₂ (Biotools)
9. Deoxinucleòtids trifosfat (NTPs)
10. Aigua bidestil·lada autoclavada
11. Vòrtex
12. Termociclador
13. Gel agarosa: agarosa i tampó TBE
14. Cubeta d'electroforesi i font d'alimentació
15. Marcador de pesos moleculars (Fermentas GeneRuler 100 pb Plus DNA ladder)
16. Tinció DNA: SYBR® Safe
17. Tampó de càrrega gels DNA (6X)

Protocol

*** L'extracció de DNA genòmic a partir de la sang de donants (punt 1 del protocol) ha estat feta prèviament pels professors. A la sessió de pràctiques de laboratori es començarà directament per la PCR (punt 2).

1) Extracció de DNA genòmic a partir de sang total:

El DNA genòmic s'extreu a partir d'una mostra de 200 µl de sang total (recollida en un tub amb EDTA com a anticoagulant). L'extracció de DNA es fa amb les columnes QIAamp DNA Blood Mini Kit de QIAGEN, seguint el protocol especificat al paquet:



- Posar 20 µl d'enzim proteasa en un tub d'Eppendorf retolat per identificar-lo.
- Afegir 200 µl de sang total a l'Eppendorf amb la proteasa.
- Afegir-hi 200 µl del tampó de lisi AL. Agitar-ho amb el vòrtex durant 15 s.
- Incubar-ho a 56°C durant 10 min (bany).
- Centrifugar 5 s per recuperar la mostra que hagi condensat a la tapa.
- Afegir-hi 200 µl d'etanol absolut. Agitar-ho amb el vòrtex.
- Retolar una columneta QIAamp Spin Column amb la identificació corresponent i posar-hi la barreja de la mostra amb etanol preparada (aprox. 600 µl).
- Tapar la columneta i centrifugar-ho a 8.000 rpm durant 1 min.
- Descartar el tub col·lector i col·locar la columneta en un tub nou.
- Aplicar-hi 500 µl de tampó de rentat AW1. Tapar la columneta i centrifugar-ho a 8.000 rpm durant 1 min.
- Descartar el tub col·lector i col·locar la columneta en un tub nou.
- Aplicar-hi 500 µl de tampó de rentat AW2. Tapar la columneta i centrifugar-ho a 13.000 rpm durant 3 min.
- Eliminar el líquid del tub col·lector i col·locar-hi de nou la columneta.
- Centrifugar-ho a 13.000 rpm durant 1 min.

- o. Descartar el tub col·lector i col·locar la columneta en un tub d'Eppendorf, prèviament retolat amb la identificació.
- p. Aplicar 100 µl de tampó AE directament sobre la membrana de la columna. Esperar 5 min i centrifugar-ho a 8.000 rpm durant 1 min.
- q. Obtenim el DNA a l'Eppendorf. Conservar-ho en gel.

2) *PCR:*

- En un tub d'Eppendorf de 0,2 ml convenientment identificat preparar la barreja de reactius per a la PCR (volum final: 25 µl). Mantenir els reactius tota l'estona en gel.

<i>Reactiu</i>	<i>Volum per mostra:</i>	<i>Concentració final:</i>
Tampó Taq DNA polimerasa 10x	2,5 µl	1x
H ₂ O bidestil·lada	12,75 µl	
MgCl ₂ (50 mM)	1 µl	2 mM
dNTPs (10 mM)	0,5 µl	0,2 mM
Primer D1 (0,1 µg/ml)	2,5 µl	0,8 mM
Primer D2 (0,1 µg/ml)	2,5 µl	0,8 mM
DNA Taq polimerasa (1U/ml)*	0,75 µl	

*Abans d'afegir la Taq DNA polimerasa (que està conservada a -20°C), fer una centrifugació curta de la barreja amb la minicentrífuga.

- A continuació, afegir a la barreja 2,5 µl de DNA de la mostra que correspongui (Rh negatiu o Rh positiu).
- Programar el termociclador amb les condicions d'amplificació:

- | | |
|--------------|--------------|
| 1) 1 cicle | 94°C - 3 min |
| 2) 30 cicles | 94°C - 20 s |
| | 64°C - 20 s |
| | 72°C - 1 min |
| 3) 1 cicle | 72°C - 5 min |
| 4) Constant | 4°C |

3) *Anàlisi dels productes d'amplificació mitjançant l'electroforesi:*

Preparació d'un gel d'agarosa a l'1,5%:

Mesurar 50 ml de tampó TBE amb una proveta i transferir-lo a un

erlenmeyer. Afegir-hi 0,75 g d'agarosa. Barrejar-ho i escalfar-ho al microones fins que arribi a l'ebullició. Deixar-ho refredar. A continuació afegir-hi 5 ml del colorant SYBR® Safe. Precintat el suport per electroforesi. Col·locar la pinta en un extrem. Afegir-hi l'agarosa dissolta i deixar-ho solidificar.

Un cop el gel ha solidificat, treure la pinta i col·locar-lo amb el suport dins de la cubeta d'electroforesi. Afegir-hi tampó TBE de manera que el gel quedi cobert.

· *Carregar les mostres al gel:*

Primer cal afegir el tampó de càrrega 6x a la mostra: als 25 ml de producte de la PCR, afegir-hi 5 ml de tampó de càrrega 6x. Barrejar-ho pujant i baixant amb la pipeta.

A continuació es transfereixen les mostres al gel agarosa: al primer pou s'hi carrega 4 ml de marcador de pesos moleculars i a continuació les diferents mostres (vol. total: 30 ml). Carregar 5 mostres a cada gel, deixant un pou buit entre cada mostra.

· *Electroforesi:*

Connectar el gel a la font de corrent i deixar-ho córrer durant 30 minuts a 100 volts.

· *Observació dels gels:*

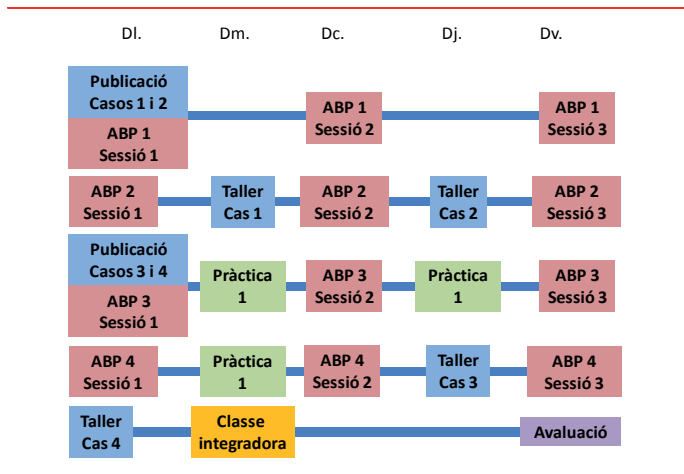
En un transil·luminador de llum UV observar la intensitat de les bandes i obtenir una fotografia del gel.

Interpretació dels resultats

1. Preneu una imatge o feu un esquema del vostre gel.
2. Què representen cada una de les bandes que hi apareixen?
3. Quin pes molecular tenen les diferents bandes del gel?
4. Segons els resultats del gel, quin seria el factor Rh de la vostra mostra? Com ho heu deduït?

PROPOSTA DE TEMPORALITZACIÓ

A continuació es presenta una proposta de combinació dels diferents tipus d'activitats proposades en el transcurs del mòdul. S'ha pres com a unitat temporal cinc setmanes, ja que és un període que permet dur a terme un nombre significatiu d'activitats diferents i que pot finalitzar amb una activitat d'avaluació.



Com es pot observar, es destinen tres dies de cada setmana, dilluns, dimecres i divendres, a les sessions d'ABP (activitats assenyalades en rosa). D'aquesta manera cada setmana es pot dedicar a un problema diferent usant aquesta metodologia docent. Es recomana que en aquesta activitat el nombre d'estudiants no superi els deu. La temporalització proposada permet també tractar quatre problemes usant la metodologia de taller de casos (activitats assenyalades en blau). En aquest cas es recomana donar a l'estudiant més temps, una setmana, per poder treballar tots els objectius d'aprenentatge assenyalats en el guió del cas. El taller es pot fer en grups de vint o trenta alumnes simultàniament. Es reserven també tres dies (marcats en verd) per tal que es pugui fer un únic taller pràctic. Es reserven en aquest cas tres dies per a aquest únic taller pràctic perquè normalment la disponibilitat de laboratoris en una facultat sol ser inferior a la de les aules, i els alumnes s'han de

dividir en diferents grups per fer les pràctiques. Es proposa finalment que un cop finalitzades totes aquestes activitats es destini una sessió de 90 minuts perquè el docent doni una visió general de tots els objectius d'aprenentatge que s'hagin tractat. Aquesta sessió pot fer-se amb tots els estudiants a la vegada i s'hauria de fer alguns dies abans de l'activitat d'avaluació.

PROPOSTA D'AVALUACIÓ

La proposta docent que es presenta aquí té en compte la formació continuada de l'estudiant no sols en coneixements, sinó també en competències. Per tant, en l'avaluació d'aquesta formació s'hauran de fer activitats mitjançant les quals l'estudiant pugui demostrar l'adquisició tant dels coneixements com de les competències. Malgrat això, hom es veu obligat a obtenir una sèrie de paràmetres quantitius que acabaran conformant la nota que figurarà en l'expedient de l'estudiant. S'ha volgut que aquests paràmetres, a través de la proposta que es planteja a continuació, reflecteixin al màxim el nivell d'assoliment dels diferents objectius d'aprenentatge i competències.

Atès que tots els mètodes d'avaluació/qualificació tenen les seves fortaleces i febleses,⁷ l'ús de diferents mètodes d'avaluació pot, almenys parcialment, compensar les debilitats de qualsevol d'ells. Per això, s'ha plantejat la qualificació de l'estudiant a través de diferents activitats d'avaluació que han d'ajudar a obtenir una idea global del progrés de l'estudiant en l'assoliment dels diferents objectius.

En aquesta proposta, la qualificació de l'estudiant es duu a terme avaluant les diferents activitats programades: les sessions d'aprenentatge basat en problemes, les pràctiques de laboratori i les sessions d'ABP. Es proposa efectuar tant exàmens tipus ABP, en què es valorin, a més de coneixements, altres capacitats com la claredat d'expressió, la capacitat d'extracció de les idees principals d'un text, la capacitat de plantejament d'objectius d'aprenentatge correctament relacionats amb el text proposat, etc., com exàmens exclusivament de coneixements.

A continuació es descriu la proposta d'avaluació de les diferents activitats d'aprenentatge proposades en el model educatiu plantejat.

1. Avaluació del procés d'ABP

Quan s'acabi el mòdul els tutors determinaran l'acompliment de les habilitats d'aprenentatge, la comunicació, la responsabilitat i les relacions interpersonals dels estudiants mitjançant formularis que contenen

7. Ronald, M.; Epstein, M. D. *N Engl J Med*, 2007. 356 (4), 387-396.

els criteris formulats i aprovats per l'equip docent del mòdul/facultat. Els criteris s'agrupen en quatre grans blocs: habilitats d'aprenentatge (identificació d'àrees d'aprenentatge, preparació del pla d'estudi, anàlisi crítica, etc.), comunicació (expressió, participació en discussions, etc.), responsabilitat (assistència, puntualitat, correcció de les pròpies debilitats, etc.) i relacions interpersonals (actituds i comportaments amb els companys i amb el docent). El professor qualificarà per a cada estudiant cada un d'aquests quatre blocs i comentarà la nota adjudicada amb el grup ABP. És per tant molt important que durant totes les activitats d'ABP el docent prengui notes que posteriorment li permetin fer aquesta avaluació. A meitat del mòdul és molt convenient dur a terme una primera sessió d'avaluació de les competències adquirides en les sessions ABP en la qual cada estudiant conegui quins són els aspectes forts i febles que presenta en cadascun dels blocs avaluats, amb la finalitat que pugui corregir els punts que necessita millorar. Aquesta primera avaluació es pot canviar totalment en positiu al final del mòdul si l'alumne ha millorat significativament les febleses que tenia o bé mantenir-se o fins i tot ser més negativa si no s'ha observat cap intent de millora.

A manera d'exemple, la qualificació dels blocs podria ser la següent: habilitats d'aprenentatge (50%), comunicació (20%), responsabilitat (20%) i relacions interpersonals (10%). Tanmateix, el professorat pot modificar aquests percentatges segons els seus criteris i d'acord amb les directius genèriques de la facultat. Per aprovar el mòdul, caldria obtenir una nota superior a 5 d'aquesta activitat. Es considera que aquest apartat podria tenir un pes del 40% de la nota final.

2. Pràctiques de laboratori

Abans de les sessions pràctiques, el tutor plantejarà als alumnes un breu examen amb preguntes curtes que avaluarà si aquests han preparat la part teòrica de la pràctica que faran a partir dels guions que se'ls haurà proporcionat prèviament, tal com s'indica en l'apartat d'aplicació dels problemes a una metodologia docent pràctica. A manera d'exemple, la qualificació d'aquesta part podria ser del 10% de la nota final del control de coneixements, la qual cosa representaria el 4% de la

nota final. Atès que els objectius tractats a les sessions pràctiques estan relacionats amb la resta dels objectius d'aprenentatge, a l'examen de coneixements final també hi haurà preguntes relacionades amb els continguts de les pràctiques, amb un pes del 6% en la nota final.

3. Examen tipus ABP

Es faran 2 exàmens, un a meitat del mòdul (després d'haver treballat quatre problemes) i un al final del mòdul (un cop finalitzats els vuit problemes). Cada examen consistirà en el plantejament d'un problema i es durà a terme en 2 dies: el primer dia s'entregarà el problema i l'estudiant haurà de proposar i justificar uns objectius d'estudi aplicant els coneixements treballats en el mòdul, i el segon dia s'avaluarà mitjançant preguntes curtes si s'han assolit aquests objectius. A manera d'exemple, la qualificació del primer dia constituïria el 40% de la nota d'aquest tipus de control i la del segon dia, el 50%. El 10% restant de la nota correspondria a l'expressió escrita. Caldria obtenir una nota superior a 5 en aquest apartat per aprovar el mòdul. La nota final seria recuperable mitjançant un segon examen. La qualificació dels exàmens tipus ABP (aquesta part) podria correspondre al 20% de la nota final (10% per a cadascun dels dos controls).

4. Examen de coneixements

Al final del mòdul hi haurà un examen global de coneixements que podrà contenir: preguntes test, preguntes curtes raonades, esquemes, aplicacions dels coneixements adquirits tant teòrics com pràctics o interpretacions de casos clínics. Per aprovar el mòdul cal que la suma de la nota d'aquest examen i la nota de l'examen de pràctiques (cadascuna en la seva proporció; a manera d'exemple, el 10% per a l'examen de pràctiques i el 90% per a l'examen final de coneixements) sigui superior a 5. Aquesta nota es podrà recuperar mitjançant un segon examen. Aquesta part representaria el 36% de la nota final total, el 30% de la qual correspondria a coneixements teòrics i el 6% a coneixements pràctics, tal com s'ha esmentat abans.

PROPOSTA DE SUPORT BIBLIOGRÀFIC PER A L'ESTUDIANT

- Alberts, B. (2008). *Molecular biology of the cell*. (5a ed.). New York: Garland.
- Alberts, B. (2006). *Introducció a la biologia celular*. (2a ed.). Barcelona: Médica Panamericana.
- Cooper, G. M. (2010). *La Célula*. (5a ed.) Madrid: Marbán.
- Devlin, T. M. (2004) *Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas*. (4a ed.) Barcelona: Ed. Reverté.
- Griffiths, A. J. F. *Genética*. (2008) (9a ed.). Madrid: Mc Graw Hill.
- Karp, G. (2011). *Biología celular y molecular: conceptos y experimentos*. (6a ed.). México: McGraw-Hill.
- Lewis, R. (2011). *Human genetics: concepts and applications*. (10a ed.). New York: McGraw-Hill.
- Lodish, H. F. (2005). *Biología celular y molecular*. (5a ed.). Buenos Aires, Madrid: Médica Panamericana.
- Lodish, H. F., Berk, A., Kaiser, C., Krieger, M., Scott, M., Bretscher, A., Ploegh, H., Matsudaira, P. (2008). *Molecular cell biology*. (6a ed.). New York: W.H. Freeman.
- Mange E. J., Mange, A. P. (1999). *Basic Human Genetics*. (2a ed.). Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Mathews, C. K., Van Holde, K. E., Ahern, K. G. (2000). *Biochemistry*. (3a ed.). San Francisco: Benjamin/Cummings.
- Murray, R. K., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., Rodwell, V. W., Weil P. A. (2010) *Harper Bioquímica ilustrada*. (28a ed.). México: Mc Graw Hill.
- Nelson, D. L. (2009). *Lehninger principios de bioquímica*. (5a ed.). Barcelona: Omega.
- Passarge, E. (2010). *Genética: texto y atlas*. (3a ed.). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Solari, A. J. (2011). *Genética Humana. Fundamentos y aplicaciones en Medicina*. (4a ed). Buenos Aires: Medica Panamericana.
- Strachan, T. A., Read, P. (2006) *Genética humana*. (3a ed.). México: Mc Graw Hill.

- Stryer, L., Berg, J. M., Tymoczko, J. L. (2007). *Bioquímica*. (6a ed.). Barcelona: Reverté.
- Tamarin, R. H. (2002). *Principles of genetics*. (7a ed.). Boston: WCB/McGraw-Hill.
- Voet, D. (2002). *Fundamentals of biochemistry*. (Upgrade ed.). New York: Wiley.
- Watson, J. D. (2008). *Molecular biology of the gen*. (6a ed.). New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.