

Universidad Nacional del Litoral  
Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas

**Integración de teoría y práctica:**

propuesta para una mejor comprensión de Química Biológica  
de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas

**Trabajo de Tesis**

presentado por

**Graciela Cristina Giangrossi**

Para obtener el título de Magíster en Didáctica de las  
Ciencias Experimentales

Santa Fe

2007

Tema de Tesis:

**Integración de teoría y práctica:**

**Propuesta para una mejor comprensión de  
Química Biológica de la Facultad de Bioquímica y  
Ciencias Biológicas**

Autor:

**Graciela Cristina Giangrossi**

Director:

**Dr. Héctor S. Odetti**

Lugar de realización:

**Cátedra de Química Biológica**

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas

Universidad Nacional del Litoral

**Al Dr. Héctor S. Odetti:** Director de esta Tesis, por su permanente apoyo, consejo y guía para el desarrollo de la misma.

**A la Dra. Yolanda B. de Lombardo:** Profesora a cargo de la Cátedra por permitirme implementar los cambios propuestos.

***GRACIAS***

INDICE	Páginas
Introducción	1
PRIMERA PARTE	5
I Estrategias didácticas para la enseñanza de las Ciencias.	
Antecedentes bibliográficos	6
II Problemas de aprendizaje y de enseñanza de conceptos y procedimientos	11
II-1 Contenidos procedimentales	13
II -2 Contenidos que deben enseñarse	13
II-3 Diferencia entre actitud, valor, creencia, motivación	15
II-4 Diferencias entre actitud científica y actitud hacia la Ciencia	16
III Programa para la enseñanza de las Ciencias	18
III-1 Fundamentos psicológicos y epistemológicos	19
III-2 Fundamentos empíricos	20
III-3 Principios	21
III-4 Modelo en acción	21
III-5 Sistema social	22
III-6 Modelo didáctico múltiple	23
IV Evaluación. Funciones	28
IV-1 Enseñar, aprender y evaluar: tres procesos inseparables	28
IV-2 Criterios de evaluación	31
SEGUNDA PARTE	32
I Situación actual. Relevancia de la propuesta.	33
I-1 Problema detectado	33
1-2 Hipótesis	33
I-3 Objetivos	34
I-4 Propuesta ante el problema	34
II Diseño de la investigación	35

II-1	Descripción de la experiencia	35
II-2	Fase pre-experimental	35
II-3	Fase experimental	38
II-4	Secuencia de actividades. Año 2003	39
	Año 2004	44
II-5	Evaluación	47
	Año 2003. Evaluación antes de la enseñanza	47
	Evaluación durante el proceso de enseñanza	48
	Evaluación después de la enseñanza	52
	Año 2004. Evaluación antes de la enseñanza	53
	Evaluación durante el proceso de enseñanza	53
	Evaluación después de la enseñanza	54
III	Resultados y discusión sobre la evaluación diagnóstica.	56
IV	Resultados y discusión sobre la evaluación a los largo del proceso de enseñanza. Año 2003	65
	Año 2004	81
V	Resultados y discusión sobre la evaluación al final del proceso de Enseñanza	86
VI	Conclusiones	88
VII	Bibliografía	91
VIII	Anexo 1	95
IX	Anexo 2	96
X	Anexo 3	97
	X - 1 Exámenes de alumnos correspondientes al grupo piloto 2003	98
	X - 2 Exámenes de alumnos correspondientes al grupo tradicional 2003	99
	X - 3 Exámenes de alumnos correspondientes al grupo piloto 2004	100
	X- 4 Exámenes de alumnos correspondientes al grupo tradicional 2004	101

*Nunca tengas miedo de la ignorancia cuando intentes salir de ella. En tiempo de formación y aprendizaje, el error, la equivocación, la duda, la inseguridad, son síntomas de que el aprendizaje es una tarea de construcción en constante flujo y reflujo, no en permanente acto de fe en las palabras que oyes o lees.*

*Juan Manuel Álvarez Méndez*

## I - INTRODUCCIÓN

### DIMENSIONES DE LA ENSEÑANZA DE LAS CIENCIAS

Debido a que el currículo de Ciencias debe ser una guía adecuada y útil para los docentes y presidir las actividades de aprendizaje, es necesario tener en cuenta los cambios que se están produciendo y los factores que están motivando los mismos, como así también componentes básicos: contenidos, objetivos, estructuras, estrategias didácticas, evaluación y las dimensiones a través de las cuales pueda considerarse la enseñanza de las Ciencias.

Según (Caamaño Ros, A., 1988) los objetivos y contenidos de la enseñanza de las Ciencias poseen cinco dimensiones:

#### *1- Las dimensiones de los contenidos factuales y conceptuales:*

Cuyo principal propósito es, capacitar a los alumnos para comprender un amplio espectro de hechos, conceptos, principios y teorías científicas.

#### *2- La dimensión de los procedimientos o habilidades:*

Ya que éstos permiten a través del uso de formas específicas de pensamiento, de actividades prácticas también específicas, y de la comunicación de ideas y descubrimientos a la comunidad científica, establecer y abordar dicho conocimiento científico.

Estas habilidades que han constituido un importante objetivo de la educación científica, en tanto posibilitan la apropiación de saberes disciplinares por los alumnos.

Pueden subclasificarse en prácticas intelectuales y de comunicación.

### *3 -La dimensión de las actitudes:*

Según Hodson (1985) se pueden distinguir los siguientes tipos:

- Actitudes sobre la ciencia y sobre su imagen pública.
- Actitudes sobre los métodos de la ciencia, es decir, sobre los procesos de observación, clasificación, inferencia, pensamiento hipotético-deductivo y resolución de problemas, en relación a su posible transferencia a otras áreas de conocimiento.
- Actitudes sobre la enseñanza de las ciencias, suponiendo que los objetivos ligados a los contenidos conceptuales y a las habilidades van a ser alcanzados más fácilmente si resultan interesantes, de utilidad.
- Actitudes sobre implicaciones sociales y ambientales de la ciencia.

### *4- La dimensión contextual:*

Se considera importante que los alumnos sean capaces de desarrollar su comprensión de la ciencia y de los procesos científicos en una serie de contextos diferentes:

- En el de la ciencia pura (ciencia para la mente).
- En el de la ciencia como actividad cultural (ciencia para la acción).
- En el de la ciencia aplicada (ciencia para el ciudadano).

### *5- La dimensión metacientífica:*

Aborda aspectos que corresponden más bien a la filosofía, a la historia y a la sociología de la ciencia para que ésta pueda ser aprehendida en su real dimensión.

Las tendencias actuales han conducido en ciertos aspectos a procesos de cambios en el currículo de Ciencias:

- Los objetivos de la enseñanza de las Ciencias deben ampliarse, para que los alumnos tengan la oportunidad de desarrollar su comprensión de la Ciencia en una serie de contextos diferentes: ciencia pura, aplicada, como actividad cultural, incluyendo sus aspectos históricos, filosóficos y sociales.
- Un consenso sobre el hecho de estructurar la enseñanza de las Ciencias, de modo que conduzca a un currículo amplio, equilibrado y relevante.
- Una nueva valoración del papel de los conceptos y de las teorías en la enseñanza de las Ciencias, como factores que condicionan el significado que se da a la experiencia, y que constituyen un punto de partida para la construcción de nuevos conocimientos.
- Una renovada atención a los procedimientos y a las habilidades desde una perspectiva integrada con los contenidos conceptuales.

- Una nueva concepción de la enseñanza de las Ciencias, que ve el aprendizaje de las Ciencias como un proceso de construcción del conocimiento por parte del alumno, en interacción con los demás estudiantes y el profesor, proceso que implica una constante sucesión de cambios conceptuales.
- El desarrollo de una serie de estrategias didácticas encaminadas a conseguir este proceso de cambio conceptual, y a dar oportunidad a los alumnos para que usen las nuevas ideas en un amplio abanico de situaciones.
- Una valoración de la evaluación formativa, y un interés por encontrar formas de evaluación de los procedimientos en relación a criterios.

Como consecuencia de la falta de integración teoría-práctica y con el objetivo de lograr que los trabajos prácticos sean instrumentos adecuados para la enseñanza de las Ciencias y de lo expuesto anteriormente, surge la necesidad de hacer un cambio durante el desarrollo de los trabajos prácticos, objetivo general de esta tesis.

En particular me interesó investigar sobre:

- La manera de enfocar la asignatura en forma integral para lograr una retroalimentación mutua teoría-práctica.
- La forma de promover en el alumno una conducta activa en el proceso enseñanza-aprendizaje.
- Criterios de selección y organización de contenidos, diseño de materiales, modalidad a implementar en distintas actividades de enseñanza, a fin de lograr en el alumno un espíritu creativo, un desarrollo afectivo y contribuir a un cambio motivacional.
- Cómo despertar curiosidad, creatividad, pensamiento crítico, suponiendo que los objetivos ligados a los contenidos conceptuales y a las habilidades van a ser alcanzados más fácilmente si resultan interesantes y útiles.
- Cómo capacitar al alumno para comprender conceptos y principios a ser aplicados a problemas cotidianos.
- Cómo considerar al medio como un recurso didáctico fundamental, reconociendo y tratando de resolver sus problemas.
- Sobre los roles del docente y alumno, sus relaciones e interacciones en el aula.
- Cómo incrementar la capacidad de trabajo y aprendizaje cooperativo, estimulando el trabajo en equipo, creando en el alumno un equipo de solidaridad y colaboración, al tiempo de concientizarlo sobre sus responsabilidades.



- Desarrollar una actitud positiva hacia la ciencia.

El presente trabajo está organizado en dos partes:

- *La primera parte* está subdividida en cuatro apartados:

*Apartado I:* Se sintetizan los Antecedentes bibliográficos -“estados del arte”- considerados más relevantes en lo que a estrategias didácticas para la enseñanza de las Ciencias.

*Apartado II:* Se expone los problemas de aprendizaje y de enseñanza de Conceptos y procedimientos.

*Apartado III:* Se hace referencia al programa para la enseñanza de las Ciencias, haciendo mención a distintos modelos didácticos de enseñanza, destacando la necesidad de un modelo múltiple.

*Apartado IV:* Se da cuenta de la evaluación, sus alcances, exigencias, funciones y criterios.

- *La segunda parte*, también ha sido organizado en seis apartados y tres anexos:

*Apartado I:* Se hace referencia a la propuesta diseñada: problema detectado, hipótesis, objetivos y propuesta

*Apartado II:* Se expone el diseño de la investigación (fases, secuencias de actividades realizadas durante los años 2003/04) y la evaluación correspondiente.

*Apartado III:* Se desarrolla los resultados y discusión sobre la evaluación diagnóstica.

*Apartado IV:* Contiene la evaluación a lo largo del proceso de enseñanza.

*Apartado V:* Contiene los resultados finales.

*Apartado VI:* Contiene las conclusiones.

*Anexo I:* Se incluyen: programa de la asignatura, cronograma de trabajos prácticos y sus guías.

*Anexo II:* Se da cuenta de las mejores respuestas del año 2004.

*Anexo III:* Se incluyen fotocopias de exámenes correspondientes a alumnos de los grupos piloto y tradicional de los años 2003 y 2004.

## **PRIMERA PARTE**

## I - ESTRATEGIAS DIDÁCTICA PARA LA ENSEÑANZA DE LAS CIENCIAS. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.

Las investigaciones sobre los esquemas conceptuales de los alumnos en el marco de la teoría constructivista del aprendizaje han dado lugar al surgimiento de una nueva concepción de la enseñanza de las Ciencias, que cifra su objetivo principal en conseguir el cambio conceptual de los alumnos.

La enseñanza de las Ciencias constituye al presente, una problemática abordada por numerosos especialistas que dan cuenta de la importancia en lo que al aprendizaje de los alumnos refiere.

Los aportes de dichos especialistas que se han tenido en cuenta para la realización del presente trabajos son los que se sintetizan en los párrafos siguientes.

En general, diversos autores establecen una serie de etapas en el proceso de aprender de los alumnos y analizan su correspondiente cambio conceptual.

Considerando la *primer etapa* de ese proceso, podemos analizar:

*Posner y col.* (1982) proponen detectar la existencia de ideas intuitivas de los alumnos.

*Nussbaum y Novick* (1981) establecen en primer término: una exposición de las concepciones alternativa de los alumnos, para que se hagan conscientes de ellas.

Para *Driver* (1986), la primera etapa del modelo o estrategias es la identificación y clasificación de las ideas que poseen los alumnos.

Ignorar y evitar las ideas previas de los estudiantes y basar la enseñanza únicamente en la propia estructura de la materia, puede conducir a una compartimentalización del pensamiento de los estudiantes, no fomentando el acercamiento del conocimiento cotidiano al científico (Domínguez, J.M., 2002).

Considerar las ideas previas como punto de partida, es necesario para que tengan la oportunidad de hacerlas explícitas y de clasificarlas e intercambiarlas con sus pares o con los profesores y para que haya oportunidad de introducir nuevas ideas y de utilizar los conceptos en diversas situaciones (Domínguez, J.M., 2002).

En una *segunda y tercer etapa*, *Posner* propone proporcionar un número suficiente de anomalías así como las analogías y modelos adecuados.

*Nussbaum y Novick*, la creación de un conflicto conceptual mediante la atención a sucesos discrepantes.

*Driver*, la puesta en cuestión de las ideas de los estudiantes a través de contraejemplos y la invención o introducción de nuevos conceptos.

En una *cuarta etapa*, *Posner* desarrolla técnicas de evaluación que permiten seguir el cambio conceptual.

*Nussbaum* y *Novick* proponen facilitar la acomodación cognitiva.

*Driver*, proporcionar oportunidades para que los alumnos usen las nuevas ideas en un amplio abanico de situaciones.

En una *corriente didáctica* que va más allá, propugna un cierto paralelismo entre el desarrollo conceptual del alumno y la evolución histórica de las concepciones científicas. Según este punto de vista el aprendizaje significativo de las ciencias sería visto como una actividad semejante a la investigación científica, cuyo resultado, el cambio conceptual, podría considerarse equivalente a los cambios de paradigmas científico.

*Gill* y *Carrascosa* (1984) han sugerido que la dificultad de una correcta adquisición de los conocimientos científicos residiría no tanto en la existencia de esquemas conceptuales alternativos, sino en la metodología de la superficialidad que está en su origen y, han propuesto un nuevo modelo didáctico que debería enfocar el aprendizaje no solo como cambio conceptual, sino como cambio conceptual y metodológico.

Se trata de una defensa del método del descubrimiento orientado, en el que se propone el aprendizaje de los conceptos mediante un proceso de redescubrimiento llevado a cabo gracias al aprendizaje y uso de la metodología científica, bien alejado del ingenuo carácter inductivista con que fue aplicado en su origen.

*Ausubel* (1968) y *Novack* (1977) consideran imposible llevar a cabo la estrategia anterior, ya que opinan que el trabajo científico requiere unas habilidades intelectuales y una dosis de creatividad que es ajena a la mayoría de los alumnos adolescentes. Por lo que proponen exponer a los alumnos a los núcleos conceptuales básicos de las ciencias, pero no de un modo pasivo, sino induciendo en el alumno un aprendizaje significativo. Este aprendizaje significativo surge de una clasificación de las situaciones de aprendizaje que según *Ausubel*, *Novack* y *Hanesian* (1978) pueden analizarse conforme a dos dimensiones:

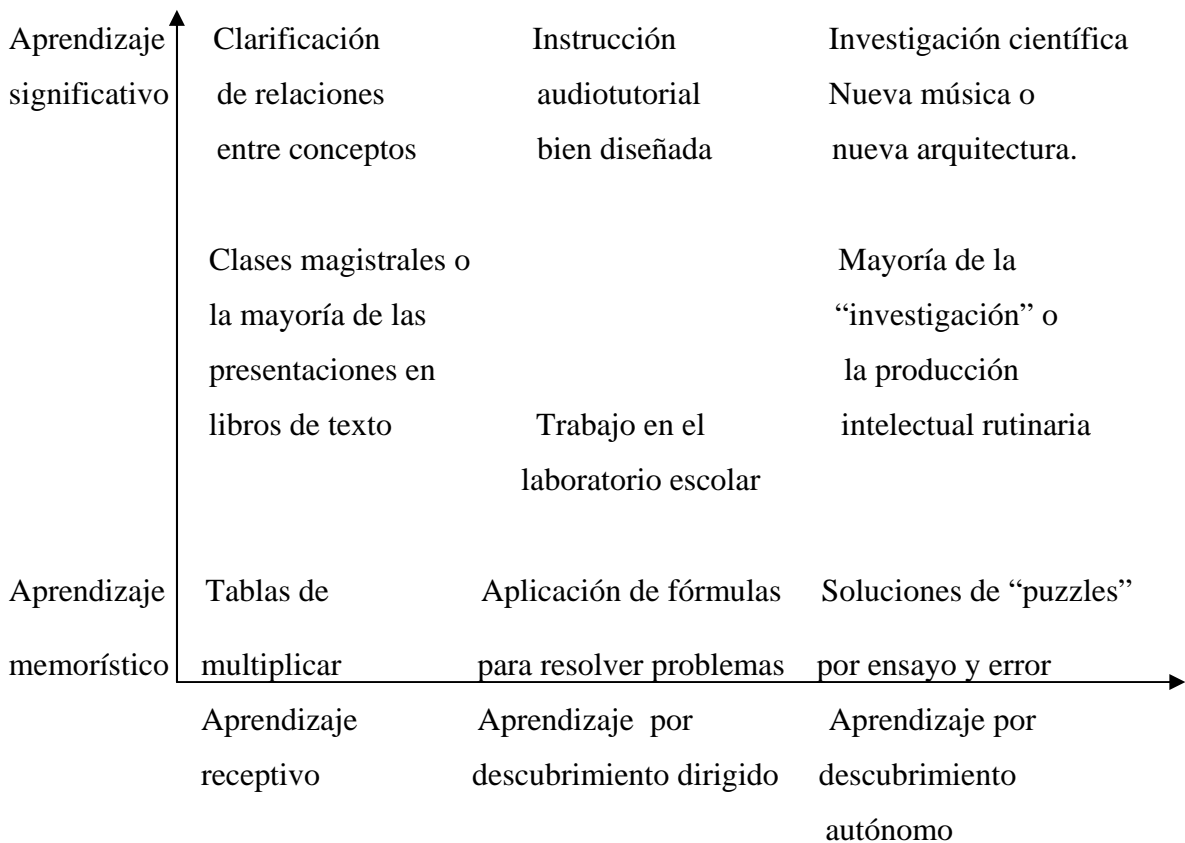
- Un eje vertical que hace referencia al tipo de aprendizaje realizado por el alumno desde casi meramente memorístico o repetitivo, donde el nuevo conocimiento puede adquirirse simplemente mediante la memorización verbal al plenamente significativo,

donde se trata de relacionar los nuevos conocimientos con los conceptos y las proposiciones relevantes que ya posee.

- Un eje horizontal que se refiere a la estrategia de instrucción planificada para afrontar ese aprendizaje, que puede variar desde el receptivo, donde la información se ofrece al alumno, hasta aquel por descubrimiento autónomo, donde el que aprende es quien identifica y selecciona la información que va a aprender.

*Ausubel* admite que en muchos momentos del aprendizaje puede haber aspectos memorísticos; pero el aprendizaje memorístico va perdiendo importancia a medida que se adquiere más conocimientos, ya que al aumentar éstos se facilita el establecimiento de relaciones significativas con cualquier material.

Pero no siempre el material estructurado con lógica se aprende significativamente, es necesario una predisposición, se requiere un esfuerzo y debe haber un motivo para el mismo.



*Hodson* (1985) pone en cuestión el interés del aprendizaje como descubrimiento y afirma que es absurdo sugerir que objetivos bastante distintos como son la comprensión

de los procedimientos de la ciencia y la adquisición de conocimientos científicos, requieran que el estudiante sea puesto en situación de aprender el contenido a través del método. En su opinión tales cursos propagan una visión de método científico demasiado simplista y conduce a pensar que las teorías son simples conjeturas que los alumnos pueden elaborar después de breves períodos de trabajo de laboratorio y que pueden ser contrastadas fácilmente, aceptándose o rechazándose en base a experimentos aislados.

*Pozo* (1987) ha propuesto una estrategia de compromiso, que consistiría en diseñar situaciones didácticas que conjuguen la resolución de problemas con la recepción de conocimientos científicos que ayuden a solucionar estos problemas.

El debate es muy amplio, aunque puede ser más formal que real en algunas ocasiones.

Es clara la importancia de la enseñanza de las Ciencias, ya que ha de proponer la adquisición de una serie de procedimientos y habilidades científicas desde las más básicas como por ejemplo, utilización de aparatos, medición, tratamiento de datos, hasta las más complejas como investigar y resolver problemas haciendo uso de la experimentación.

Los trabajos prácticos constituyen uno de los instrumentos más adecuados de lo que se dispone para la enseñanza/aprendizaje de las Ciencias, ya que ésta es sin duda, una actividad práctica además de teórica, y una gran parte de la actividad científica tiene lugar en los laboratorios. Las teorías vigentes sobre cómo aprenden los alumnos avalan la importancia del laboratorio en la construcción y comprensión de conceptos científicos.

El enfoque que se da a los trabajos prácticos depende de los objetivos que queremos conseguir a través de su realización, y estos objetivos dependen de la concepción que se tiene de cómo se hace ciencia y de cómo se puede aprender ciencia. Las actividades prácticas pueden utilizarse para detectar ideas previas, crear conflictos conceptuales, aplicar conceptos ya introducidos o evaluar el cambio conceptual, para lo cual es necesario:

- Diseñar actividades experimentales simples, directas y adecuadas al nivel cognitivo de los alumnos, que les permitan adquirir experiencias de primera mano de los fenómenos implicados en los conceptos, leyes y teorías.
- Priorizar el aspecto cualitativo de los fenómenos observados.
- Implicar a los alumnos en la actividad, estimulándolos para observar, predecir y explicar el fenómeno.

## II - PROBLEMAS DE APRENDIZAJE Y DE ENSEÑANZA DE CONCEPTOS Y PROCEDIMIENTOS.

El estudio de la problemática de los contenidos referidos a conceptos pueden analizarse desde la perspectiva constructivista, en la que se destaca el papel de las concepciones y creencias del alumno y de la evolutiva con que se analiza la demanda cognitiva de los contenidos, objeto de aprendizaje respecto del desarrollo evolutivo de los estudiantes.

En una concepción constructivista del aprendizaje (Driver, R; 1988), el estudiante se sitúa en el centro del proceso de aprendizaje, lo que aprenden no depende solamente de las características del medio de aprendizaje (un libro, un objeto, un fenómeno físico) sino también de las ideas que tienen, de las estrategias cognitivas disponibles y de sus propios intereses y propósitos. Adquieren una importancia fundamental las ideas con las que llegan al aula de ciencias.

Las características de las ideas suelen ser diferentes a las aceptadas por la comunidad científica, debido a que los estudiantes tienen una visión antropométrica de sus experiencias, no sienten la necesidad de que sus explicaciones sean coherentes en relación a una variedad de fenómenos, ni la precisión del lenguaje, a diferencia de los científicos. Además algunas de estas ideas que pueden surgir de la experiencia personal, y de la información que se recibe a través de los medios de comunicación, presentan una gran resistencia a ser cambiadas, ya que resultan ser satisfactorias para desarrollarse en la vida cotidiana, por lo que se mantienen a lo largo de diferentes niveles de enseñanza; habiendo en algunos casos una progresiva revolución de las concepciones de los alumnos a lo largo de los años.

Ignorar y evitar las ideas previas de los estudiantes y basar la enseñanza únicamente en la propia estructura de la asignatura puede conducir a una compartimentalización del pensamiento de los estudiantes, el conocimiento sólo se usa para contestar preguntas de exámenes y está separado del conocimiento cotidiano. Considerar las ideas previas de los estudiantes como punto de partida, es necesario para que ellos tengan la oportunidad de hacerlas explícitas e introducir nuevas. Se trata de construir más que de destruir.

Es necesario tener en cuenta la idea que los alumnos cuando aprenden, elaboran estructuras de conocimiento que pueden utilizar y transferir en diversas situaciones. Todo ello tiene sentido en el marco de la Teoría de los esquemas (Alambique, 1996; García Hourcade, J.L. y Rodríguez de Avila, C. 1998).



Para dicha teoría los esquemas son estructuras de conocimientos dinámicas, de creciente complejidad, que pueden representar conceptos, situaciones, sucesos, secuencias de sucesos, acciones y secuencias de acciones; contienen información no solo del propio conocimiento sino también de cómo se usa y explican procesos como la comprensión, las inferencias o la elaboración de estrategias de resolución de problemas.

Si se quiere mejorar la situación, es necesario resolver problemas muy importantes, como: ¿cuál es el auténtico significado científico de los conceptos y procesos?; ¿qué criterios se utilizan para seleccionar y secuenciar contenidos?, ¿cómo relacionar los conceptos, procedimientos y las actitudes?, ¿cómo se lleva a cabo el proceso de construcción del conocimiento utilizando las ideas que ya poseen?

Los problemas de aprendizaje y de enseñanza de conceptos científicos desde la orientación evolutiva, indican que el individuo no posee desde un principio todas las capacidades cognitivas que pueden llegar a tener cuando es adulto, sino que va construyendo estructuras que le permite organizar los nuevos conocimientos.

Los estudios de Piaget y col. de la escuela de Ginebra han sido fundamentales y se basaron en la búsqueda de cómo el niño va produciendo sus conocimientos, dando origen a la teoría genética, de la cual deriva la idea de los estadios de desarrollo evolutivo, que para algunos autores no pueden ser universales o que no pueden coincidir con las edades que hace referencia Piaget, pero pueden tener aplicación en la práctica de la Enseñanza de la Ciencia.

Los alumnos de nivel concreto son capaces de razonar sobre lo “real” y han de apoyarse en experiencias concretas y tendrán dificultades en la búsqueda de relaciones entre las variables de las que pueda depender la solución del problema que son preferentemente cerrados, donde es única la alternativa de solución.

En el nivel formal son capaces de razonar sobre lo “posible” no apoyándose necesariamente en experiencias concretas y, trabajan con mayor comodidad con enunciados hipotéticos, pueden manejar relaciones de tipo cuantitativo y tienen capacidad para resolver problemas de carácter abierto con un cierto número de alternativas que es necesario explorarlas.

Las investigaciones realizadas sobre problemática del aprendizaje de procedimientos en ciencias, ha puesto de manifiesto la diferente naturaleza del conocimiento declarativo (saber decir) y el conocimiento procedimental (saber hacer).

La psicología cognitiva ha cambiado el viejo principio de que las dificultades en el saber se deben a la incapacidad de aplicar lo que se sabe decir, y por lo tanto, que la

teoría debe preceder siempre a la práctica, porque son dos tipos de conocimiento que se adquieren por procesos diferentes y hasta cierto punto independientes (Pozo 1989, 1996).

## II - 1 CONTENIDOS PROCEDIMENTALES

Si bien no hay una única definición, procuran que los estudiantes integren los contenidos conceptuales y actitudinales con los relativos al “saber hacer”, a partir de trabajos de investigación y/o proyectos sociocomunitarios.

En los contenidos procedimentales se indican contenidos que también caben bajo la denominación de “destrezas”, “técnicas”, “estrategias”.

Los contenidos procedimentales tienen características comunes y claras implicancias didácticas.

## II - 2 CONTENIDOS PROCEDIMENTALES QUE DEBEN ENSEÑARSE

Existen diferentes clasificaciones en función de los distintos enfoques y orientaciones, no siendo lógico identificar los contenidos procedimentales con un único planteamiento metodológico o con una corriente psicopedagógica específica, pudiéndose hacer una distinción entre estrategias de investigación, destrezas manipulativas y de comunicación. Con respecto a los contenidos procedimentales si se deben enseñar aisladamente o en el transcurso de la realización de actividades, toma actualmente la forma de un debate entre los dos tipos de posturas: (proceso por proceso) y la holística (en el marco de investigación), (Woolnough, B.1989,1991):

- *Postura atomística*: defiende la necesidad de realizar actividades prácticas, entendidas éstas como ejercicios especialmente diseñados para el aprendizaje de los procedimientos más básicos -prácticos e intelectuales- antes de abordar las actividades de carácter investigativo.

Los defensores de esta postura suponen que se puede crear el todo por combinación de sus componentes, y que los alumnos aprenderán más fácilmente un procedimiento o habilidad determinada.

Los detractores parten del supuesto de que no se da el progreso en el aprendizaje de ciertos procesos de la ciencia, que consideran comunes a toda actividad cognitiva: la observación, la clasificación, la inferencia y la emisión de hipótesis. Tampoco se daría la transferencia de estas habilidades a contextos diferentes de donde se han aprendido.

- *Postura holística*: Considera que se pueden realizar investigaciones desde el principio, en el curso de las cuales aprenderán progresivamente las habilidades características del trabajo científico, con interacción de los compañeros y con la ayuda del profesor.

Los defensores de esta postura ven la enseñanza de las ciencias como un conjunto de conceptos, habilidades y actitudes que se ponen en juego en la actividad global de resolver problemas.

Los detractores argumentan sobre la complejidad conceptual y procedimental de los trabajos prácticos. Consideran que es difícil que los alumnos puedan estar pendientes del aprendizaje de los procedimientos, si a la vez han de estar concentrados en el desarrollo de la investigación.

El currículo debe incluir objetivos y contenidos procedimentales con la finalidad de aprender lo que es la ciencia y la tecnología y cómo trabaja, pero también debe haber una dimensión afectiva en los objetivos a lograr en la enseñanza-aprendizaje de las ciencias. Esta dimensión afectiva normalmente se expresa mediante objetivos actitudinales.

El currículo ha de conformar creencias, actitudes y valores que desarrollen en los estudiantes un interés crítico por las actividades científicas.

Siendo los programas de las asignaturas la última etapa de la organización y estructuración del currículo, deben incluir entre las actividades planificadas, las prácticas de laboratorio, las que conjuntamente con las actividades en el aula, sin separar en teoría y práctica, constituyen un todo y se retroalimentan mutuamente.

Desde hace unos años, los estudios sobre prácticas de laboratorio, han adquirido un nuevo impulso (Caamaño, Carrascosa y Oñorbe, 1994) debido a la crítica que han recibido por el carácter cerrado con que se presentan a los alumnos las actividades prácticas, generando de este modo un amplio consenso entorno a la orientación como actividad investigativa (Gil y col., 1991), y dejan de ser así, meras ilustraciones de los conocimientos transmitidos y pasan a constituir actividades de investigación.

Este trabajo de tesis pretende con las prácticas de laboratorio:

- Favorecer la reflexión de los estudiantes sobre la relevancia y el posible interés de las situaciones propuestas, que dé sentido a su estudio y evite un estudio descontextualizado, socialmente neutro.

- Potenciar los análisis cualitativos, significativos, que ayuden a comprender y acotar las situaciones planteadas (a la luz de los conocimientos disponibles, del interés del problema, etc.) y a formular preguntas operativas sobre lo que se busca.

- Plantear la emisión de hipótesis e insistir en la necesidad de fundamentarlas y prestar atención a la actualización de conocimientos que constituyan prerequisites para el estudio emprendido.

Reclamar cuidadosa operativización de las hipótesis, es decir, la derivación de consecuencias contrastables, prestando la debida atención al control de variables.

- Plantear el análisis detenido de los resultados (su interpretación física, fiabilidad, etc.) a la luz del cuerpo de conocimientos disponibles, de las hipótesis manejadas y de los resultados de “investigadores”.

## II - 3 DIFERENCIA ENTRE ACTITUD, VALOR, CREENCIA, MOTIVACIÓN

El currículo ha de conformar creencias, actitudes y valores que desarrollen en los estudiantes un interés crítico por la actividad científica y permitirá valorar el papel que juega y ha jugado en nuestras vidas y les preparará el camino para que, en un futuro próximo, estos estudiantes puedan participar colectivamente en la solución de los problemas con los que se enfrentan la sociedad de la que forman parte.

Por otra parte el docente debe evaluar si se ha producido el aprendizaje de los contenidos actitudinales seleccionados, es decir, comprobar hasta qué punto sus alumnos viven, practican y se comprometen con ciertas actitudes y no solamente con su reconocimiento teórico.

Las actitudes se adhieren a nosotros, crecen, arraigan y se consolidan en proporción a la intensidad de nuestro afán e interés. De ahí que se espera del profesor de ciencias que sea capaz de despertar el interés del estudiante, encauzarlo, retroalimentarlo de manera que se desarrolle su dominio afectivo, al tiempo que se asocia el aprendizaje significativo de las ciencias. Este desarrollo afectivo implica no sólo conformar actitudes sino también valores, creencias, motivaciones.

Podemos definir:

**Actitud:** Es una valoración positiva o negativa sobre cosas, personas, lugares, sucesos. Rodríguez, A. (1989); Rabadán, J.M. y Martínez, P. (1999) Se admite la existencia de cuatro componentes:

- Cognoscitiva: engloba las ideas y creencias que constituyen la información importante (conocimientos), a favor o en contra, que tiene la persona respecto de la conducta perseguida.

- Afectiva: hace referencia a los sentimientos personales de aceptación o rechazo respecto del comportamiento perseguido.

- Intencional: relacionada con la intención o inclinación voluntaria (toma de decisiones) de llevar a cabo dicha acción o conducta.

- Comportamental: observable directamente como conducta del sujeto en una situación específica.

**Valores:** Evaluaciones personales sobre ideas más abstractas.

**Creencias:** Aceptación o rechazo de ideas básicas.

**Motivación:** Focalización hacia el deseo de actuar o no.

## II - 4 DIFERENCIAS ENTRE ACTITUD CIENTÍFICA Y ACTITUD HACIA LA CIENCIA

Anteriormente se introdujo el concepto de actitud hacia algo, pero la investigación didáctica se ha planteado diferenciar lo que significa actitud científica y actitud hacia la ciencia.

**Actitud científica:** Son valores y actitudes humanas que se forman al practicar la actividad científica. Como por ejemplo el deseo de conocer, el de indagar, la búsqueda de datos y su significado, la predisposición a tolerar los puntos de vista contrarios, flexibilidad, etc.

La actitud científica tiene los siguientes objetivos (Giordan 1992): curiosidad, creatividad, confianza en sí mismo, pensamiento crítico, actividad investigadora, apertura a los otros, toma de conciencia y utilización del medio social y natural.

**Actitudes hacia la ciencia:** incluyen creencias, percepciones y afectos de los estudiantes hacia la ciencia y cualquier aspecto relacionado con el proceso de enseñanza-aprendizaje de las ciencias.

Según Hodson (1985) presenta cinco categorías: actitudes hacia la ciencia y su imagen pública, actitudes hacia los métodos de la ciencia, actitudes sobre las “actitudes científicas” (entendidas como adhesiones personales a estas actitudes), actitudes sobre las implicaciones sociales y ambientales de la ciencia y actitudes hacia la enseñanza de las ciencias.

### III - PROGRAMA PARA LA ENSEÑANZA DE LAS CIENCIAS

Toda propuesta docente se inscribe en un marco epistemológico, sea implícito o explícito y tiene fundamentos psicológicos, pedagógicos, aunque éstos revistan la forma de suposiciones acerca de la mejor forma de aprender y enseñar, y no necesariamente de una reflexión teórica muy elaborada.

El aprendizaje y la enseñanza tienen gran relación; para algunos autores no existe una relación lineal entre un modelo de aprendizaje y uno de enseñanza. Para Ausubel, Novak y Hanesian (1983), enseñar y aprender no son coextensivos, pues enseñar es solo una de las condiciones que puede influir en el aprendizaje. Otros autores (Gill 1993) escriben enseñanza/aprendizaje para subrayar la estrecha vinculación entre ambos aspectos.

Para llevar a cabo los objetivos de la enseñanza de las Ciencias, los docentes seleccionan determinados contenidos, programan distintas actividades, preparan materiales y recursos, toman una serie de decisiones sobre qué enseñar y cómo hacerlo. Estas decisiones y estrategias responden a un modelo.

Desde la Didáctica de las Ciencias Experimentales, se han realizado interesantes propuestas de modelos de enseñanza que sirven de ayuda para sintetizar y diferenciar los aspectos más relevantes que intervienen en el proceso de enseñanza-aprendizaje de las Ciencias.

Un modelo de enseñanza, según Joyce y Weil (1985), es un plan estructurado para configurar un currículo, diseñar materiales y en general orientar la enseñanza. Estos autores dan cuenta de varias decenas de modelos dirigidos a diferentes campos o tipos de objetivos de comprensión de conceptos, de desarrollo afectivo, de modificación del comportamiento, puesto que los estudiantes en campos distintos, no siempre son excluyentes.

Joyce y Weil definen los modelos en función, por un lado, de las hipótesis teóricas y los principios en que se fundamentan, y por otro, a través de cuatro dimensiones:

- \* Sintaxis: Roles de docente y alumnos; sus relaciones, las interacciones en el aula.
- \* Sistema social: Roles de docente y alumnos; sus relaciones, las interacciones en el aula.
- \* Principios de reacción: Reglas sobre cómo responder a lo que hacen los estudiantes.
- \* Sistema de apoyo: Condiciones necesarias para la existencia del modelo, exigencias adicionales, recursos.

Otro, Pozo y Gómez Crespo (1998), en el análisis de enfoques de enseñanza, forma en que denominan también a los “modelos”, lo define por medio de cuatro dimensiones:

- \* Supuestos epistemológicos, concepción de aprendizaje y metas que propone.
- \* Criterios de selección y organización de contenidos.
- \* Actividades de enseñanza y evaluación.
- \* Dificultades previsibles que se derivan de su aplicación, tanto para el profesorado como para el alumnado.

Estos autores utilizan este esquema para analizar detalladamente hasta 6 enfoques diferentes de la enseñanza de las ciencias.

De los distintos modelos didácticos existentes, tres son de gran importancia para la enseñanza de las Ciencias Experimentales:

- Modelo de transmisión y recepción
- Modelo de descubrimiento
- Modelo constructivista

que por separado o combinados pueden ser representativos de la práctica de una amplia proporción de docentes.

En cada modelo se puede analizar cuatro aspectos:

- \* Fundamentos psicológicos, epistemológicos y empíricos.
- \* Principios, es decir lo que se entiende por aprender y enseñar ciencias.
- \* Modelo en acción: selección y organización de contenidos, tipos de actividades de enseñanza.
- \* Sistema social: roles, interacciones, contexto.

Que a continuación se desarrollan.

### III - 1 FUNDAMENTOS PSICOLÓGICOS Y EPISTEMOLÓGICOS

Los modelos de transmisión-recepción y de descubrimiento difieren en que el primero, presta más atención a los aspectos epistemológicos que a los psicológicos, incluso puede no prestar atención a la Psicología del aprendizaje a diferencia del segundo, que se propone como un objetivo de la enseñanza de las ciencias, el desarrollo del pensamiento formal. En el de transmisión-recepción considera que basta apuntar a la estructura disciplinar.



En el modelo constructivista, los enfoques cognitivos consideran al aprendizaje como un cambio en las estructuras de conocimiento. Piaget menciona la actividad constructiva de la mente y, según otros (1990), las personas se explican a sí mismas y a su entorno construyendo modelos hipotéticos -constructos personales- y evaluándolos. Piaget se refiere a la construcción del conocimiento común a distintos individuos, mientras los demás se fijan en lo individual, integrando los aspectos afectivos. Hay que citar también a Ausubel (1983), que concede importancia a lo que el estudiante ya sabe como su concepción del aprendizaje significativo, utilizada en los estudios sobre ideas alternativas.

En el modelo constructivista la epistemología se basa en la perspectiva de Kuhn - entre otros- de la ciencia como proceso de interpretación de la realidad mediante la construcción de modelos que pueden ser sustituidos por otros. Estos modelos condicionan la observación de la realidad a través de los “anteojos conceptuales” de una teoría. Claxton (1987) realiza una síntesis de las perspectivas psicológica y epistemológica al indicar que la visión del aprendizaje como construcción equivale a aplicarle la metáfora del conocimiento científico: los constructos personales son formas de representación que contienen convenciones y tienen un campo de validez limitado.

### III – 2 FUNDAMENTOS EMPÍRICOS.

En el modelo constructivista se critica la consideración de los estudiantes como “páginas en blanco” y se recomienda que se preste atención a sus concepciones que, según Driver, orientan sus experimentos y condicionan sus interpretaciones, influyendo en el aprendizaje. Según las investigaciones realizadas por Driver y col. 1989, Giordan 1982, Osborne y Freyberg 1991, los estudiantes mantienen sus interpretaciones de los fenómenos naturales a pesar de su instrucción, a diferencia del modelo de transmisión-recepción donde se lo considera una página en blanco en la que se inscriben los conocimientos y se supone que el mismo se transmite elaborado, de la mente de una persona a la otra.

El modelo de descubrimiento se fundamenta en el empirismo o inductivismo ingenuo: ciencia caracterizada por un método científico universal y observación objetiva, no mediatizada por teorías, el alumno puede descubrir conceptos y leyes por generalizaciones a partir de observaciones.

### III – 3 PRINCIPIOS

Para el modelo de transmisión-recepción, aprender ciencias es asimilar los conocimientos científicos tal y como la Ciencia los ha formulado.

Para el de descubrimiento la concepción de aprender y enseñar Ciencias se basa en que los estudiantes descubran por sí mismo los conocimientos a partir de los datos empíricos.

Aprender Ciencias es sobre todo, dominar los procesos del método científico, y aplicando éstos se llegarán a descubrir los conocimientos. Enseñar Ciencias es enseñar las destrezas de investigación, es decir, organizar y coordinar actividades experimentales. Ya que el alumno debe descubrir los conocimientos, el profesor no debe introducir los conceptos ni dar las instrucciones para resolver un problema.

Para el constructivista existe un paralelismo entre la construcción de conocimiento científico nuevo –producción científica- y la reconstrucción de conocimientos de los estudiantes. Aprender Ciencias es reconstruir los conocimientos, partiendo de las propias ideas de cada persona, y expandiéndolas o cambiándolas según los casos. Es decir, el aprendizaje no es una reproducción del contenido a aprender, sino que implica un proceso de construcción.

Para el constructivismo el saber que se enseña es conocimiento construido en cuádruple sentido:

- Histórico: Por evolución a través de los tiempos. Construcción longitudinal.
- Social: Por interacción fecunda entre las distintas personas, grupos, culturas, etc. Construcción transversal.
- Pedagógico: La versión y organización del conocimiento que hacen los docentes y los textos para la enseñanza. Construcción docente.
- Personal: La construcción subjetiva, personal, que hace cada persona a lo largo de su evolución intelectual y disciplinar. Construcción individual.

### III – 4 MODELO EN ACCIÓN

Para el modelo de transmisión-recepción la meta es propedéutica: preparar para el siguiente nivel educativo; el eje de la enseñanza transmitiva es la lección magistral.

Para el modelo de descubrimiento en el currículo pierde importancia los contenidos conceptuales, en favor de los procesos y destrezas del método científico. El eje es la realización de actividades experimentales.

Para el modelo constructivista, las ideas de los estudiantes son el punto de partida de la instrucción, sea como base para desarrollar otras más acordes con la ciencia escolar o para confrontarlas con ésta y sustituirlas, y es importante no solo su conocimiento por el docente, sino que los estudiantes se percaten de que las usan en la interpretación de fenómenos (Jiménez, 1991). El currículo se configura como un programa de actividades, de situaciones de aprendizaje en las que los estudiantes construyen sus propios significados.

En la secuencia instruccional encontramos fases de exploración de ideas, reestructuración de conocimientos, introducción de ideas nuevas y aplicación de las ideas a nuevos contextos, aunque hay diferencia sobre si la introducción de la ciencia debe hacerse por parte del docente, o si los estudiantes deben llegar a estos nuevos conceptos en un proceso de investigación dirigida. Se propone que los estudiantes se impliquen en actividades mentales, cognitivas, no solo de manipulación.

### III – 5 SISTEMA SOCIAL

En el modelo de transmisión-recepción el papel del docente es de transmisor de los conocimientos y fuente de autoridad, tanto científica como en la organización de la clase y se requiere que conozca bien la disciplina, no otros conocimientos didácticos o pedagógicos.

En el modelo de descubrimiento el papel del profesor más bien es coordinar actividades experimentales, restringiendo sus intervenciones, proporcionar oportunidades de investigar, y experiencias que ayuden al niño a desarrollar las habilidades de investigación; para ello debe contar con formación psicológica y pedagógica. Activa participación de los estudiantes.

En el modelo constructivista la responsabilidad del proceso de aprendizaje corresponde al estudiante.

### III - 6 MODELO DIDÁCTICO MÚLTIPLE

En la actualidad parece ampliamente aceptado que las personas aprenden reconstruyendo los conocimientos, poniendo en relación lo nuevo con los conocimientos que ya poseen.

La perspectiva constructivista, como modelo de aprendizaje, suscitó durante la década de los 80 un relativo consenso (Driver Guesne y Tiberghier 1989, Gil 1993, Osborne y Freyberg 1991). No todos, sin embargo están de acuerdo en que le corresponda un modelo determinado de enseñanza. Hay quien admite el constructivismo como un modelo de aprendizaje, pero cuestiona que haya que asociarlo a un modelo determinado de instrucción, argumentando por ejemplo que científicos y profesores de Ciencias no han recibido este tipo de instrucción, y comprenden las Ciencias. Ausubel establece que la instrucción es uno de los factores o condiciones del aprendizaje, no el único, pero quizás no sea adecuado hablar de independencia entre instrucción y aprendizaje.

Todo lleva a cuestionarse que haya un modelo o forma de enseñar que pueda contemplarse “como la mejor”, o “la única”; más bien, debemos inclinarnos, como Joyce y Weil (1985) a pensar que no existe un modelo perfecto, ni enfoques que resuelvan todos los problemas educativos, no hay un método que tenga éxito con la totalidad del alumnado y para todos los objetivos, la profesión de enseñar se relaciona con un dominio creciente de una variedad de modelos, ya que todos los docentes se enfrentan a una amplia gama de problemas. Esto no significa que “todo vale”, sino que, por un lado, los diferentes objetivos de la enseñanza de las Ciencias requieren un amplio repertorio de estrategias para su obtención, y por otro que, como indican Aliberas y col. (1989) cada modelo tiene un ámbito de aplicación que puede ser complementario con otros. El docente debe conocer los fundamentos epistemológicos y psicológicos de cada modelo de las ciencias experimentales y en los programas se deberán enunciar la adhesión a tales o cuales modelos seleccionados para cada actividad.

Se debe pensar que el aula de Ciencia es un sistema muy complejo, con múltiples variables, no sólo en cuanto a temas, estudiantes, materiales y docente, sino también al medio. Por lo tanto más importante que la selección de contenidos conceptuales, es la aplicación de una variada gama de modelos didácticos que permitan el logro de diferentes habilidades y desarrollo de actitud científica en el alumnado, como el deseo de conocer, indagar, etc. y actitud hacia la ciencia.

El constructivismo no ofrece una solución “lista para usar”, o una receta para solucionar los problemas de la clase de Ciencias.

Si la enseñanza de las ciencias ha de promover la adquisición de una serie de procedimientos y habilidades científicas, es clara la importancia de los trabajos prácticos, porque la ciencia es una actividad práctica además de teórica.

El elemento más característico del aprendizaje de las Ciencias, es el laboratorio de ciencias. Entendemos por laboratorio de ciencias, aquel lugar de un centro de enseñanza donde se dan algunas clases, prácticas de laboratorio o trabajos prácticos, término anglosajón para referirse a las actividades de enseñanza de las ciencias en la que los alumnos han de utilizar determinados procedimientos para resolverlas, constituyendo un todo y se retroalimentan mutuamente con las actividades en el aula.

El potencial educativo del trabajo práctico es enorme y, las teorías vigentes sobre cómo aprenden los alumnos avalan la importancia del laboratorio en la comprensión y construcción de conceptos científicos. Es frecuente que los profesores no se dan cuenta de este potencial, por lo que las lecciones impartidas en el laboratorio se convierten, a menudo, en unos ejercicios en los que, los estudiantes siguen una serie de instrucciones de las que sacan muy poco provecho en lo que se refiere a su aprendizaje básico (Friedler, Tamir 1984, Novak, Gowin 1984) y de acuerdo a estudios realizados, es debido a la falta de oportunidades que se les ofrece para aprender los conocimientos y habilidades relacionadas con los objetivos.

Tradicionalmente, los trabajos prácticos han sido utilizados como un medio para adquirir habilidades prácticas para el uso y manipulación de aparatos, para el aprendizaje de determinadas técnicas experimentales, y como una forma de ilustrar o de comprobar experimentalmente muchos de los hechos y leyes científicas presentadas previamente por parte del profesor (paradigma de enseñanza por transmisión).

Durante los años 70 se potenció una visión de los trabajos prácticos, en la que se proponía que éstos consistieran en actividades de descubrimiento de hechos, conceptos y leyes mediante el uso de los procesos de la ciencia en situaciones guiadas por el profesor (paradigma del descubrimiento orientado) (Calatayud, Gil 1978); aunque también existió una concepción más autónoma de este paradigma en el que no se ponía énfasis en las conclusiones de tipo conceptual a las que había que llegar, sino en el propio proceso de investigación (paradigma del descubrimiento autónomo). Otra visión concebía los trabajos prácticos como actividades encaminadas a aprender los procesos de la ciencia (observación, clasificación, emisión de hipótesis, realización de investigaciones),

independientemente de los contenidos conceptuales concretos sobre los que se trabajaba (paradigma de la ciencia de los procesos) (Salas 1983).

Como lo establece Caamaño en distintas oportunidades (1988 y 1990), el surgimiento de una concepción constructivista de la enseñanza y aprendizaje de la ciencia ha hecho valorar la importancia de los conocimientos previos y de las expectativas teóricas que tenemos respecto a los fenómenos que investigamos y, en consecuencia ha cuestionado la validez del paradigma de la enseñanza por descubrimiento. No se trataría tanto de descubrir como de construir este conocimiento a partir de la interacción de nuestras ideas con las de los demás y con la experiencia, teniendo en cuenta que la interpretación de esta experiencia siempre se hace a través del filtro teórico que suponen nuestras concepciones.

Caamaño (1993) propone una clasificación de dichos trabajos basados en el criterio de los objetivos que se intentan desarrollar y en la forma en que se pretenden conseguir:

- Experiencia: actividades prácticas destinadas a obtener una familiarización perceptiva con los fenómenos.
- Experimentos ilustrativos: actividades para ejemplificar principios, comprobar leyes o mejorar la comprensión de determinados conceptos operativos.
- Ejercicios prácticos: actividades diseñadas para desarrollar específicamente habilidades prácticas, estrategias de investigación, habilidades de comunicación o procesos cognitivos en un contexto científico.
- Experimento para contrastar hipótesis: actividades experimentales en las que se pretende determinar la validez de una hipótesis establecida por el profesor o por los propios alumnos.
- Investigaciones: actividades diseñadas para dar a los estudiantes la oportunidad de trabajar como los científicos o los tecnólogos en la resolución de problemas.

Otra clasificación según la modalidad (Pliego, 2000):

- Prácticas guiadas que tienen por objetivo la comprobación de leyes conocidas o ilustrar los contenidos ya desarrollados en el aula, obteniendo resultados conocidos de antemano.
- Prácticas con diseño experimentales desarrolladas por alumnos, las cuales no tienen indicación alguna acerca de la ley o principio que tienen o intentan comprobar.
- Prácticas para evaluación de concepciones alternativas. En este caso los resultados obtenidos en las experiencias de laboratorio se contraponen a las ideas previas de los alumnos.

- Prácticas de aproximación a la investigación científica implican: preparación de las condiciones de experimentación, aplicación del razonamiento deductivo y obtención de hipótesis con enunciados observacionales, los que posteriormente sirven para la realización de nuevas experiencias.

La importancia de este tipo de actividades para la enseñanza y aprendizaje de las ciencias es debido a que:

- Pueden jugar un papel importante en el incremento de la motivación hacia las ciencias experimentales.
- Permite un conocimiento vivencial de los fenómenos en estudio.
- Son una ayuda inestimable para la comprensión de los planteamientos teóricos de las ciencias (concepto, leyes y teorías).
- Facilitan la comprensión de como se elabora el conocimiento científico y en su significado.
- Son insustituibles para la enseñanza y aprendizaje de procedimientos científicos: desarrollo de habilidades prácticas (destrezas, técnicas, etc.) y de estrategias de investigación (diseño de experimentos, control de variables, tratamiento de datos).

En relación a las actitudes: promueve el interés por la asignatura de ciencia y por la ciencia en general.

Pretender que los objetivos se alcancen en poco tiempo, conducirá a resultados poco satisfactorios y fomentará una visión superficial del trabajo científico (Gil, 1986).

La realización de trabajos prácticos requiere dedicar tiempo a su preparación y afrontar y tratar de solucionar los problemas que pueden presentarse en su aplicación, lo que requiere una dosis alta de motivación por parte del docente, pero la mejor recompensa es conseguir interesar y despertar inquietudes a los alumnos por la ciencia, motivo por el cual parece justificado apostar por un papel importante en el currículo de las ciencias.

A veces al plantear los trabajos prácticos se pretende que a partir de una observación o un experimento, los alumnos lleguen a comprender o incluso a formular algún principio o concepto teórico.

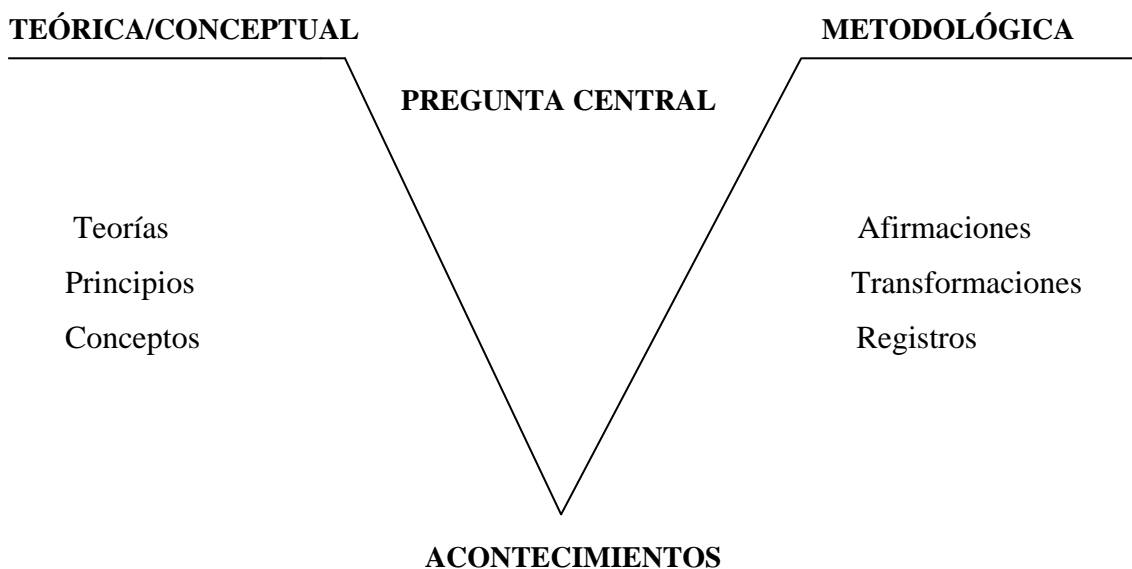
En algunas ocasiones no es suficiente con mirar. Lo que se observa, y el tiempo de razonamiento que se pone en juego está estrechamente relacionado con las ideas, más o menos implícitas que poseen los alumnos, y si no se modifican éstas, la actividad realizada podrá tener un significado muy diferente al que pretendía dársele.

Para poder realizar observaciones, considerarlas relevantes y formular la hipótesis, es necesario manejar conocimientos teóricos importantes, de lo que muchas veces no somos

conscientes porque hace años que lo hemos interiorizados y operamos con ellos, pero no es el caso de los alumnos, como así también las conclusiones que ellos sacan, están muchas veces distantes de las perseguidas por el profesor.

Los objetos y fenómenos no hablan por sí solos, hay que formularles preguntas que derivan de las ideas e intereses que se tienen. Por todo ello, las relaciones entre los aspectos teóricos y los datos e informaciones obtenidas en el trabajo práctico son fundamentales. Y estas relaciones solo pueden desarrollarse mediante un diálogo constante entre los alumnos, el profesor y las observaciones realizadas, cuyo objetivo fundamental es ayudar a interpretarlas de forma coherente a la luz de unas teorías determinadas. Este diálogo es tan importante como la realización de las observaciones o experimentos y la de superar la tradicional división entre clases teóricas y trabajos prácticos.

Un instrumento especialmente útil para ayudar establecer estas relaciones es la V heurística planteada por Gowin (Novak y Gowin 1988). Esta propuesta está orientada a facilitar una representación esquemática que relacione los aspectos teóricos y metodológicos que se ponen en juego al interpretar los resultados de una observación o experimento. La V se organiza a partir de una pregunta central, que es la que trata de resolverse. En el vértice inferior de la V se indican los objetivos o fenómenos que se observan, a la izquierda de la V los aspectos teóricos implicados y a la derecha los metodológicos.





## IV – EVALUACIÓN. FUNCIONES

### IV - 1 ENSEÑAR, APRENDER Y EVALUAR: TRES PROCESOS INSEPARABLES

El objeto de cualquier proceso de enseñanza es conseguir que todos los alumnos aprendan de forma significativa. Pero a lo largo de este proceso se encuentran con obstáculos y dificultades que no todos saben superar adecuadamente, ideas no comprendidas, errores, estrategias de resolución no adecuadas, etc. Todo ello conduce a que el alumnado se encuentre ante caminos aparentemente sin salida, es decir, a bloqueos en el proceso de aprendizaje que no siempre se pueden desactivar fácilmente.

La evaluación es uno de los principales componentes de la acción educativa y, ha contribuido de manera decisiva a los nuevos planteamientos didácticos de la enseñanza de las ciencias. Está integrada en el proceso didáctico de enseñanza-aprendizaje, forma parte de este proceso y contribuye a mejorarlo. Es continua, global, individual y útil para alumnos y profesores.

Evaluar es recoger información sobre los procesos educativos y los resultados del mismo, desde el inicio hasta el final de su desarrollo y analizada e interpretada para tomar decisiones respecto al proceso de enseñanza-aprendizaje de los alumnos y respecto a todos los factores que inciden en la calidad del proyecto de enseñanza de las ciencias.

Por ello, se puede afirmar que en las situaciones de enseñanza-aprendizaje escolar es necesario que:

- el *docente* sepa detectar las dificultades del alumnado, dónde están los obstáculos con los que se encuentra, y facilitarle el conocimiento de estrategias y recursos para que reconozca dichas dificultades y sepa cómo superarlas.
- el *estudiante* sea capaz de detectar sus errores y las causas de éstos, así como de aplicar estrategias adecuadas para corregirlos.

Observamos, pues, que enseñar y aprender está muy relacionado con evaluar.

Sin evaluación de las necesidades del alumnado, no habrá tarea efectiva del profesorado. Por ello, se puede afirmar que enseñar, aprender y evaluar son en realidad tres procesos inseparables.

Después de realizadas las actividades diseñadas para la enseñanza de determinados contenidos, es importante evaluar el nivel de los aprendizajes realizados. Esta información es útil al profesorado para reconocer la calidad de su diseño curricular y, al alumnado, para tomar conciencia de su progreso.

Las distintas finalidades de la evaluación podrían ser reunidas en tres grupos (Geli, 2000):

- Función de seguimiento del aprendizaje.
- Funciones de control de la calidad de los elementos del proyecto educativo.
- Funciones de promoción de los estudiantes en el sistema educativo.

Enseñar, aprender y evaluar son tres procesos inseparables y el objetivo de cualquier proceso de enseñanza es conseguir que los alumnos aprendan en forma significativa, y para comprobarlo, se llevaron a cabo evaluaciones en distintas instancias:

Toda actividad de evaluación es un proceso en tres etapas:

- Primera etapa: recoger información. Pretende esencialmente, informar al alumnado de la progresión de sus aprendizajes.
- Segunda etapa: analizar la información y realizar un juicio sobre el resultado de este análisis. Esta función es de carácter pedagógico o formativo, pues aporta información útil para la adaptación de las actividades de enseñanza-aprendizaje a las necesidades del alumno y de este modo, mejorar la calidad de la enseñanza en general.
- Tercera etapa: interpretar y tomar de decisiones de acuerdo con el juicio emitido.

Según el momento en que se realiza y el objetivo que se persigue, se puede distinguir diferentes tipos de evaluación.

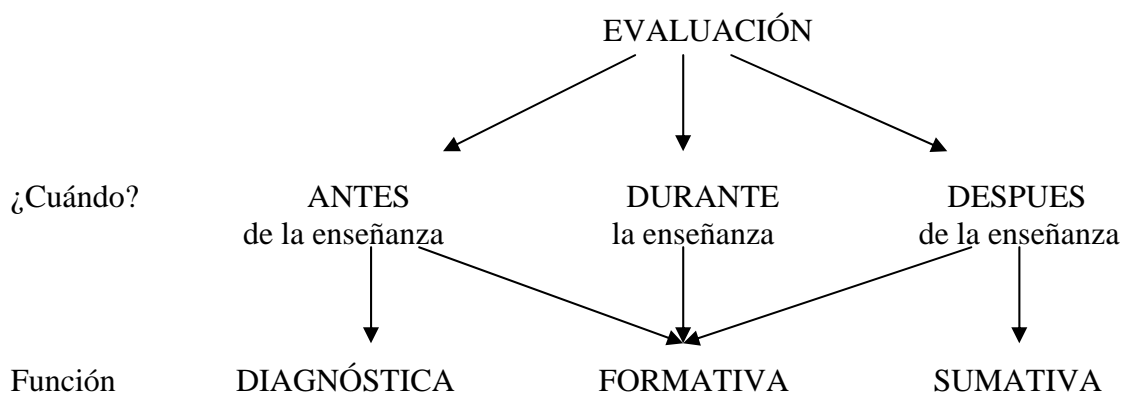
*Evaluación diagnóstica:* Enseñar implica diagnosticar. La evaluación diagnóstica inicial tiene como objetivo fundamental, analizar la situación de cada estudiante antes de iniciar un determinado proceso de enseñanza-aprendizaje, para tomar conciencia (docente-alumno) de los puntos de partida y así poder adaptar dicho proceso a las necesidades detectadas. Permite así planificar la intervención educativa de acuerdo con la situación de partida de los alumnos.

La evaluación más importante para los resultados del aprendizaje, es aquella que se lleva a cabo a lo largo del proceso de aprendizaje: *evaluación formativa*. Informa del proceso de los alumnos (evaluación del aprendizaje desde el punto de vista conceptual, de habilidades y actitudinal) y permite que el profesor adapte las actividades de enseñanza (evaluación de componentes educativos) a la evolución del aprendizaje de sus alumnos.

El rendimiento del proceso de enseñanza sólo aumentará, si se consigue regular las dificultades del alumnado en espacios de tiempo cercanos al momento en el que se producen.

Después de realizadas las actividades diseñadas para la enseñanza de determinados contenidos, es importante evaluar el nivel de los aprendizajes realizados: evaluación sumativa. Informa de los resultados obtenidos y puede tener tanto finalidad formativa como finalidad calificadora.

Se pueden poner en práctica sistemas de evaluación inicial, de evaluación a lo largo del proceso y de evaluación final tanto con finalidades formativas como con finalidades calificadora. Así, por ejemplo, una evaluación realizada mientras se está enseñando, que consista en un conjunto de exámenes o pruebas parciales, que sirven para poner nota final, no será una evaluación formativa



Luneta, V.N. (1991) Actividades prácticas no encina da ciencia. Revista de Educacao, II, 81-90

Durante el proceso de enseñanza puede aplicarse el siguiente criterio de evaluación que permite evaluar la información que el alumno posee para prever y analizar los resultados del trabajo experimental, comprensión correcta del proceso y capacidad para relacionar e interpretar en el marco científico.

#### IV - 2 CRITERIOS DE EVALUACIÓN

CRITERIOS DE EVALUACIÓN	PUNTOS
Buena apreciación de los resultados Sabe conseguir información Buen abordaje Capacidad para prever con rigor los resultados Capacidad para relacionar	9-10
Evaluación de los resultados Comprensión correcta del proceso	7-8
Evaluación de los resultados Necesita alguna ayuda para tratar los resultados	5-6
Comprensión reducida de la relevancia de los resultados Dificultad en tratar los resultados Necesita ayuda para interpretar y aplicar los resultados experimentales	3-4
Necesita mucha ayuda Escasa comprensión de todo	1-2

## **SEGUNDA PARTE**

## I – SITUACIÓN ACTUAL. RELEVANCIA DE LA PROPUESTA

### I - 1 PROBLEMA DETECTADO

La asignatura Química Biológica está destinada a una población de alumnos de las carreras de Bioquímica y Licenciatura en Biotecnología que cursan el tercer año y Licenciatura en Nutrición, el segundo año.

Como docentes de la Cátedra de Química Biológica, nos enfrentamos a varios problemas y nos planteamos interrogantes cómo:

- ¿Porqué los alumnos tienen escasa motivación al desarrollar los distintos trabajos prácticos de la asignatura Química Biológica, como integrantes de un trabajo práctico globalizador?
- ¿Por qué no se obtiene una retroalimentación mutua, es decir, interrelacionar teoría/práctica?
- ¿Por qué no se logran identificar argumentos significativos y no se llevan a cabo proceso de asimilación, comprensión, maduración y uso de conceptos básicos? .
- ¿Por qué en ocasiones, buena parte del conocimiento se esfuma, se transforma en un conocimiento olvidado, que no se recuerda, pero si a veces es recordado, llega a ser inerte e ingenuo, permitiendo sólo aprobar exámenes, pero que no se lo aplica en la práctica?

Todos estos interrogantes dan cuenta de una comprensión deficiente por parte del alumno y tienen, como lo que se denomina, “el síndrome del conocimiento frágil”, constituyendo a los trabajos prácticos en poco útiles que no cumplen con los objetivos previstos.

### I - 2 HIPÓTESIS

Integrando los distintos Trabajos Prácticos en una actividad globalizadora, enfrentando al alumno a situaciones cotidianas, relacionándolas e interpretándolas en el marco del saber científico, se puede lograr una simbiosis entre teoría y práctica que permite mejorar la aplicación de los conocimientos adquiridos.

### I - 3 OBJETIVOS

- Favorecer la comprensión de los conceptos teóricos.
- Inducir al alumno a identificar argumentos significativos y organizarlos de manera coherente.
- Lograr un verdadero proceso de asimilación y maduración de los conocimientos durante la realización de los trabajos prácticos.
- Contribuir a un cambio motivacional, despertando curiosidad, creatividad, pensamiento crítico, finalidad que permitirá promover en los alumnos que cursan Química Biológica un aprendizaje significativo.

### I - 4 PROPUESTA ANTE EL PROBLEMA

Como la ciencia además de teórica, es una actividad práctica, y una gran parte de la actividad científica tiene lugar en los laboratorios: los trabajos prácticos constituyen uno de los instrumentos más adecuados de los que se dispone para la enseñanza de las Ciencias, de modo de lograr por medio de ellos un aprendizaje significativo.

Los trabajos prácticos de Química Biológica, como partes integrantes de un trabajo práctico globalizador, sirven para analizar los distintos metabolismos (hidratos de carbono, lípidos y proteínas) ante cambios en el origen de los nutrientes e interrelacionarlos y, a modo de utilizar todo su potencial, la idea es llevar a cabo durante el desarrollo de los mismos:

- *Coloquios integradores*: los cuales tienen la finalidad de proporcionar oportunidades para que los alumnos aprendan a usar las nuevas ideas y resolver problemas haciendo uso de la experiencia, conformando creencias, actitudes y valores que desarrollen en los estudiantes un interés crítico por las actividades científicas y de este modo obtener mayores logros en los objetivos propuestos.
- *Evaluaciones en distintas instancias*: diagnóstica, para analizar la situación de cada alumno; formativa, de valor para el alumno informándole sobre su aprendizaje y proporcionándole estrategias y recursos para superarlos y para el docente a fin de detectar dificultades o errores y adaptar las actividades diseñadas para la enseñanza.

## II - DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

### II - 1 DESCRIPCIÓN DE LA EXPERIENCIA

Este trabajo de tesis se desarrolló en la Cátedra de Química Biológica de las carreras de Bioquímica y Licenciatura en Biotecnología de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral, durante los años 2003 y 2004.

Se llevaron a cabo las distintas etapas correspondientes a una actividad de investigación;

Fase pre-experimental

Fase experimental

Fase post-experimental

### II - 2 FASE PRE-EXPERIMENTAL

Los distintos trabajos prácticos que se llevan a cabo durante el cuatrimestre en la asignatura Química Biológica, están enmarcados dentro de un trabajo práctico globalizador, denominado trabajo práctico intensivo y tiene por objetivo estudiar en un modelo animal experimental:

- Los cambios metabólicos producidos al sustituir el hidratos de carbono almidón, (dieta control), polisacárido formado por unidades de glucosa, por sacarosa (dieta rica en sacarosa DRS), disacárido constituido por la unión de glucosa y fructosa, el componente lipídico, aceite de maíz, ácido linoleico (ácido graso n-6) (dieta control DC) por ácido graso n-3 eicosapentanoico y docosahexanoico (ácidos grasos poliinsaturados) (control+n-3).
- La interrelación de los metabolismos en los distintos tejidos frente a un cambio en el origen de los nutrientes.

Durante los años anteriores al comienzo del trabajo de tesis, se realizaron cuestionarios al iniciar cada trabajo práctico. Las preguntas exigían solo conocer fundamentos de los mismos.

Se realizaron preguntas tales como:

Durante el transcurso de la **segunda semana**, sobre fundamentos del dosaje de glucosa:

- 1- ¿Por qué frente a varias técnicas elegimos el método enzimático?



- 2- Fundamentos del método enzimático para el dosaje de glucosa.
- 3- ¿Por qué es necesario la preparación del blanco de reactivos?
- 4- Pasos a seguir en la determinación de glucógeno
- 5- ¿En el método utilizado en el trabajo práctico, se cuantifica directamente el glucógeno?

Durante la **tercera semana** se realizaron preguntas sobre fundamentos de “Dosaje triglicéridos en suero y tejidos” y sobre los temas tratados en el coloquio anterior tales como:

- 1- Fundamentos del test de tolerancia endovenosa a la glucosa.
- 2- ¿Porqué el animal debe estar en ayunas y qué solución debe inyectarse para realizar la prueba?
- 3- ¿Qué evalúa con esta prueba?
- 4- Describa brevemente cómo se realiza el test de tolerancia endovenoso a la glucosa.

En la **cuarta semana** sobre fundamentos de “Dosaje triglicéridos en suero y tejidos” y sobre los temas tratados en el coloquio anterior

- 1- ¿Por qué es necesario el agregado de ácido silícico en la técnica para la determinación de triglicéridos? Fundaméntelo.
- 2- Fundamentos del método de Folch modificado para la determinación de triglicéridos.

Durante la **quinta semana** sobre fundamentos de “Dosaje de triglicéridos en suero y tejidos” (2da. parte) y sobre temas tratados en el coloquio anterior.

- 1- Función que cumple:
  - a) Lavados
  - b) Peryodato de sodio
  - c) Arsenito de sodio

**Séptima semana:** Parcial

**Octava semana:** Preguntas sobre fundamentos de la “Velocidad de secreción hepática de triglicéridos” y sobre síntesis de triglicéridos hepáticos y niveles de triglicéridos plasmáticos, tales como:

- 1- ¿En la técnica para la determinación de la velocidad de secreción hepática de triglicéridos, por qué es necesario bloquear la remoción intravascular de la V.L.D.L.?
- 2- ¿Por qué razón las ratas deben estar en ayunas 12 a 16 horas?
- 3- ¿Cuál es el mecanismo por el cual se logra el bloqueo de la remoción de los triglicéridos?

**Novena semana:** se formularon preguntas del trabajo práctico: Estudio de la capacidad de remoción y sobre los temas tratados en el coloquio de la semana anterior: “Velocidad de secreción hepática de triglicéridos”

- 1- ¿Cuál es el trazador útil para el estudio de la remoción de los triglicéridos? ¿Por qué?
- 2- Explique cómo actúa el intralipid

**Décima semana:** se realizaron preguntas sobre fundamentos de los trabajos prácticos “Cromatografía en capa fina” y “dosaje de colesterol” realizados en dicha semana:

- 1- Tipo de absorbentes que conoces.
- 2- ¿Por qué es necesario una activación de las placas?
- 3- Describa los pasos a seguir para la preparación de la muestra.
- 4- Fundamentos de la técnica para el dosaje de colesterol.

**Décima primera semana:** se realizaron preguntas sobre fundamentos de los trabajos prácticos: “Dosaje de proteínas” y “Western blotting”.

- 1- Describa las etapas que se llevan a cabo al realizar el dosaje de proteínas en tejido de animales de experimentación
- 2- ¿Cuál es la finalidad de la técnica de Western blotting?

Se comprobó en distintas instancias que con dichos conocimientos básicos no era suficiente para explicar las causas de las alteraciones en los distintos metabolismos y su interrelación ante el cambio en la composición de la dieta.

Ante esto surgió la pregunta ¿cómo lograrlo?

Si recordamos lo dicho por Pozo (1987) cuando afirma que: lo que se trata es que el alumno construya su propia ciencia “subido a hombros de gigante” y no de un modelo autista, ajeno al propio progreso del descubrimiento científico, lo que se favorece con un trabajo colectivo de investigación dirigida.

Además se debe tener en cuenta:

- Cómo pueden interactuar con la nueva información proporcionada por los materiales y/o estrategias de aprendizaje, los conocimientos factuales y conceptuales que el alumno ya posee, así como sus actitudes y procedimientos.
- Para aprender un concepto es necesario establecer relaciones significativas con otros, que cuando más entrelazada esté la red que posee la persona en un área determinada, mayor será su capacidad para establecer relaciones significativas.
- Si el alumno no puede relacionar el nuevo conocimiento con otros preexistentes, la nueva información permanecerá aislada y no se producirá comprensión.

El aprendizaje puede variar desde totalmente memorístico hasta altamente significativo, sea cual fuere la estrategia institucional que se utilice. (Novack 1978)

Teniendo en cuenta lo anterior y tratando de dar una respuesta al interrogante surge una propuesta de cambio para los trabajos prácticos.<sup>57</sup>

## II - 3 FASE EXPERIMENTAL

Es necesario tener en cuenta cómo aprenden los alumnos elaborando estructuras de conocimiento que pueden ser utilizadas y transferidas en diversas situaciones, lo que avala la importancia del laboratorio en la construcción y comprensión de conceptos científicos.

Los trabajos prácticos deben cumplir con los objetivos de:

- Motivar (estimulando el interés y la diversión)
- Adquirir habilidades
- Aprender conocimientos científicos.
- Desarrollar “actitudes científicas”
- Lograr un aprendizaje sobre la naturaleza de la ciencia (Hodson, 1994), constituyéndose en un tipo de actividad importante para el proceso enseñanza-aprendizaje de las Ciencias, contribuyendo a lograr un aprendizaje significativo.

Con la finalidad de lograr dichos objetivos, se aplicó la siguiente modalidad:

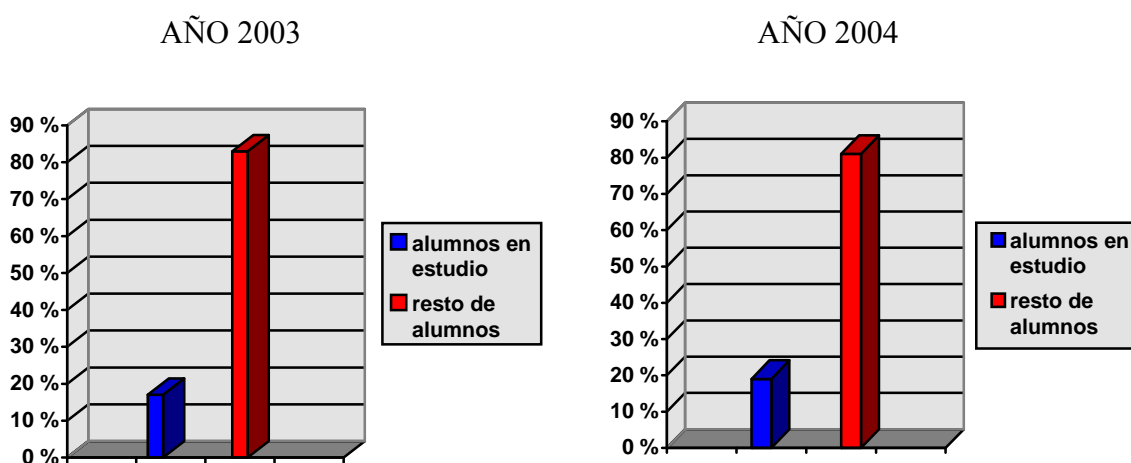
Para la realización de los trabajos prácticos, los alumnos que cursaron la asignatura se dividieron en grupos, de los cuales en uno de ellos se implementó la experiencia piloto.

El criterio para la selección de los grupos de alumnos en donde se llevó a cabo dicha experiencia, se hizo al azar. Los alumnos normalmente se inscriben en los distintos

turnos de trabajos prácticos que le propone la Cátedra, y la elección se realiza teniendo en cuenta la posibilidad de cursado simultáneo de otras materias.

En el año 2003 con un total de 120 alumnos y en el 2004 con 105, se formaron 6 grupos de aproximadamente 20 alumnos cada uno en el primer año y 6 de entre 17 y 20 en el segundo. En uno de ellos de cada año, con 20 alumnos (17 %) en el año 2003 y 20 alumnos (19 %) en el 2004, se llevaron a cabo coloquios con el objeto de integrar los trabajos prácticos y evaluaciones en distintas instancias:

- **Diagnóstica** en la primer semana de actividades, para analizar la situación del alumno.
- **Formativa** al terminar cada coloquio, sobre temas tratados en los anteriores. Esta evaluación a lo largo del proceso, es de valor para el alumno, informándole sobre su aprendizaje y, para el docente, a fin de adaptar las actividades diseñadas para la enseñanza.
- **Sumativa** al final de la enseñanza con finalidad formativa pero fundamentalmente calificadora.



## II – 4 SECUENCIA DE ACTIVIDADES

(Ver anexo 1)

### AÑO 2003

1- **Primera semana:** Se realizó una explicación del seguimiento realizado a los animales de experimentación (control de peso, comida efectiva), a los que se le había

suministrado distintos tipos de dietas (dieta control y dieta experimental). En una dieta experimental, se realizó la sustitución del hidrato de carbono (almidón por sacarosa) y en la otra el componente graso (aceite de maíz por ácidos grasos poliinsaturados n-3) . Se analizaron los componentes que suministran energía y los necesarios para el normal crecimiento. A continuación se habló sobre los distintos trabajos prácticos que se agruparon en pruebas “in vivo” y pruebas “in vitro” y sobre la obtención del material biológico a procesar.

2- **Segunda semana:** Se dieron indicaciones generales para la realización del trabajo práctico: Dosaje de glucógeno-glucosa.

Al finalizar el desarrollo del mismo se recogieron los datos, material necesario para llevar a cabo el coloquio.

Tema a desarrollados durante el coloquio:

#### **Dieta rica en sacarosa (D.R..S.)**

- Digestión de la sacarosa
- Absorción intestinal de la glucosa y de la fructosa
- Destino de los distintos hidratos de carbono, glucosa (Gl) y fructosa (Fr)
- Ingreso de la Gl y de la Fr a la célula
- Transporte de la Gl y de la Fr
- Formación de glucosa 6 fosfato y de fructosa 6 fosfato, interconversión

#### **Dieta control (D.C.) y dieta control+n-3 (C +n-3)**

- Digestión del almidón
- Absorción intestinal de la glucosa
- Destino del hidrato de carbono (glucosa)
- Ingreso de la Gl a la célula
- Transporte de la Gl
- Formación de glucosa 6 fosfato

- 
- Concepto de glucogenogénesis
  - Concepto de glucogenólisis
  - Concepto de glucólisis
  - Etapas y enzimas de la glucólisis
  - Efectos sobre la sensibilidad insulínica de la fructosa y ácidos grasos n-3

Se aclaró que para poder realizar un estudio estadístico es necesario procesar muestras correspondientes a por lo menos 5 animales de experimentación ( $n = 5$ ), y los resultados obtenidos con dicho grupo son los de una sola rata ( $n = 1$ ), pero dichos datos, sí nos darían una tendencia de las conclusiones a las que llegaríamos al efectuarlo con los correspondientes a los otros grupos de trabajos prácticos.

Estos temas se fueron desarrollando con la ayuda de preguntas orales realizadas por el docente, para guiar al alumno en la búsqueda de la información que justifique los resultados, como las siguientes:

Dieta rica en sacarosa

¿Cuál es la estructura de la sacarosa?

¿Cuál es la estructura del almidón?

¿Dónde se produce principalmente la digestión de la sacarosa y del almidón?

¿Cómo se absorbe en el intestino la glucosa y la fructosa?

Una vez absorbido ¿cómo circula y cuál es el destino de ambos?

Una vez en el hígado ¿cuál es la primera transformación que sufren ambos?

Dieta control+n-3

Diferencias entre el aceite de maíz y el aceite de hígado de bacalao

¿Qué efecto tienen los ácidos grasos n-3 sobre el metabolismo de los hidratos de carbono?

3- **Tercera semana:** Desarrollo del trabajo práctico: Test de tolerancia endovenoso a la glucosa.

Al igual que la semana anterior se realizaron preguntas orales guías similares, para lograr una revisión de los temas ya tratados además de las correspondientes al trabajo práctico desarrollado en ese día.

Dieta rica en sacarosa y control+n-3

¿Qué finalidad tiene un test de tolerancia a la glucosa?

¿Qué nos estaría indicando si éste fuera normal o si fuera alterado?

Estas preguntas tienen por finalidad desarrollar los siguientes temas:

- Fines por lo que se efectúa el test de tolerancia endovenoso a la glucosa.
- Glucemia basal y post-estímulo
- Fallas en el metabolismo de la glucosa (fallas en el mecanismo de utilización de la glucosa) (DRS). Mejor utilización en la dieta control+n-3

- Introducción de los conceptos de hormonas hiper e hipoglucemiantes. Relación insulina/glucagon. Sensibilidad insulínica. Hiperinsulinemia. Resistencia insulínica.

Se analizaron los resultados obtenidos al procesar muestras de animales alimentados con las 3 dietas (D.R.S./ Control - Control + n-3/Control)

4- **Cuarta y quinta semana:** Desarrollo del trabajo práctico: Extracción y dosaje de triglicéridos en suero y tejido.

Mediante preguntas orales similares a las realizadas en semanas anteriores y otras como:

¿Cómo se produce la síntesis hepática de triglicéridos?

¿La glucosa o la fructosa produce mayor síntesis de acetil CoA? ¿Por qué?

¿Están aumentadas o disminuidas las enzimas lipogénicas al sustituir ácidos grasos n-6 por n-3?

Se realizó una revisión de los temas tratados en las semanas anteriores para luego incorporar los conocimientos teóricos relacionados con el trabajo práctico que se desarrolló.

Se analizó:

Síntesis hepática de triglicéridos.

Causas por lo que el metabolismo de la fructosa conduce a una producción descontrolada de acetil CoA. Efectos de los ácidos grasos n-3

5- **Octava semana:** Desarrollo del trabajo práctico: Velocidad de secreción de pre- $\beta$  lipoproteína-TG

Se realizó una revisión de lo visto hasta esta instancia además de la discusión de los resultados del trabajo práctico realizado en ese día.

Los alumnos fueron guiados con preguntas orales similares a las realizadas en semanas anteriores, además de analizar la velocidad de secreción en dietas ricas en sacarosa y control +n-3 con respecto a sus controles:

¿La secreción de triglicéridos hepáticos está aumentada o disminuida en la dieta rica en sacarosa y control+n-3, con respecto a sus controles? ¿Por qué?

6- **Novena semana:** Desarrollo del trabajo práctico: “Estudio de la capacidad de remoción de triglicéridos “in vivo”, test de tolerancia grasa endovenoso”.

Revisión de los conceptos de la semana anterior, poniendo fundamental énfasis en los de la remoción de los triglicéridos.

¿La remoción de triglicéridos plasmáticos, está aumentada o disminuida en la dieta rica en sacarosa y control+n-3 con respecto a sus controles? ¿Por qué?

¿Cómo se produce la remoción?

¿Cuál es el destino de esos triglicéridos?

7- **Décima semana:** Desarrollo de los trabajos prácticos: “Cromatografía en capa delgada de lípidos” y “Determinación de colesterol”

Se analizaron los trabajos prácticos mencionados mediante preguntas orales guías, realizadas por el docente.

¿Qué lípidos podemos separar en una muestra de hígado o suero de animales alimentados con las distintas dietas, utilizando una cromatografía en capa delgada monodimensional ascendente?

Si se sembraran la misma cantidad de muestras correspondientes a las distintas dietas

¿qué tamaño tendrían las manchas de cada lípido separado en cada dieta?

¿Cuál es el precursor del colesterol?

¿Los valores del colesterol, en cada una de las dietas con respecto a su control, estarán aumentados o disminuidos? ¿Por qué?

8- **Décima primera semana:** Desarrollo de los trabajos prácticos: “Determinación de proteínas en tejidos de animales alimentados con distintos tipos de dietas, por el método fenol de Folin” y “Western blotting”.

Las preguntas guías fueron:

Las proteínas son constituyentes de las membranas biológicas, ¿qué finalidad tiene la determinación de las mismas?

¿Los resultados obtenidos están en relación con las curvas de peso que hemos construido?

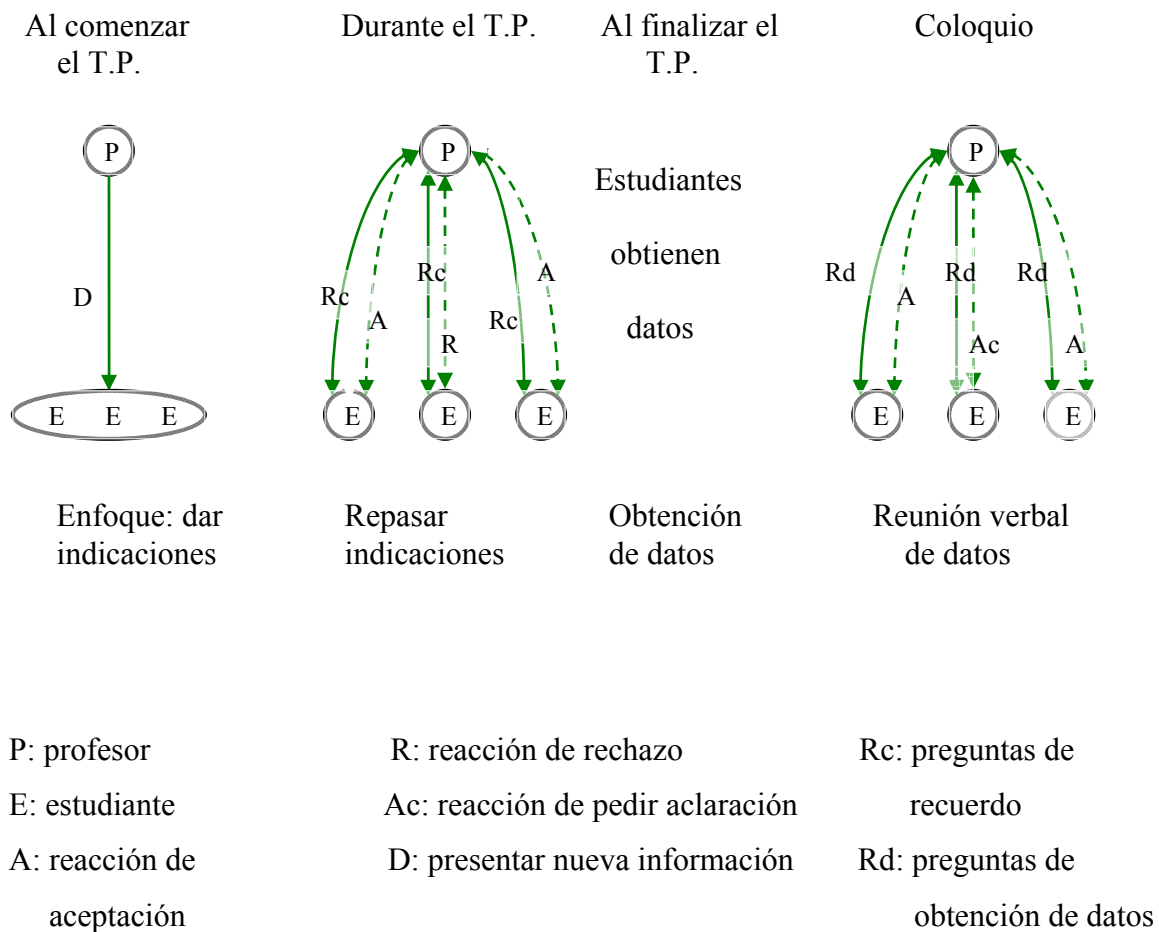
Western blotting: ¿cuál es la finalidad de esta determinación?

En la última semana (**semana XII**), se realizó un **coloquio integrador**, donde se analizaron los resultados de todos los trabajos prácticos realizados durante el cuatrimestre, justificándolos con los conocimientos teóricos, es decir, una recopilación de los temas tratados en los coloquios llevados a cabo durante el cursado con el aporte del



diagrama UVE que como lo establece Novack y Gowin en el capítulo: “Aprendiendo a aprender”: El diagrama de UVE es una estrategia sencilla pero útil para ayudar a los estudiante a organizar los conocimientos y fijarlos, a aprender, porque a veces las ideas simples son tan evidentes que resultan oscuras.

El propósito de estos trabajos prácticos es hacer que los estudiantes se acostumbren a encontrar relaciones entre los datos obtenidos, y a partir de ellos lograr hacer generalizaciones.



### AÑO 2004

Durante el transcurso del segundo año (2004) sólo se llevaron a cabo dos coloquios agrupando en áreas: hidratos de carbono y lípidos.

- **Hidratos de carbono:** El coloquio se realizó en la tercera semana. Se integraron los trabajos prácticos: “Determinación de glucosa-glucógeno” y “Test de tolerancia endovenoso a la glucosa”.

Los temas se desarrollaron guiando al alumno con preguntas orales realizadas por el docente con la finalidad de justificar los resultados obtenidos en los trabajos prácticos mencionados, tales como:

Dieta rica en sacarosa

- Diferencias en la composición de las dietas.
- ¿Cuál es la estructura de la sacarosa?
- ¿Cuál es la estructura del almidón?
- ¿Dónde se produce la digestión de dichos hidratos de carbono?
- Diferencias en la absorción de la glucosa y de la fructosa. ¿Cuál es el destino de ambos?
- ¿Cuál es la finalidad por la que se realiza un test de tolerancia endovenoso a la glucosa?
- ¿Qué nos estaría indicando si éste es normal o alterado?

Dieta control+n-3

Diferencias entre el aceite de maíz y el aceite de hígado de bacalao.

¿Qué efecto tienen los ácidos grasos n-3 sobre el metabolismo de los hidratos de carbono?

¿Qué efecto sobre la sensibilidad insulínica?

Estas preguntas tienen por finalidad desarrollar los siguientes temas:

- Fines por lo que se efectúa el test de tolerancia endovenoso a la glucosa.
- Glucemia basal y post-estímulo
- Fallas en el metabolismo de la glucosa (fallas en el mecanismo de utilización de la glucosa) (DRS)
- Introducción de los conceptos de hormonas hiper e hipoglucemiantes. Relación insulina/glucagon. Sensibilidad insulínica. Hiperinsulinemia. Resistencia insulínica.

**Lípidos:** El coloquio se realizó en la novena semana.

Se integraron los trabajos prácticos: “Determinación de triglicéridos en suero y tejido”, “Velocidad de secreción de pre  $\beta$  lipoproteínas” “Estudio de la capacidad de remoción de triglicéridos “in vivo”, test de tolerancia grasa endovenoso”.

Las preguntas orales guías fueron:

Dieta rica en sacarosa y control +n-3

¿Cómo se produce la síntesis hepática de triglicéridos?

¿La glucosa o la fructosa produce mayor síntesis de acetil CoA? ¿Por qué?

¿Están aumentadas o disminuidas las enzimas lipogénicas al sustituir ácidos grasos n-6 por n-3?

¿La secreción de triglicéridos hepáticos está aumentada o disminuida? ¿Por qué?

¿La remoción de triglicéridos plasmáticos, está aumentada o disminuida? ¿Por qué?

¿Cómo se produce la remoción?

¿Cuál es el destino de esos triglicéridos?

Se analizó:

- Síntesis hepática de triglicéridos.

- Causas por lo que el metabolismo de la fructosa conduce a una producción descontrolada de acetil CoA. Efecto de los ácidos grasos n-3 sobre las enzimas lipogénicas.

- Influencia de la secreción y remoción de los triglicéridos en los niveles de los triglicéridos plasmáticos.

En los dos años, en el resto de los grupos (5 turnos restantes), no se llevaron a cabo coloquios durante el cursado, sólo se realizó uno en la última semana, donde se analizaron los resultados de todos los trabajos prácticos y su justificación teórica.

Durante la realización de los coloquios (año 2003 y 2004) se constató a menudo en parte del alumnado, grandes dificultades con que se enfrentan a la hora de expresar y organizar un conjunto de ideas, desde el punto de vista científico, por su rigor, precisión, estructuración y coherencia.

Además, se puede comprobar en el año 2004, dificultades para identificar argumentos significativos y organizarlos de manera coherente y distinguir términos de uso científico de los de uso cotidiano, no observándose dicha dificultad en el año 2003, al realizar coloquios semanales, para integrar cada trabajo práctico.

Estas dificultades se deben probablemente atribuir, a la adquisición de muchos contenidos con la finalidad de integrar los trabajos prácticos de cada área, en una sola clase.

## II - 5 EVALUACIÓN

EN EL AÑO 2003:

### EVALUACIÓN ANTES DE LA ENSEÑANZA

Se realizó una evaluación de carácter diagnóstico en la primer semana de cursado al finalizar la explicación del trabajo práctico globalizador, sobre conocimientos básicos ya adquiridos en otras asignaturas, y que debían ser utilizados en los distintos trabajos prácticos.

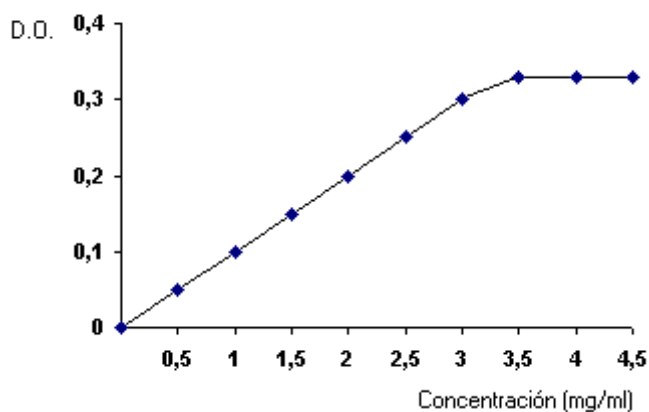
#### Cuestionario diagnóstico

- 1- a) Explique brevemente qué entiende por solución patrón, standard o testigo.  
b) ¿Qué material volumétrico de laboratorio debe utilizar para la preparación de un standard siendo: a) droga sólida o b) droga líquida? (marcar con una cruz: droga sólida, dos cruces: droga líquida):

- probeta
- vaso de precipitado
- matraz
- erlenmeyer
- pipeta volumétrica

Justifique la respuesta.

- 2- Se mide la absorbancia de una muestra que se hizo reaccionar con un reactivo de color y se obtiene D.O. = 0,36. La curva de calibrado es la siguiente:



- a) ¿Puede decir cuál es la concentración de la muestra?
- b) Si debiera hacer una dilución, ¿cómo la realizaría? (marcar con una cruz la opción más conveniente)
- diluiría la preparación final con agua
  - diluiría la preparación final con reactivo de color
  - diluiría la muestra inicial y comenzaría nuevamente la técnica
- 3- a) ¿Ha trabajado alguna vez con animales de experimentación?
- b) ¿Qué tipo de muestras biológicas ha utilizado?
- plasma
  - suero
  - tejidos
- 4- ¿Cuál es la composición química de la glucosa y del colesterol? ¿Cuál es el lípido y cuál el hidrato de carbono?
- 5- a) ¿Cuál es la estructura básica del ADN?
- b) ¿En qué solvente es soluble?

#### EVALUACIÓN DURANTE EL PROCESO DE ENSEÑANZA.

En las semanas siguientes se realizaron cuestionarios que además de llevar a cabo una interrelación con los trabajos anteriormente desarrollados requerían conceptos analizados en los coloquios, y fundamentos del correspondiente a ese día, para permitir su realización. Este último punto se evaluó en todos los grupos de alumnos, con preguntas similares a las formuladas a todo el alumnado hasta comenzar con el trabajo de tesis.

Las evaluaciones realizadas a lo largo del proceso de enseñanza, tuvieron por objetivo realizar funciones de seguimiento del aprendizaje.

Se adoptó el criterio de evaluación anteriormente mencionado, analizando el desempeño durante el desarrollo, informes y análisis de los resultados.

**Segunda semana:** La evaluación que se realizó en esa semana fue en el grupo de la experiencia al igual que en el resto de los alumnos, sobre fundamentos del trabajo práctico (Dosaje de glucosa-glucógeno)

Las preguntas realizadas fueron:

- 1- ¿Por qué frente a varias técnicas, elegimos el método enzimático?

- 2- Fundamentos del método enzimático para el dosaje de glucosa.
- 3- ¿Por qué es necesario la preparación del blanco de reactivos?
- 4- Pasos a seguir en la determinación de glucógeno
- 5- ¿En el método utilizado en el trabajo práctico, se cuantifica directamente el glucógeno?

### **Tercera semana:**

En el grupo de la experiencia se realizaron preguntas sobre los fundamentos del trabajo práctico a realizar (test de tolerancia a la glucosa endovenoso) y sobre los temas desarrollados en el coloquio de la semana anterior.

En el resto del alumnado solamente sobre fundamentos del trabajo práctico.

### **Preguntas a contestar por el grupo de la experiencia**

- 1- Fundamentos del test de tolerancia endovenosa a la glucosa.
- 2- ¿Por qué el animal debe estar en ayunas y qué solución debe inyectarse para realizar la prueba?
- 3- ¿Qué evalúa con esta prueba?
- 4- Similitudes y diferencias entre las dietas D.R.S (dieta rica en sacarosa) vs. C (control). y C+n-3 (control + ácidos grasos n-3) vs. C (control).
- 5- ¿Qué es la sacarosa? ¿Cómo ingresa al organismo? ¿Cómo se absorbe?

### **Grupo de alumnos con sistema tradicional**

Describe brevemente cómo se realiza el test de tolerancia endovenoso a la glucosa.

**Cuarta semana: Preguntas para el grupo piloto** sobre fundamentos de “Extracción triglicéridos en suero y tejidos” y sobre los temas tratados en el coloquio anterior.

- 1- ¿Por qué es necesario el agregado de ácido silícico en la técnica para la determinación de triglicéridos? Fundaméntelo.
- 2- ¿Cómo es la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con D.R.S. con respecto a la dieta control?

### **Preguntas para el grupo tradicional**

Fundamentos del método de Folch modificado para la determinación de triglicéridos.

¿Si no se realiza el tratamiento con ácido silícico, el resultado daría en exceso o en defecto con respecto al verdadero?

**Quinta semana: Preguntas para el grupo piloto:** sobre fundamentos de “Dosaje triglicéridos en suero y tejidos” y sobre temas tratados en el coloquio anterior.

1- Función que cumple:

- a) Lavados
- b) Peryodato de sodio
- c) Arsenito de sodio

2-¿Cómo esperaría encontrar los triglicéridos plasmáticos y los hepáticos?  
Fundaméntelo

**Pregunta para el grupo tradicional**

Función que cumple:

- a) Lavados
- b) Peryodato de sodio
- c) Arsenito de sodio

**Séptima semana:** Semana de Parcial

**Octava semana: Preguntas para el grupo piloto** sobre fundamentos de la “Velocidad de secreción hepática de triglicéridos” y sobre síntesis de triglicéridos hepáticos y niveles de triglicéridos plasmáticos.

- 1- ¿En la técnica para la determinación de la velocidad de secreción hepática de triglicéridos, por qué es necesario bloquear la remoción intravascular de la V.L.D.L.?
- 2- ¿Por qué razón las ratas deben estar en ayunas 12 a 16 horas?
- 3- El pool de triglicéridos plasmáticos ¿depende únicamente de la secreción hepática de triglicéridos?
- 4- ¿Cómo se explica que haya acúmulo de triglicéridos en hígado si hay una gran salida de V.L.D.L. –T.G. en la dieta rica en sacarosa?

### **Alumnos del grupo tradicional**

- 1- ¿Cuál es el mecanismo por el cual se logra el bloqueo de la remoción de los triglicéridos?
- 2-¿Cómo actúa el agente no iónico Triton?

**Novena semana:** En el **grupo piloto** se formularon preguntas del trabajo práctico: “Estudio de la capacidad de remoción” y sobre los temas tratados en el coloquio de la semana anterior: “Velocidad de secreción hepática de triglicéridos”

- 1- ¿Cuál es el trazador útil para el estudio de la remoción de los triglicéridos? ¿Por qué?
- 2- ¿Cómo se encuentra la secreción de los triglicéridos en la dieta rica en sacarosa con respecto a la dieta control?
- 3- ¿Cómo se encuentra la secreción de los triglicéridos en la dieta control + n-3 con respecto a la dieta control?

### **Preguntas para el grupo tradicional**

Explique cómo actúa el intralipid.

**Décima semana:** En el **grupo piloto** se realizaron preguntas sobre fundamentos de los trabajos prácticos “Cromatografía en capa fina” y “dosaje de colesterol” realizados en dicha semana:

- 1- Tipo de absorbentes que conoces.
- 2- ¿Por qué es necesario una activación de las placas?
- 3- Describa los pasos a seguir para la preparación de la muestra.
- 4- Fundamentos de la técnica para el dosaje de colesterol.
- 5- ¿Cómo se encuentra la remoción de los triglicéridos en la dieta rica en sacarosa con respecto a la control?
- 6- ¿Cómo se encuentra la remoción de los triglicéridos en la dieta control + n-3 con respecto a la control?

### **Preguntas para el grupo tradicional**

- 1- Tipo de absorbentes que conoces.
- 2- ¿Por qué es necesario una activación de las placas?
- 3- Describa los pasos a seguir para la preparación de la muestra.



4- Fundamentos de la técnica para el dosaje de colesterol.

**Décima primera semana: En el grupo piloto** se realizaron preguntas sobre fundamentos de los trabajos prácticos: “Dosaje de proteínas” y “Western blotting”.

- 1- Describa las etapas que se llevan a cabo al realizar el dosaje de proteínas en tejido de animales de experimentación.
- 2- ¿Cuál es la finalidad de la técnica de Western blotting?
- 3- ¿Cuál es el precursor en la síntesis de colesterol?
- 4- ¿Cómo podemos esperar los niveles de colesterol en los distintos tipos de dietas experimentales con respecto a la control?

#### **Preguntas para el grupo tradicional**

- 1- Describa las etapas que se llevan a cabo al realizar el dosaje de proteínas en tejido de animales de experimentación.
- 2- ¿Cuál es la finalidad de la técnica de Western blotting?

#### **EVALUACIÓN DESPUÉS DE LA ENSEÑANZA**

Al finalizar el cursado se llevó a cabo una evaluación con funciones de promoción a todos los alumnos que cursaban la asignatura, cuyas preguntas fueron de un grado de complejidad similar al realizado al grupo de la experiencia durante el cursado.

- 1- ¿Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+n-3)? Puntaje: 2 pts.
- 2- ¿Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? ¿Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 pts
- 3- En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 pts.
- 4- ¿Cómo se encuentra los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 pts
- 5- ¿Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? ¿Qué respuesta esperaríamos encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC ? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 pts.

EN EL AÑO **2004**:

#### EVALUACIÓN ANTES DE LA ENSEÑANZA

Se realizó una evaluación de carácter diagnóstico similar al del año anterior, en la primera semana de cursado al finalizar la explicación del trabajo práctico intensivo, sobre conocimientos básicos ya adquiridos en otras asignaturas, y que debían ser utilizados en los distintos trabajos prácticos.

#### EVALUACIÓN DURANTE EL PROCESO DE ENSEÑANZA.

Durante el transcurso del **segundo año (2004)**, sólo se llevaron a cabo dos evaluaciones en las semanas siguientes de haber realizado el coloquio integrador, cuyas preguntas fueron similares a la del año 2003 en cuanto a los contenidos a desarrollar, pero en mayor cantidad debido a que fueron agrupados en dos áreas.

Preguntas realizadas al grupo en estudio durante el cuatrimestre del año 2004, sólo en dos oportunidades.

#### PREGUNTAS SOBRE HIDRATOS DE CARBONO

A la semana siguiente de la finalización de los trabajos prácticos correspondientes al área, se realizó el siguiente cuestionario:

- 1- Similitudes y diferencias entre las dietas: D.R.S. vs. C y C + n-3 vs.C
- 2- ¿Qué es la sacarosa? ¿Cómo ingresa al organismo? ¿Cómo se absorbe?
- 3- ¿En qué se diferencia la sacarosa del almidón? ¿Cómo ingresa el almidón al organismo? ¿Cómo se absorbe?
- 4- ¿Cómo es la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con D.R.S. con respecto a la control?

## PREGUNTAS SOBRE LÍPIDOS

A la semana siguiente de la finalización de los trabajos prácticos correspondientes al área, se realizó el siguiente cuestionario:

- 1- El pool de triglicéridos ¿depende únicamente de la secreción hepática?
- 2- ¿Cómo explica que haya acúmulo de triglicéridos en hígado, si hay una gran salida de V.L.D.L.-TG en la dieta rica en sacarosa?
- 3- ¿Cómo se encuentra la secreción de triglicéridos hepáticos en la dieta control + n-3 con respecto a su control?
- 4- ¿Cómo se encuentra la remoción de triglicéridos plasmáticos en la dieta rica en sacarosa y en la control + n-3 con respecto a sus controles?

## EVALUACIÓN DESPUÉS DE LA ENSEÑANZA

Al finalizar el cursado (en ambos períodos) se llevó a cabo una evaluación con funciones de promoción a todos los alumnos que cursaban la asignatura, con preguntas con un grado de complejidad similar al realizado durante el cursado con el grupo de la experiencia.

### CUESTIONARIO A

- 1- ¿Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC + n-3)? Puntaje : 2 pts
- 2- ¿Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? ¿Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 pts.
- 3- En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 pts.
- 4- ¿Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 pts.
- 5- ¿Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? ¿Qué respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC? Justifique la respuesta. Puntaje: 2 pts.

## CUESTIONARIO B

- 1- ¿Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC + n-3)? Puntaje: 2 ptos.
- 2- ¿Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DC + n-3? Puntaje: 2 ptos.
- 3- En animales alimentados con DC + n-3 ¿indique a qué se debe la disminución de los TG plasmáticos? Puntaje: 2 ptos.
- 4- ¿Cómo se encuentra los TG hepáticos en animales alimentados con DRS? Justifique la respuesta. Puntaje: 2 ptos.
- 5- ¿Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de los TG? ¿Qué respuesta esperaría en animales alimentados con DRS respecto a los animales alimentados con DC? Puntaje: 2 ptos.

### III – RESULTADOS Y DISCUSIÓN SOBRE LA EVALUACIÓN DIAGNÓSTICA

**AÑO 2003 Y 2004**

RESPUESTAS ESPERADAS AL CUESTIONARIO REALIZADO DURANTE LA EVALUACIÓN DIAGNÓSTICA

1- a) **Solución de reactivo de composición y concentración conocida con exactitud que se utiliza en una valoración**

b) - probeta - vaso de precipitado **x (para pesar)**

- matraz **x (para llevar a volumen)** - erlenmeyer

**xx (para llevar a volumen)**

- pipeta volumétrica **xx (para medir los líquidos)**

2- a) **No se puede decir cuál es la concentración porque está en el límite de la linealidad.**

b) diluiría la muestra inicial y comenzaría nuevamente la técnica (si tuviera muestra), o diluiría la preparación final con reactivo de color **x (si no tuviera muestra) x**

4- **Glucosa: C-H-O hidrato de carbono      colesterol: C-H-O lípido**

5-a) **Es una doble hélice. Los nucleótidos están formados por bases púricas (adenina) y pirimídicas (citosina).**

b) **Orgánico**

A continuación se hace mención a respuestas de cuatro alumnos (**A, B, C y D**) elegidos al azar del **grupo piloto** y dos del **grupo tradicional (E y F)** correspondientes al año **2003** y cinco (**A, B, C, D y E**) del **grupo piloto** y dos del **tradicional (F y G)** del año **2004**.

**AÑO 2003**

**Respuestas al cuestionario diagnóstico realizado por el alumno A (grupo piloto)**

1- a) **Solución de reactivo de concentración conocida**

- b) - probeta **x (para llevar a volumen)** - vaso de precipitado **x (para pesar)**  
**xx (para medir los líquidos)**
- matraz - erlenmeyer
- pipeta volumétrica

2- a) **3,5mg/ml.**

- b) -diluiría la preparación final con reactivo de color **x**

3- a) **sí**

- b) -plasma **x**  
-tejidos **x**

4- **Glucosa: C-H-O hidrato de carbono----colesterol: C-H-O lípido**

5- a) **Es una doble hélice. Los nucleótidos están formados por bases púricas y pirimídicas.**

- b) **orgánico**

**Respuestas al cuestionario diagnóstico realizado por el alumno B (grupo piloto)**

1- a) **Solución de reactivo de composición y concentración conocida con exactitud que se utiliza en una valoración.**

- b) - probeta **xx (para medir los líquidos)** - vaso de precipitado **x (para pesar)**  
- matraz **x (para llevar a volumen)** - erlenmeyer **x (para disolver)**  
**xx (para llevar a volumen)**
- pipeta volumétrica

2- a) **No se puede decir cuál es la concentración porque está en el límite de la linealidad**

- b) diluiría la muestra inicial y comenzaría nuevamente la técnica (si tuviera muestra) **x**

3-a) **sí**

b) - plasma **x**

- tejidos **x**

4- **Glucosa: C-H-O hidrato de carbono      colesterol: C-H-O lípido**

5- a) **Es una doble hélice formado por bases púricas y pirimídicas.**

b) **Orgánico**

### **Respuestas al cuestionario diagnóstico realizado por el alumno C (grupo piloto)**

1- a) **Solución de concentración exacta**

b) - probeta **x (para llevar a volumen)**      - vaso de precipitado **x (para pesar)**

**xx (para medir los volúmenes)**

- matraz

- erlenmeyer

- pipeta volumétrica

2- a) **3,5mg/ml.**

b) -diluiría la preparación final con reactivo de color **x**

3- a) **sí**

b) - plasma **x**

- tejidos **x**

4- **Glucosa: C-H-O hidrato de carbono      colesterol: C-H-O lípido**

5- a) **Es una doble hélice. Los nucleótidos están formados por bases púricas (adenina) y pirimídicas (citosina).**

b) **Orgánico**

### **Respuestas al cuestionario diagnóstico realizado por el alumno D (grupo piloto)**

1- a) **Solución de reactivo de concentración conocida**

b) - probeta **x (para llevar a volumen)**      - vaso de precipitado **x (para medir los volúmenes)**

- matraz

- erlenmeyer **x**

- pipeta volumétrica

2- a) **3,5mg/ml.**

b) diluiría la muestra inicial y comenzaría nuevamente la técnica (si tuviera muestra) **x**

3- a) **sí**

b) - plasma **x**

- tejidos **x**







4- **Glucosa: C-H-O hidrato de carbono**                      **colesterol: C-H-O lípido**

5- a) **Es una doble hélice. Los nucleótidos están formados por bases púricas y pirimídicas.**

b) **Orgánico**

**Respuestas al cuestionario diagnóstico realizado por el alumno C (grupo piloto)**

1- a) **Solución de reactivo de composición y concentración conocida con exactitud que se utiliza en una valoración.**

b) - probeta **xx (para medir los líquidos)**       - vaso de precipitado **x (para pesar)**  
- matraz **x (para llevar a volumen)**       - erlenmeyer **x (para disolver)**  
**xx (para llevar a volumen)**  
- pipeta volumétrica

2- a) **No se puede decir cuál es la concentración porque está en el límite de la linealidad**

b) diluiría la muestra inicial y comenzaría nuevamente la técnica **(si tuviera muestra) x**

3- a) **Sí**

b) - plasma **x**  
- tejidos **x**

4- **Glucosa: C-H-O hidrato de carbono**                      **colesterol: C-H-O lípido**

5- a) **Es una doble hélice. Los nucleótidos están formados por bases púricas (adenina) y pirimídicas (citosina).**

b) **Orgánico**

**Respuestas al cuestionario diagnóstico realizado por el alumno D (grupo piloto)**

1- a) **Solución de reactivo de composición y concentración conocida con exactitud que se utiliza en una valoración.**

b) - probeta **xx (para medir los líquidos)**       - vaso de precipitado **x (para pesar)**  
- matraz **x (para llevar a volumen)**       - erlenmeyer **x (para disolver)**  
**xx (para llevar a volumen)**  
- pipeta volumétrica

2- a) **3,5 mg/ml.**

b) diluiría la preparación final con reactivo de color **x**

3- a) **Sí**

b) - plasma **x**



b) - plasma **x**

- tejidos **x**

4- **Glucosa: C-H-O hidrato de carbono**                      **colesterol: C-H-O lípido**

5- a) **Es una doble hélice. Los nucleótidos están formados por bases púricas (adenina) y pirimídicas (citosina).**

b) **Orgánico**

**Respuestas al cuestionario diagnóstico realizado por el alumno G (grupo tradicional)**

1- a) **Solución de reactivo de concentración conocida**

b) - probeta **x** (**para llevar a volumen**) - vaso de precipitado **x** (**para medir los volúmenes**)

- matraz

- erlenmeyer **x**

- pipeta volumétrica

2- a) **3,5mg/ml.**

b) diluiría la preparación final con reactivo de color **x**

3- a) **Sí**

b)- plasma **x**

- tejidos **x**

4- **Glucosa: C-H-O hidrato de carbono**                      **colesterol: C-H-O lípido**

5- a) **Es una doble hélice. Los nucleótidos están formados por bases púricas y pirimídicas.**

Se obtuvo el siguiente porcentaje de respuestas correctas:

AÑO	GRUPO PILOTO		GRUPO TRADICIONAL	
	2003	2004	2003	2004
Pregunta 1 a)	70 %	65 %	65 %	67 %
Pregunta 1 b)	40 %	42 %	30 %	33 %
Pregunta 2 a)	45 %	46 %	43 %	49 %
b)	65 %	67 %	63 %	60 %
Pregunta 4	90 %	90 %	92 %	90 %
Pregunta 5 a) y b)	85 %	85 %	85 %	84 %

Si analizamos las respuestas al cuestionario de carácter diagnóstico, podemos encontrar definiciones muy empíricas acerca de lo que es una solución patrón o standard sin distinción de los grupos piloto y tradicional.

Lo mismo sucede con respecto con el inciso b) de la primera pregunta, sobre la importancia del material a usar para la preparación de una solución standard.

Con respecto a la segunda pregunta, los alumnos de ambos grupos no poseen conceptos claros de linealidad a la hora de definir cuál es el límite de uso de la curva densidad óptica en función de la concentración; conceptos básicos que deberían haber logrado en asignaturas anteriores.

## IV – RESULTADOS Y DISCUSIÓN SOBRE LA EVALUACIÓN A LO LARGO DEL PROCESO DE ENSEÑANZA

### AÑO 2003

Respuestas esperadas para el grupo piloto:

- 1- Porque es una técnica sencilla, rápida, específica.
- 2- La  $\delta$ gluconolactona se forma por oxidación aerobia de la glucosa catalizada por la enzima glucosa oxidasa.  
$$\beta \text{ D-glucosa} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{glucosa oxidasa}} \delta\text{gluconolactona} + \text{H}_2\text{O}_2$$

El  $\text{H}_2\text{O}_2$  producida en presencia de peroxidasa forma una quinona coloreada con un pico de absorción a 505 nm cuya intensidad de color es proporcional a la concentración de glucosa.
- 3- Porque pueden desarrollar color los reactivos y su D.O. debe ser restada a la de los testigos y muestras.
- 4- 1- Hidrólisis ácida y en caliente.  
2- Neutralizar y centrifugar.  
3- En el sobrenadante se cuantifica las unidades de glucosa por el método enzimático.
- 5- No, se realiza una determinación de glucosa que se obtiene de la hidrólisis ácida y en caliente del glucógeno.

Las respuestas a las preguntas realizadas al **grupo piloto** en la **segunda semana** fueron:

#### **Respuestas de un alumno A:**

- 1- Técnica más sencilla y rápida.
- 2- La glucosa es oxidada a gluconolactona por la glucosa oxidasa. El peróxido de hidrógeno producido en presencia de peroxidasa, 4-AF y fenol forma una quinina cuya intensidad de color es proporcional a la concentración de glucosa.
- 3- Porque puede producir color y se debe corregir las lecturas de los testigos y de las muestras con el blanco.
- 4- 1- Hidrólisis ácida y en caliente.  
2- Neutralizar y centrifugar.  
3- En el sobrenadante se cuantifica las unidades de glucosa por el método enzimático.
- 5- No, se realiza a través del dosaje de glucosa.

### **Respuestas de un alumno B**

- 1- Técnica más rápida, sencilla y específica
- 2- La glucosa es oxidada a gluconolactona por la glucosa oxidasa. El peróxido de hidrógeno producido en presencia de peroxidasa, 4-AF y fenol forma una quinina cuya intensidad de color es proporcional a la concentración de glucosa.
- 3- Porque pueden desarrollar color los reactivos y se debe restar las D.O. al testigo y a las muestras.
- 4- 1- Hidrólisis ácida y en caliente.  
2- Neutralizar y centrifugar.  
3- En el sobrenadante se cuantifica las unidades de glucosa por el método enzimático.
- 5- No, se realiza una determinación de glucosa que se obtiene de la hidrólisis ácida y en caliente del glucógeno.

### **Respuestas de un alumno C**

- 1- Técnica rápida, específica.
- 2- La glucosa es oxidada a gluconolactona por la glucosa oxidasa. El peróxido de hidrógeno producido en presencia de peroxidasa, 4-AF y fenol forma una quinina cuya intensidad de color es proporcional a la concentración de glucosa.
- 3- Los blancos son la suma de las D.O. de los reactivos y pueden servir para indicarnos alguna alteración de los reactivos si éstos son estables y no hay necesidad de prepararlos cada vez que hacemos la determinación.
- 4- 1- Hidrólisis ácida y en caliente.  
2- Neutralizar y centrifugar.  
3- En el sobrenadante se cuantifica las unidades de glucosa por el método enzimático.
- 5- No es un método directo de cuantificación.

### **Tercera semana:**

#### **Respuestas esperadas para el grupo piloto:**

- 1- Mediante tomas de muestra de sangre en distintos tiempos se puede determinar cómo se metaboliza la solución de glucosa inyectada.
- 2- Para poder analizar la metabolización únicamente de la glucosa inyectada en un tiempo de 2 minutos. La solución es: glucosa en solución fisiológica al 25 %.
- 3- Permite determinar cómo se metaboliza la glucosa que proviene de una administración intravenosa.

4- S.R.D.= Hidrato de carbono: sacarosa

Control:= Hidrato de carbono: Almidón

Lípidos: Aceite de maíz (aportan ácidos grasos esenciales como linoleico)  
(18:2 - n-6)

Control+n-3: ácidos grasos n-3 + aceite de maíz (lípidos)

Almidón: hidrato de carbono

Control: aceite de maíz (lípidos)

Almidón: Hidrato de carbono

El resto de los componentes que aportan energía (proteínas, lípidos o hidratos de carbono), como así los necesarios para el crecimiento (vitaminas, sales, minerales), son iguales.

5- La sacarosa es un disacárido (glucosa + fructosa). Por acción de una disacaridasa es desdoblado en glucosa + fructosa. La glucosa necesita del cotransporte de Na y la fructosa es absorbida por un proceso de difusión facilitada.

Las respuestas a las preguntas realizadas al **grupo piloto** fueron:

#### **Alumno A**

1- Para comprobar como se metaboliza la glucosa inyectada en un período de tiempo.

Se inyecta glucosa en solución al 25 % en solución fisiológica en un período de 2 minutos.

2- Para evaluar solo la metabolización de la glucosa inyectada.

3- La metabolización de la glucosa.

4- S.R.D.= Hidrato de carbono: sacarosa

Control:= Hidrato de carbono: Almidón

Lípidos: Aceite de maíz (aportan ácidos grasos esenciales como linoleico)  
(18:2 - n-6)

Control+n-3: ácidos grasos n-3 + aceite de maíz (lípidos)

Almidón: hidrato de carbono

Control: aceite de maíz (lípidos)

Almidón: Hidrato de carbono

El resto de los componentes que aportan energía (proteínas-lípidos o hidratos de carbono), como así los necesarios para el crecimiento (vitaminas, sales, minerales), son iguales



- 5- La sacarosa es un disacárido (glucosa + fructosa). Por acción de una disacaridasa es desdoblado en glucosa + fructosa. La glucosa necesita del cotransporte de Na y la fructosa es absorbida por un proceso de difusión facilitada.

### **Alumno B**

- 1- Se inyecta una solución de glucosa al 25 % en solución fisiológica en un término de 2 minutos y mediante una toma de muestra a distintos tiempos se determina cómo se metaboliza dicha glucosa.
- 2- Debe estar en ayunas para observar cómo desaparece de la circulación la glucosa que se inyectó y no la que proviene de la comida. La solución ver respuesta 1.
- 3- La metabolización de la glucosa inyectada.
- 4- SRD vs C: hidrato de carbono  
C + n-3 vs C: los lípidos
- 5- La sacarosa es fructosa más glucosa. La glucosa necesita de un cotransporte, no así la fructosa.

### **Alumno C**

- 1- Al inyectar una solución de glucosa y al realizar distintas tomas de muestra se puede analizar cómo se metaboliza dicha glucosa.
- 2- Porque analizamos cómo se metaboliza sólo la glucosa inyectada que es una solución al 25 % en solución fisiológica (1 ml/100 g de rata) en un tiempo de 2 minutos.
- 3- La metabolización de la glucosa inyectada.
- 4- SRD: sacarosa  
C: almidón  
En ambas el resto es lo mismo.
- 5- Sacarosa es un disacárido que está compuesta de glucosa y fructosa. La primera se absorbe por transporte activo (bomba de Na y K) y la segunda por difusión facilitada.

### **Respuesta del grupo tradicional:**

Se inyecta una solución de glucosa al 25 % (1 ml/100g) en un tiempo de 2 minutos. El animal debe estar en ayunas. Se le extrae sangre por la otra vena yugular a los 2,5-5-10-20-30-40-50- 60 minutos y se realiza el dosaje de glucosa.

#### **Cuarta semana:**

Respuestas esperadas para el **grupo piloto**:

- 1- Porque es necesario la eliminación de los fosfolípidos, ya que en su composición tienen glicerol, que es lo que se dosa finalmente con ácido cromotrópico. El glicerol liberado finalmente reacciona con ácido cromotrópico dando un cromóforo de color violeta proporcional a la concentración de glicerol liberado de los triglicéridos.
- 2- La tolerancia a la glucosa está disminuida en la DRS con respecto a la control presentando en la curva concentración de glucosa en función el tiempo, menor pendiente, lo que significa mayor permanencia de glucosa circulante.

Respuestas del **grupo piloto**

#### **Alumno A**

- 1- Porque es necesario la eliminación de los fosfolípidos, ya que en su composición tienen glicerol, que es lo que se dosa finalmente con ácido cromotrópico.
- 2- La tolerancia a la glucosa está disminuida en la D.R.S. con respecto a la control lo que está significando una mayor permanencia de glucosa en la circulación.

#### **Alumno B**

- 1- Es necesario la eliminación de los fosfolípidos, ya que en su composición tienen glicerol y al final lo que dosamos es glicerol.
- 2- La tolerancia está disminuida lo que nos indica mayor tiempo de permanencia de la glucosa en la circulación.

#### **Alumno C**

- 1- Como lo que dosamos es glicerol y los fosfolípidos lo tienen en su composición, es necesario eliminarlos.
- 3- 2- Al realizar el test de tolerancia endovenoso en las ratas alimentadas con sacarosa nos encontramos que está disminuido por mayor tiempo de permanencia de la glucosa en la circulación.

Respuestas del **grupo tradicional**

- 1- El método de Folch modificado se basa en la determinación del glicerol liberado por hidrólisis química de los triglicéridos.

- 2- Daría en exceso porque no eliminamos los fosfolípidos que en su composición tienen glicerol.

### **Quinta semana:**

Respuestas esperadas para el **grupo piloto:**

- 1- a) Para extraer sustancias no lipídicas.  
b) Para la oxidación del glicerol  
c) Para eliminar el exceso de peryodato.
- 2- Los triglicéridos hepáticos están aumentados a pesar de la mayor secreción, como consecuencia de un aumento de las enzimas lipogénicas y de esterificación de los ácidos grasos. Si bien hay una mayor síntesis de proteínas, no alcanza a compensar la síntesis lipídica, o puede ser debido a una alteración en el ensamblaje apo B-VLDL o a una combinación de ambos.

Los triglicéridos plasmáticos están aumentados debido a la mayor secreción.

Respuestas del **grupo piloto.**

#### **Alumno A**

- 1- a) Para extraer sustancias no lipídicas.  
b) Para la oxidación del glicerol  
c) Para eliminar el exceso de peryodato
- 2- Los triglicéridos hepáticos estarían aumentados a pesar de la mayor secreción, porque hay una gran síntesis y las proteínas no alcanzan para secretar al plasma todos los triglicéridos sintetizados

Los triglicéridos plasmáticos estarían aumentados por la mayor secreción.

#### **Alumno B**

- 1- a) Para extraer sustancias no lipídicas.  
b) Para la oxidación del glicerol  
c) Para eliminar el exceso de peryodato
- 2- Los triglicéridos hepáticos están aumentados al igual que los plasmáticos a pesar de que hay una mayor secreción

#### **Alumno C**

- 1- a) Para eliminar sustancias no lipídicas.

- b) Para oxidar al glicerol
  - c) Para eliminar el peryodato en exceso.
- 2- Los triglicéridos plasmáticos están aumentados al igual que los hepáticos porque hay mayor síntesis y a pesar que hay una mayor secreción

#### Respuestas del **grupo tradicional**

- a) Sirve para eliminar las sustancias no lipídicas
- b) Oxida al glicerol
- c) Elimina el peryodato

#### **Octava semana**

##### Respuestas esperadas para el **grupo piloto:**

- 1- El triton bloquea la remoción de las VLDL inhibiendo selectivamente las LPL activadas en los tejidos extrahepáticos por las apo CII, produciéndose una acumulación de triglicéridos en suero que graficado en función del tiempo, representa una medida para el estudio de la velocidad de secreción de VLDL-T.G.
- 2- Deben estar ayunadas para evitar la presencia de los quilomicrones formados fundamentalmente por triglicéridos de origen exógeno. Los triglicéridos en animales ayunados provienen de las VLDL y son hidrolizados por las LPL que se encuentran en los endotelios de los capilares de los tejidos extrahepáticos. El triton inhibe la acción de las LPL .
- 3- No, depende también de la remoción de los triglicéridos. Por ejemplo en la DRS al estar aumentada la velocidad de secreción y disminuida la remoción, los triglicéridos plasmáticos están aumentados.
- 4- Porque si bien hay un aumento de las V.L.D.L.-TG no alcanza a producir la secreción de todos los triglicéridos sintetizados en hígado, ya que esta síntesis está muy aumentada a causa de la metabolización de la fructosa que produce aumento de acetil CoA y glicerol. Esto se debe a que, si bien hay un aumento de las V.L.D.L.-TG no alcanza a producir la secreción de todos los triglicéridos sintetizados en hígado, ya que esta síntesis está muy aumentada a causa de la metabolización de la fructosa que produce aumento de acetil CoA y glicerol. Esto último se debe a que la fructosa no pasa por etapas claves de la glucólisis, además, la actividad de la fructoquinasa es mayor que la glucoquinasa + hexoquinasa.

El aumento de la síntesis de proteínas no alcanza a compensar el aumento lipídico o puede haber un problema en el ensamblaje lipídico-proteico o una combinación de ambos

### Respuestas del **grupo piloto**

#### **Alumno A**

- 1- El triton bloquea la remoción de la V.L.D.L. inhibiendo selectivamente las L.P.L. activa en los tejidos extrahepáticos, produciéndose una acumulación de triglicéridos en suero que graficado en función del tiempo, representa una medida para el estudio de la velocidad de secreción de V.L.D.L.-T.G.
- 2- Como el triton inhibe las L.P.L., enzima que produce la hidrólisis de triglicéridos de las V.L.D.L. y quilomicrones.
- 3- Depende también de la remoción de los triglicéridos, así en la dieta rica en sacarosa al estar aumentada la secreción y disminuida la remoción, los triglicéridos plasmáticos están aumentados.
- 4- Porque si bien hay un aumento de las V.L.D.L.-TG no alcanza a producir la secreción de todos los triglicéridos sintetizados en hígado, ya que esta síntesis está muy aumentada a causa de la metabolización de la fructosa que produce aumento de acetyl CoA y glicerol. Esto se debe a que la fructosa no pasa por etapas claves de la glucólisis, además la actividad de la fructoquinasa es mayor que la glucoquinasa + hexoquinasa.

#### **Alumno B**

- 1- Para bloquear la remoción de la VLDL se usa Triton que inhibe las LPL de los tejidos extrahepáticos, por lo que se produce una acumulación de TG en suero que graficado en función el tiempo, nos da una idea de la velocidad de secreción de VLDL-TG
- 2- Para estudiar la velocidad de secreción debemos asegurarnos que no hay quilomicrones, porque las LPL no solamente actúa sobre las VLDL, sino también sobre los quilomicrones.
- 3- El pool de TG depende de la velocidad de secreción de los TG sintetizados en el hígado y de la remoción de los TG plasmáticos.
- 4- En la dieta SRD si bien hay un aumento de secreción de VLDL-TG no alcanza a eliminar toda la cantidad de TG sintetizado como consecuencia de la mayor producción de AG y glicerol 3 fosfato.

### **Alumno C**

- 1- Para que se produzca un acúmulo de TG en sangre como consecuencia de la secreción hepática de TG, que graficados en función del tiempo determina la velocidad de secreción de VLDL-TG
- 2- Porque las LPL produce hidrólisis de TG transportados por los quilomicrones y las VLDL y al estar en ayunas, eliminamos los quilomicrones.
- 3- No, depende de la velocidad de remoción de los TG también, además de la velocidad de secreción de los TG sintetizados en el hígado.
- 4- Porque no alcanza a depurar al hígado de los TG sintetizados a consecuencia de la DRS, que en su composición tienen fructosa que estimula una mayor síntesis de TG (glicerol 3 fosfato y ácidos grasos)

### **Respuestas de alumnos del grupo tradicional**

- 1- Se inhibe selectivamente las L.P.L. de los tejidos extrahepáticos, enzima que hidroliza los triglicéridos de las V.L.D.L. y quilomicrones.
- 2- El Triton forma un complejo con los lípidos o apoproteínas de las partículas de V.L.D.L. y previene la delipidación por acción de las L.P.L.

### **Novena semana:**

#### **Respuestas esperadas para el grupo piloto:**

- 1- Porque el intralipid adquiere Apo C<sub>II</sub>, Apo C<sub>III</sub> y Apo E de las lipoproteínas HDL por lo que adquiere las características de las VLDL y de los quilomicrones para ser degradados por las LPL.
- 2- La secreción se encuentra aumentada, debido a la mayor síntesis de triglicéridos hepáticos (menor oxidación, mayor actividad de las enzimas lipogénicas) y mayor síntesis de Apo B a pesar de esa mayor síntesis de Apo B no alcanza a compensar la síntesis lipídica.
- 3- La secreción se encuentra disminuida por la menor síntesis de triglicéridos hepáticos (mayor oxidación, menor actividad de las enzimas lipogénicas), menor síntesis de Apo B o una combinación de ambos.

## Respuestas del **grupo piloto**

### **Alumno A**

- 1- El "intralipid", porque en la circulación la partícula lipídica adquiere Apo C<sub>II</sub>, Apo C<sub>III</sub> y Apo E de lipoproteínas y puede ser degradado como las V.L.D.L. y los quilomicrones
- 2- La secreción se encuentra aumentada, debido a la mayor síntesis de lípidos y apo B.
- 3- La secreción está disminuida porque hay menor síntesis de lípidos en hígado.

### **Alumno B**

- 1- Porque el intralipid adquiere Apo C y Apo E de las lipoproteínas HDL por lo que adquiere las características de las VLDL y de los quilomicrones para ser degradados por las LPL
- 2- La secreción se encuentra aumentada, debido a la mayor síntesis de lípidos y apo B.
- 3- La secreción está disminuida porque hay menor síntesis de lípidos en hígado.

### **Alumno C**

- 1- Adquiere las características de las VLDL y quilomicrones, por lo que sobre el intralipid puede actuar las LPL al igual que sobre las VLDL y quilomicrones.
- 2- La secreción se encuentra aumentada, debido a la mayor síntesis de lípidos y apo B.
- 3- La secreción está disminuida porque hay menor síntesis de lípidos en hígado.

## Respuesta del **grupo tradicional**

En la circulación adquiere Apo C<sub>II</sub>, Apo C<sub>III</sub> y Apo A, por lo que puede ser degradado lo mismo que las V.L.D.L. y los quilomicrones.

### **Décima semana:**

#### Respuestas esperadas para el **grupo piloto:**

- 1- Silicagel que usa como aglutinante yeso o almidón y celulosa, sin aglutinante.
- 2- Para eliminar el agua que se encuentra retenida por interacciones polares con sus grupos silanoles.
- 3- 1-Extracción de los lípidos con cloroformo-metanol  
2-Lavados con cloroformo-metanol-CL<sub>2</sub>Ca y con cloroformo-metanol-agua  
3-Evaporar a sequedad.  
4-Resuspender en cloroformo.

- 4- Se lleva a cabo en dos etapas:
  - 1- Las proteínas son precipitadas y extraído el colesterol.
  - 2- Se agrega  $\text{Cl}_3\text{Fe} + \text{PO}_4\text{H}_3 + \text{SO}_4\text{H}_2$  a una alícuota del sobrenadante, se produce un color que es proporcional a la cantidad de colesterol.
- 5- En la DRS hay una disminución debido a una menor actividad de PHLA, composición alterada de VLDL (mayor contenido lipídico), ausencia o disminución de Apo C<sub>II</sub>.
- 6- Hay un aumento de la remoción que podría ser explicada a través de dos mecanismos:
  - Estímulo de la actividad de la LPL
  - Las partículas de VLDL son más pequeñas, empobrecidas en triglicéridos con una relación colesterol/triglicéridos mayor.

#### Respuestas del **grupo piloto**

##### **Alumno A**

- 1- Silicagel que usa como aglutinante yeso o almidón y celulosa, sin aglutinante.
- 2- Para eliminar el agua que se encuentra retenida.
- 3- 1-Extracción de los lípidos con cloroformo-metanol  
2-Lavados con cloroformo-metanol- $\text{CL}_2\text{Ca}$  y con cloroformo-metanol-agua  
3-Evaporar a sequedad.  
4-Resuspender en cloroformo.
- 4- Se lleva a cabo en dos etapas:
  - 1- Las proteínas son precipitadas y extraído el colesterol.
  - 2- Se agrega  $\text{Cl}_3\text{Fe} + \text{PO}_4\text{H}_3 + \text{SO}_4\text{H}_2$  a una alícuota del sobrenadante → produce un color que es proporcional a la cantidad de colesterol.
- 5- La remoción está disminuida por la resistencia insulínica que se presenta con esta dieta.
- 6- La remoción está aumentada debido a que se presenta una mayor sensibilidad insulínica.

##### **Alumno B**

- 1- Silicagel que usa como aglutinante yeso o almidón y celulosa, sin aglutinante.
- 2- Para eliminar el agua que se encuentra retenida por interacciones polares con sus grupos silanoles.
- 3- 1-Extracción de los lípidos con cloroformo-metanol



- 2-Lavados con cloroformo-metanol- $\text{CL}_2\text{Ca}$  y con cloroformo-metanol-agua
- 3-Evaporar a sequedad.
- 4-Resuspender en cloroformo.
- 4- Se lleva a cabo en dos etapas:
  - 1- Las proteínas son precipitadas y extraído el colesterol.
  - 2- Se agrega  $\text{Cl}_3\text{Fe} + \text{PO}_4\text{H}_3 + \text{SO}_4\text{H}_2$  a una alícuota del sobrenadante, se produce un color que es proporcional a la cantidad de colesterol.
- 5- La remoción está disminuida por la resistencia insulínica que se presenta con esta dieta.
- 6- La remoción está aumentada debido a que se presenta una mayor sensibilidad insulínica.

### **Alumno C**

- 1- Silicagel que usa como aglutinante yeso o almidón para aumentar la adherencia al soporte y celulosa, sin aglutinante.
- 2- Para eliminar el agua que se encuentra retenida.
- 3- 1-Extracción de los lípidos con cloroformo-metanol  
2-Lavados con cloroformo-metanol- $\text{CL}_2\text{Ca}$  y con cloroformo-metanol-agua  
3-Evaporar a sequedad.  
4-Resuspender en cloroformo.
- 4- Se lleva a cabo en dos etapas:
  - 1- Las proteínas son precipitadas y extraído el colesterol.
  - 2- Se agrega  $\text{Cl}_3\text{Fe} + \text{PO}_4\text{H}_3 + \text{SO}_4\text{H}_2$  a una alícuota del sobrenadante → produce un color que es proporcional a la cantidad de colesterol.
- 5- La remoción está disminuida por la resistencia insulínica que se presenta con esta dieta.
- 6- La remoción está aumentada debido a que se presenta una mayor sensibilidad insulínica.

### **Respuesta del grupo tradicional**

- 1- Silicagel que usa como aglutinante yeso o almidón y celulosa, sin aglutinante.
- 2- Para eliminar el agua que se encuentra retenida.
- 3- 1-Extracción de los lípidos con cloroformo-metanol  
2-Lavados con cloroformo-metanol- $\text{CL}_2\text{Ca}$  y con cloroformo-metanol-agua

- 3-Evaporar a sequedad.
- 4-Resuspender en cloroformo.
- 4- Se lleva a cabo en dos etapas:
  - 1- Las proteínas son precipitadas y extraído el colesterol.
  - 2- Se agrega  $\text{Cl}_3\text{Fe} + \text{PO}_4\text{H}_3 + \text{SO}_4\text{H}_2$  a una alícuota del sobrenadante → produce un color que es proporcional a la cantidad de colesterol.

### **Décima primera semana**

Respuestas esperadas para el **grupo piloto**:

- 1- Se lleva a cabo en dos etapas:
  - 1- Las proteínas son tratadas con una solución alcalina de cobre.
  - 2- Se adiciona el reactivo fenol de Folin.
- 2- Para determinar la cantidad relativa y el peso molecular de una proteína en una mezcla de proteínas.
- 3- El acetil CoA
- 4- En nuestra experiencia no hemos encontrado diferencia significativa con respecto a la dieta control, a pesar que hay trabajos que sí han encontrado diferencia.

Respuestas del **grupo piloto**

#### **Alumno A**

- 1- Se lleva a cabo en dos etapas:
  - 1- Las proteínas son tratadas con una solución alcalina de cobre.
  - 2- Se adiciona el reactivo fenol de Folin.
- 2- Cuantificación de proteínas
- 3- El acetil CoA
- 4- En nuestra experiencia no hemos encontrado diferencia significativa con respecto a la dieta control.

#### **Alumno B**

- 1- Se lleva a cabo en dos etapas:
  - 1- Las proteínas son tratadas con una solución alcalina de cobre.
  - 2- Se adiciona el reactivo fenol de Folin.
- 2- Para determinar la cantidad relativa y el peso molecular de una proteína en una mezcla de proteínas.

- 3- El acetil CoA
- 4- En nuestra experiencia no hemos encontrado diferencia significativa con respecto a la dieta control, a pesar que hay trabajos que sí han encontrado diferencia.

### **Alumno C**

- 1- Se lleva a cabo en dos etapas:
  - 1- Las proteínas son tratadas con una solución alcalina de cobre.
  - 2- Se adiciona el reactivo fenol de Folin.
- 2- Para determinar la cantidad relativa y el peso molecular de una proteína en una mezcla de proteínas.
- 3- El acetil CoA
- 4- En nuestra experiencia no hemos encontrado diferencia significativa con respecto a la dieta control.

### **Respuestas del grupo tradicional**

- 1- Se lleva a cabo en dos etapas:
  - 1- Las proteínas son tratadas con una solución alcalina de cobre.
  - 2- Se adiciona el reactivo fenol de Folin.
- 2- Para determinar la cantidad relativa y el peso molecular de una proteína en una mezcla de proteínas.

En la última semana (semana **XII**) se reunieron los resultados correspondientes a los distintos grupos de trabajos prácticos y se realizó el coloquio integrador con la finalidad de analizarlos y construir el diagrama UVE, tarea llevada a cabo por los alumnos del grupo piloto con la ayuda del docente.

Qué efecto tiene el cambio de uno de los nutrientes:  
hidratos de carbono (almidón - sacarosa)  
utilizados en la dieta en animales  
de experimentación

Teoría:

Metabolismo de:

- Hidratos de carbono
- Lípidos

Principios :

Tiempo necesario del suministro  
de la dieta para lograr el efecto  
deseado

Conceptos relevantes:

- Componentes de la dieta:
  - \* Necesarios para el crecimiento
  - \* Aportan energía
- Condiciones de hábito necesario  
para el normal crecimiento
- Seguimiento de los animales.
- Absorción intestinal de la glucosa y  
fructosa
- Metabolismo en el enterocito
- Transporte vía vena porta→hígado.
- Entrada de la glucosa y fructosa  
a la célula hepática. Metabolismo  
hepático de los mismos.
- Enzimas.
- Triglicéridos hepáticos, plasmáticos,  
músculo(cardíaco, esquelético)
- Estimulación pancreática. Secreción  
de insulina. Resistencia insulínica

En el período de inducción  
encontramos:

- Aumento de triglicéridos  
plasmáticos
- Aumento de triglicéridos en  
hígado y corazón
- Aumento de ácidos grasos  
no esterificados
- Menor actividad de las  
lipoproteína lipasa
- Menor capacidad de remoción  
de triglicéridos
- Aumento de la secreción  
hepática de VLDL-TG
- Glucemia basal normal
- Hiperinsulinemia
- Resistencia insulínica
- Recopilación de datos

Cambios metabólicos  
inducidos nutricionalmente

Qué efecto tiene el cambio de uno de los nutrientes:  
lípidos (ácidos grasos n-6 por ácidos grasos n-3)  
utilizados en la dieta en animales  
de experimentación

Teoría:

Metabolismo de:

- Hidratos de carbono  
triglicéridos

- Lípidos

Principios:

Tiempo necesario del suministro  
de la dieta para lograr el efecto  
deseado

Conceptos relevantes:

- Componentes de la dieta:

\* Necesarios para el crecimiento

\* Aportan energía

- Condiciones de hábito necesario  
para el normal crecimiento

- Seguimiento de los animales.

- Absorción intestinal de la glucosa

- Normoinsulinemia

- Metabolismo en el enterocito

- Transporte vía vena porta → hígado.

- Entrada de la glucosa a la célula

hepática. Metabolismo  
hepático de los mismos.

- Enzimas.

- Triglicéridos hepáticos, plasmáticos,  
músculo (cardíaco, esquelético)

- Estimulación pancreática. Secreción  
de insulina. Sensibilidad insulínica

En el período de  
suministro de la dieta:

- Disminución de

plasmáticos

- Disminución de triglicéridos  
en hígado y corazón

- Disminución de ácidos grasos  
no esterificados

- Mayor actividad de las  
lipoproteína lipasa

- Mayor capacidad de remoción  
de triglicéridos

- Disminución de la secreción  
hepática de VLDL-TG

- Glucemia basal normal

- Aumento de la sensibilidad  
insulínica

- Tolerancia glucídica normal

- Recopilación de datos.

Cambios metabólicos  
inducidos nutricionalmente

AÑO 2004

RESPUESTAS DE UN **ALUMNO A** AL CUESTIONARIO SOBRE HIDRATOS DE CARBONO

- 1- D.R.S.: sacarosa                      Control: almidón  
C + n-3: Ac. Grasos poliinsaturados (n-3) + aceite de maíz  
Control: aceite de maíz aportan ácidos grasos esenciales.
- 2- Hidrato de carbono: disacárido que se desdobra en fructosa y glucosa.  
La glucosa por transporte activo. Fructosa por difusión facilitada.
- 3- Sacarosa: disacárido                      Almidón: polisacárido  
El almidón se desdobra en moléculas de glucosa y se absorbe a través del intestino por transporte activo.
- 4- La tolerancia está disminuida.

Respuestas de un **alumno B**

- |    |                         |                |   |
|----|-------------------------|----------------|---|
| 1- | D.R.S.                  | CONTROL        | CONTROL + n-3   |
|    | H. de C.: sacarosa      | almidón        | almidón   |
|    | Lípidos: aceite de maíz | aceite de maíz | aceite de hígado de bacalao<br>Ac. grasos n-3 + aceite de<br>maíz |
- 2- Disacárido para ingresar debe desdoblarse en fructosa y glucosa.  
Para absorberse a través a través del intestino la glucosa necesita del cotransporte de Na y la fructosa por difusión facilitada.
- 3- Almidón: polisacárido formado por unidades de glucosa→transporte activo
- 4- Está disminuida por la insulino-resistencia

Respuestas del **alumno C**

- |    |                         |                |   |
|----|-------------------------|----------------|---|
| 1- | DRS .                   | CONTROL        | CONTROL + n-3   |
|    | H. de C.: sacarosa      | almidón        | almidón   |
|    | Lípidos: aceite de maíz | aceite de maíz | aceite de hígado de bacalao<br>Ac. grasos n-3 + aceite de |

Igual: Vitaminas y fibras

maíz (aportan ác. grasos  
esenciales)

- 2- Hidrato de carbono: disacárido para ser absorbido debe desdoblarse en fructosa y glucosa.  
La glucosa ingresa por transporte activo. Fructosa por difusión facilitada.
- 3- Almidón: polisacárido formado por unidades de glucosa
- 4- Está disminuida debido a la insulino-resistencia

#### Respuestas del **alumno D**

- 1- D.R.S.: sacarosa            Control: almidón  
C + n-3: Ac. Grasos polinosaturados (n-3) + aceite de maíz
- 2- La sacarosa es un disacárido que para ingresar debe desdoblarse en fructosa y glucosa.  
Para absorberse a través del intestino la glucosa necesita del cotransporte de Na (transporte activo) y la fructosa por difusión facilitada
- 3- Almidón: Es un polisacárido formado por glucosa que se absorben por transporte activo (bomba de sodio y potasio)
- 4- Está disminuida

#### Respuestas del **alumno E**

- |    |                         |                |   |
|----|-------------------------|----------------|---|
| 1- | D.R.S.                  | CONTROL        | CONTROL + n-3   |
|    | H. de C.: sacarosa      | almidón        | almidón   |
|    | Lípidos: aceite de maíz | aceite de maíz | aceite de hígado de bacalao<br>Ac. grasos n-3 + aceite de<br>maíz |

El aceite de maíz aporta ác. grasos esenciales

- 2- La sacarosa es un disacárido que para ingresar debe desdoblarse en fructosa y glucosa.
- 3- Almidón: Es un polisacárido formado por glucosa
- 4- Está disminuida

## RESPUESTAS AL CUESTIONARIO SOBRE LÍPIDOS DE UN **ALUMNO A**

- 1- Depende de la remoción.
- 2- Aumenta la síntesis de V.L.D.L. pero no es suficiente para la cantidad de triglicéridos sintetizados en hígado.
- 3- La secreción está disminuida.
- 4- La remoción está aumentada en la dieta control + n-3 y disminuida en rica en sacarosa

## Respuestas de un **alumno B**

- 1- No solamente depende de la secreción, sino también de la remoción.
- 2- A pesar del aumento de V.L.D.L. la síntesis hepática de triglicéridos está muy aumentada por lo que no alcanza a salir del hígado todos los triglicéridos sintetizados.
- 3- La secreción en C+n-3 está disminuida.
- 4- La remoción está aumentada y al estar disminuida la secreción, hace que los triglicéridos estén disminuido en la dieta control+n-3 y aumentada en la DRS.

## Respuestas del **alumno C**

- 1- No, depende también de la remoción
- 2- Porque hay mucha síntesis y la V.L.D.L. no alcanza a eliminar todo el TG formado.
- 3- La secreción en C+n-3 está disminuida.
- 4- DRS: disminuida  
C + n-3: aumentada.

## Respuesta del **alumno D**

- 1- El pool de TG depende de la secreción y de la remoción.
- 2- No se alcanza a eliminar todo el TG sintetizado a pesar del aumento de VLDL.
- 3- La secreción en C+n-3 está disminuida.
- 4- DRS: disminuida y en C + n-3: aumentada

## Respuesta del **alumno E**

- 1- También depende de la remoción
- 2- A pesar del aumento de VLDL hay un aumento de los TG hepáticos
- 3- Está disminuida.



4- La remoción está aumentada en la dieta control + n-3 y disminuida en rica en sacarosa

En la semana XII se realizó el coloquio integrador en el cual se analizó los resultados de todos los trabajos prácticos y se trató de construir el diagrama UVE con el grupo piloto. Esto fue logrado con mayor dificultad que en el año anterior (2003).

Durante la **segunda semana (año 2003)** las respuestas a las preguntas fueron 90 % completas y 10 % parcialmente completas, alto porcentaje alcanzado debido a que sólo se necesitaban fundamentos de los trabajos prácticos a desarrollar (dosaje de glucosa-glucógeno)

En la **tercera** el mayor porcentaje de respuestas completas correspondieron a las preguntas 1 a 4, sobre fundamentos del trabajo práctico (test de tolerancia endovenosa a la glucosa) con un 70 a 80 %, disminuyendo hasta un 50 a 60 % en las preguntas cuando se requerían ciertos conceptos teóricos, aumentando el porcentaje de respuestas parcialmente completas e incompletas, pregunta 5.

En la **cuarta y quinta semana** en la pregunta 1 se vuelve a alcanzar un porcentaje alto, disminuyendo con la segunda, debido a que en la primera se requerían solo fundamentos de trabajos prácticos (extracción y dosaje de triglicéridos), no así en la segunda.

Algo similar ocurre con la **semana octava, novena, décima y décima primera**. El mayor porcentaje de respuestas completas corresponden a las preguntas 1 y 2 en la semana octava, 1 de la novena, y 1, 2, 3 y 4 en la décima y 1 y 2 de la décima primera; el menor a las 3 y 4 en la octava, 2 y 3 en la novena y 5 y 6 en la décima y 1 y 2 de la décima primera semana.

Estas evaluaciones durante el proceso permitieron:

- Obtener información sobre el aprendizaje.
- Reflexionar sobre las dificultades presentadas al responder las preguntas.

Lo que nos indujo a destinar mayor tiempo para revisar los conocimientos teóricos adquiridos, relacionados con los trabajos prácticos desarrollados en las semanas anteriores, a fin de lograr un proceso de comprensión, asimilación y maduración de conceptos básicos, esfuerzo que tuvo como meta, un aprendizaje significativo.

Año	2003	2004	2003	2004
Semanas	2 a 4		5 a 11	
Respuestas completas	65 %	35 %	70 %	40 %
Res. parcialmente completas	30 %	50 %	20 %	30 %
Respuestas incompletas	5 %	15 %	10 %	30 %

Ver Anexo 2: Fotocopias de 2 mejores respuestas a cuestionarios correspondientes al año 2004

La participación en diálogo y discusiones dentro de la clase obliga a los alumnos a elaborar sus propios argumentos y exponer sus actitudes a favor o en contra de situaciones reales. Esos cambios actitudinales que implican la participación activa y sistemática tienden a ser cambios duraderos y persistentes.

## V – RESULTADOS Y DISCUSIÓN SOBRE LA EVALUACIÓN AL FINAL DEL PROCESO DE ENSEÑANZA.

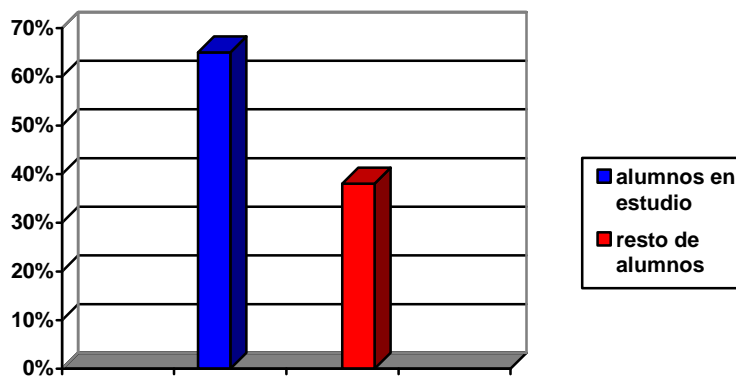
Si analizamos las respuestas del examen final del 63 %, 13 de los 20 alumnos del grupo piloto (año 2003), se comprueba por la justificación a sus afirmaciones, como por ejemplo en las preguntas 3 y 4, en las que no solo indican más de una causa del aumento de los TG plasmáticos en DRS, sino también lo justifican (pregunta 3), y cómo se encuentran los TG hepáticos en la dieta control + n-3, argumentando la respuesta (pregunta 4), que han logrado identificar argumentos significativos, organizarlos y realizar un verdadero proceso de asimilación y maduración de los conocimientos, construyendo un todo, mediante una retroalimentación teoría-práctica, con la realización de coloquios semanales que permitieron la incorporación paulatina de los contenidos relacionados con los trabajos prácticos, y apoyados por una herramienta de significativo valor como lo son las evaluaciones, que ayuda a regular las dificultades en el momento en que se producen, dando a los alumnos la oportunidad de detectar errores y sus causas.

De este modo se logró un aprendizaje significativo a diferencia del año 2004 en el que solo se llevaron a cabo coloquios y evaluaciones en 2 oportunidades, agrupados por áreas (hidratos de carbono y lípidos). Esto solo sirvió para adquirir ciertos conocimientos sin lograr su justificación, obteniéndose un conocimiento frágil, que se esfuma o que no puede aplicarse en otras situaciones. (ver anexo 2)

En el grupo piloto del año 2003, constituido por 20 alumnos, 17 % de un total de 120, el porcentaje que obtuvo un puntaje igual o superior al necesario para promocionar los trabajos prácticos (70 % = 14 puntos) fue significativamente superior al resto del alumnado que cursaba la materia, que fue solo del 38 % = 38 alumnos.

Dicho puntaje resulta de la sumatoria de las notas obtenidas en las evaluaciones durante y en el final del cursado.

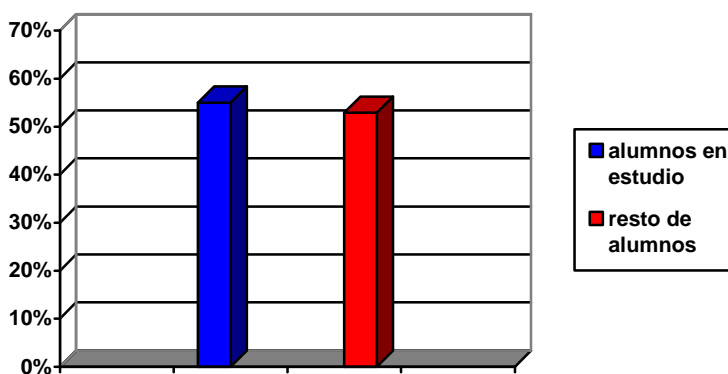
Año	Total de alumnos	Alumnos del grupo piloto	Resto de alumnos	Grupo piloto Porcentaje de aprobado	Resto de alumnos Porcentaje de aprobados
2003	120	20	100	65	38
2004	105	20	85	55	52,9



En el año 2004 el porcentaje de alumnos del grupo piloto que promocionaron los trabajos prácticos disminuyó con respecto al año 2003, (65 % = 13 alumnos, de un total de 20, año 2003 y 55 % = 11 alumnos, de un total de 20, año 2004), además de no haber diferencia con respecto al resto (38 % = 38 alumnos, de un total de 100, año 2003 y 52,9 % = 45 alumnos, de un total de 85, año 2004).

Las cifras anteriormente mencionadas nos está indicando que la población de alumnos que cursó Química Biológica en el año 2004, fue un grupo más motivado que el anterior, no observándose en el grupo piloto con la modalidad implementada, cumplir con los objetivos previstos, mejorar el aprendizaje y la integración teoría-práctica.

Se llegó a esta conclusión, debido a que no existe diferencia significativa entre el número de alumnos que promocionaron los trabajos prácticos perteneciente al grupo control, con respecto al resto.



Además se pudo comprobar un bajo porcentaje de los alumnos que no promocionaron, alcanzar un 70 % en la pregunta correspondiente al trabajo práctico en el examen final, lo que corrobora la falta de asimilación y maduración de los conocimientos para lograr interrelacionar los distintos metabolismos.

## VI- CONCLUSIONES

Ante la falta de motivación al desarrollar los trabajos prácticos, el no lograr una retroalimentación mutua, teoría/práctica, surgió la necesidad de hacer un cambio, para que el alumno logre un aprendizaje significativo, mediante la realización de coloquios integradores con la finalidad de proporcionar oportunidades para que los alumnos aprendan a usar las nuevas ideas y resolver problemas haciendo uso de la experiencia, conformando creencias, actitudes y valores que desarrollen en los estudiantes un interés crítico por las actividades científicas.

La causa por la cual los alumnos sienten la necesidad de terminar rápido un trabajo práctico y tratar de distraer el menor tiempo posible en su realización, no es que la propuesta no sea interesante, puesto que es aplicable a problemas concretos acorde con la realidad, por lo que no se le puede atribuir la falta de motivación.

El conjunto de trabajos prácticos de Química Biológica permite un estudio en un modelo animal, los cambios metabólicos como hipertrigliceridemia asociada a obesidad, y enfermedades cardiovasculares, inducidas por el consumo de dietas con elevado contenido de azúcares refinados, o el rol potencial en mejorar y/o prevenir los riesgos de aterosclerosis e infarto agudo de miocardio por la incorporación en la dieta de ácidos grasos n-3 proveniente de algunas especies de peces marinos, ambos temas de actualidad.

Para no perder el potencial educativo de los trabajos prácticos es necesario realizar un cambio mediante el empleo de estrategias didácticas como:

- Coloquios integradores al finalizar cada trabajo práctico, con el objeto de realizar integraciones que conduzcan a lograr la comprensión de la información y poder así comparar, relacionar, juzgar y estimular el ejercicio de procesos críticos.
- La utilización de diagrama de UVE recurso útil para ayudar a entender la estructura y los procesos de construcción del conocimiento. Los tres elementos, conceptos, acontecimientos / objetos y registro de acontecimientos / objetos están unidos e íntimamente entrelazados cuando se trata de producir conocimientos nuevos, es decir, es una técnica para ilustrar los elementos conceptuales y metodológicos que interactúan en el proceso de construcción del conocimiento.
- Evaluaciones: Sistema de evaluaciones diagnósticas y continuas, integradas al desarrollo de los trabajos prácticos las que nos permitieron:

- **Para el docente:**

Evaluación diagnóstica: corregir errores que se vienen sucediendo de años anteriores.

Evaluación continua: obtener información del aprendizaje de los alumnos y poder recapacitar sobre la propuesta de enseñanza, detectar la comprensión de los temas, identificar los obstáculos y regularlos, en definitiva, evaluar el logro de los objetivos.

- **Para el alumno:**

Evaluación diagnóstica y continua: detectar sus errores y aplicar estrategias para corregirlos.

Si analizamos las respuestas a las preguntas realizadas en la evaluación diagnóstica y el porcentaje de aprobados, podemos decir que partimos con falencias similares en ambos grupos en los años 2003 y 2004.

La metodología aplicada en el año 2003, arrojó un alto porcentaje de alumnos que promocionaron los trabajos prácticos, pero demandó mayor tiempo y esfuerzo no solamente para el docente, sino también para el alumnado que debió dedicarle una mayor cantidad de horas a la preparación de los mismos, debido a que fue necesario reunir conocimientos para responder a los cuestionarios realizados en cada uno de los trabajos prácticos, a fin de lograr una asimilación e integración de los temas desarrollados en los distintos coloquios. El objetivo fue alcanzado en el transcurso del año 2003, como se puede comprobar analizando las respuestas correspondiente a la evaluación durante el proceso de las semanas segunda y tercera, donde encontramos un 65 %, o 70 % en la cuarta a décima primera, haciendo uso de términos apropiados, demostrando una buena interpretación a la hora de evaluar los datos obtenidos, relacionando los contenidos nuevos con los que ya poseían, elaborando argumentos, logrando una asimilación e integración de los temas desarrollados en los distintos coloquios. No ocurrió lo mismo en el año 2004, debido a que no hubo diferencia con respecto al resto de los alumnos que cursaron la asignatura durante ese año, pues no se alcanzó los objetivos a pesar de la realización de dos coloquios (área: hidratos de carbono y área: lípidos). Esto nos demostró la necesidad de realizar un seguimiento permanente. El esfuerzo tuvo como meta lograr la promoción de los mismos, meta no de poco valor debido a que aquellos alumnos que no la alcanzaron, les resultó muy tedioso aprobarlos en los exámenes finales, demostrando que se aprende más a fondo, cuando se llega a organizar los hechos,

a relacionarlos con el conocimiento anterior, a elaborar y extrapolar lo que está leyendo o escuchando. De lo contrario se produce una enseñanza sin aprendizaje.

*El tiempo de clase, es tiempo de aprendizaje. No vengas sólo ni prioritariamente a tomar apuntes. Sólo la comprensión de la información lleva al aprendizaje, que es el objetivo que debe orientar todo nuestro esfuerzo. Y esta es tarea que se hace cada día, continuamente, y mejor si lo hacemos de un modo cooperativo. Si piensas en el examen o en la nota como compensación a tu esfuerzo, tal vez este no sea el camino más adecuado ni la opción más conveniente. Si realmente te interesa el valor de aprender por sí mismo algo que merezca la pena, tal vez aquí encuentres una posibilidad”*

*Juan Manuel Álvarez Méndez*

## VII - BIBLIOGRAFÍA

- Alambique (1996) Las ideas del alumnado en Ciencias. Monográfico, N° 7, Enero. Barcelona: Graó
- Ausubel, D. P.; Novak, J.D.; Hanesian, H. Psicología educativa. Un punto de vista cognoscitivo. Editorial Trillas. 2da. edición pp110-148
- Bruner, J. (1990) Desarrollo cognitivo y educación, Morata. Madrid
- Bruner, J. Hacia una teoría de la enseñanza. Manuales UTHEA. No. 373. Sección 17 Educación.
- Caamaño Ros, A. (1988). Tendencias actuales en el currículo de ciencias Enseñanza de las Ciencias, 6 (3) pp.265-277
- Caamaño, A. (1992). Los trabajos prácticos en las Ciencias Experimentales. Una reflexión sobre sus objetivos y una propuesta para su diversificación. Aula de innovación educativa 9, pp.61-68.
- Chalmers, A. F. (1988). ¿Cuál es esa cosa llamada ciencia? Siglo Veintiuno, Editores. Madrid.
- Cagden, C. B. (1991). El discurso en el Aula. El lenguaje de la enseñanza y del aprendizaje. Paidós. MEC. España.
- Cañal, P. Didáctica de las Ciencias Experimentales. pp. 267-287
- Coll, C. (1987) Psicología y curriculum. Laia. Barcelona
- Coll, C. (1989). Conocimiento psicológico y práctica educativa. Barcanova. Barcelona.
- Coll, C.; Pozo, J.; Sarabia, B. y Valls, E. (1995). Los contenidos de la Reforma. Enseñanza y aprendizaje de Conceptos, Procedimientos y Actitudes. Santillana. Buenos Aires.
- del Carmen, L. (2000). “Los trabajos prácticos” en: Perales, F. J.
- De Pro Bueno, A. (1998). ¿Se pueden enseñar contenidos procedimentales en las clases de ciencias? 16 (1) pp. 21-41.
- Driver, R (1986) Psicología cognoscitiva y esquemas conceptuales de los alumnos. Enseñanza de las Ciencias, 4 (1), 3-15
- Driver, R. (1988). Un enfoque constructivista para el desarrollo del currículo en Ciencias. Enseñanza de las Ciencias, 6 (2), 109-119.



- Chite, R. (1999). Condiciones para un aprendizaje de calidad en la enseñanza de las ciencias. Reflexiones a partir del proyecto PEEL, Enseñanza de las ciencias 17 (1), pp.3-15
- De Pro, A. (1997). Cómo pueden secuenciarse contenidos procedimentales? Alambique 14, pp. 49-59
- Díaz de Bustamante, J. y Jiménez Aleixandre, M.P. (1999) Aprender ciencias, hacer ciencias: resolver problemas en clase .Alambique 20 pp. 9-16
- Domínguez Castiñeira (2002). Problemas de aprendizaje y enseñanza de procedimientos en ciencias. Universidad Santiago de Compostela. España
- Eggen, P. y Kaechak, D. (1999). Estrategias docentes. Enseñanza de contenidos curriculares y desarrollo de habilidades de pensamiento. Fondo de cultura económica. Buenos Aires.
- Fernández Pérez, M. (1994). Las tareas de la profesión de enseñar. Práctica de la racionalidad curricular. Didáctica aplicable. Siglo veintiuno. Editores. Madrid.
- Geli, A. M. (2000). La evaluación de los procesos y de los resultados en la enseñanza de las ciencias. En Perales, F. J.y Cañal, P. Didáctica de las Ciencias Experimentales.
- Gil Perez, D. (1981) Por unos trabajos prácticos realmente significativos. Revista del bachillerato, 17 (suplemento número 27) pág. 54
- Gil Pérez, D. y Valdez Castro, P. (1996) La orientación de las prácticas de laboratorio como investigación: un ejemplo ilustrativo. Enseñanza de las ciencias, 14 (2), pp. 155-163.
- Giordan, A. (1993) La enseñanza de las ciencias. Siglo veintiuno de España. Editores, Madrid
- Giordan, A (1985). Interés didáctico de los errores de los alumnos. Enseñanza de las ciencias 3 (1), 11-17. España.
- Gran, R. (1994) Qué es lo que dificil una investigación. Los trabajos prácticos y la educación en ciencias. Alambique. Didáctica de las Ciencias Experimentales. Nº 27-35.
- Hodson, D. (1994). Hacia un enfoque más crítico del trabajo de laboratorio. Enseñanza de las ciencias, 12 (3), pp.299-313.
- Jiménez Aleixandre, M.P. y García-Rodeja Gayoso, I. (1997) Hipótesis, resultados; reflexiones sobre la Comunicación Científica en Didáctica de las Ciencias, Enseñanza de las Ciencias, 15 (1) pp. 11-19.
- Jiménez Aleixandre, M.P (2000) Modelos didácticos en: Perales F.J. Cañal, P.. Didáctica de las Ciencias Experimentales. pp. 165-185.

- Jorba, J. y Sanmartí, N (1997) La evaluación como instrumento para mejorar el proceso de aprendizaje de las ciencias de la naturaleza en la educación secundaria. Barcelona.
- Miguens, M. y Garrett, R.M. (1991). *Práctica de la enseñanza de las ciencias*, 9 (3). 229-236.
- Novak, J.D. (1982) *Teoría y práctica de la educación*. Alianza., Editorial. Madrid
- Novak, J.D y Gowin D.B. (1995). *Aprendiendo a aprender*. Capítulo 1: Aprendiendo sobre el aprendizaje pp. 19-31. Traducción de Juan M. Campanario y Eugenio Campanario.
- Osborne, R. y Freyberg, P (1995). *El aprendizaje de las Ciencias. Implicaciones de las ideas previas de los alumnos*. Nancea: Madrid.
- Perkins, D. *La escuela inteligente. Las campanas de alarma*. Capítulo 2. Editorial Gedisa pp. 31-78
- Pérez Serrano, G. (1994) *Investigación cualitativa. Retos e interrogantes. Métodos*. Editorial La muralla. Madrid.
- Pozo, J. I. (1993) *Teoría de la reestructuración*. Capítulo VII .*Teorías cognitivas del aprendizaje* .Morata. España
- Pozo, J. y Monereo, C.(1999). *El aprendizaje estratégico*. Aula XXI Santillana. España
- Rabadán, J.M. y Martínez, P. (1999). *Las actividades en la enseñanza de las Ciencias: aproximación a una propuesta organizada y didáctica*. *Alambique*, 22, 67-75
- Rodríguez, A. (1989). *Creencias, actitudes y valores*. Madrid: Alambra.
- Salas, H. (1983). *Conceptos o procesos*. *Enseñanza de las Ciencias* 1 p.109
- Sanmartí, N. y Tarín, R. (1999). *Valores y actitudes: ¿se puede aprender ciencias sin ellos?* *Alambique* 22, 55-65.
- Sarda, J.; A.; Sanmartí Puig, Neus (2000). *Enseñar a argumentar científicamente: un reto de las clases de ciencias*. *Enseñanza de las ciencias*, 18 (3) 405-422.
- Sartori, G. (1998). *Homovideos. La sociedad teledirigida. La primacía de la imagen* pp. 23-53.
- Tamir, P.; García Rovirá, M.P. (1992). *Investigación y experiencia didácticas. Características de los ejercicios de práctica de laboratorio incluidos en los libros de textos de ciencia utilizados en Cataluña*. *Enseñanza de las Ciencias* 10 (1)3-12.
- Sacristán, J.G. (1992) *Teoría de la enseñanza y desarrollo del currículo*. Anaya S. A. Madrid

- Tamir, P. (1991). Practical work in school science: An analysis of current practice. E.B.E.- Woolnough, De., Practical Science open University.
- Vazquez Alonso, A. y Manassero Mas, M.A. (1997). Una evaluación de las actitudes relacionadas con la ciencia. Enseñanza de las ciencias: 15 (2), pp. 199-213
- Woolnough, B., (1989). Towards a holistic view of processes in science education, en Wellington, J. Ed.: Skills and processes in science education a critical analysis, Routledge.
- Woolnough, B., (1991). Practical science as a holistic activity, en Woolnough, B. Ed.: practical Science. The role and reality of practical work in school science, Open University.
- Zabala, A. (1998). La práctica educativa, Cómo enseñar. Graó, Colec. El lápiz. Barcelona.

VIII - ANEXO 1

VIII - 1 CRONOGRAMA: TRABAJOS PRÁCTICOS REALIZADOS DURANTE LOS  
AÑOS 2003 Y 2004

VIII - 2 GUÍAS DE LOS TRABAJOS PRÁCTICOS REALIZADOS EN LOS AÑOS  
ANTERIORMENTE MENCIONADOS

VIII – 1 CRONOGRAMA: Trabajos prácticos realizados durante los años 2003 y 2004

<i>SEMANAS</i>	<i>TRABAJOS PRÁCTICOS</i>
I	Explicación de T.P.-Bioterio
II	Dosaje de glucosa y glucógeno
III	Test de tolerancia endovenoso
IV	Extracción de triglicéridos
V	Dosaje de triglicéridos
VI	Semana libre por parcial de teoría voluntario
VII	Parcial
VIII	Velocidad de secreción de pre- $\beta$ lipoproteína-TG
IX	Estudio de la remoción de T.G. “in vivo”
X	Cromatografía en capa fina-Dosaje de colesterol
XI	Dosaje de proteínas- Seminario Western
XII	Coloquio integrador
XIII	Evaluación

VIII – 2 CRONOGRAMA: Clases teóricas, Seminarios y Trabajos prácticos

<b>SEMANAS</b>	<b>TEORIAS-SEMINARIOS- PARCIALES</b>	<b>TRABAJOS PRACTICOS</b>
I	Hidratos de carbono Hidratos de Carbono	Explicación T.P.-Bioterio
II	Hidratos de Carbono Hidratos de Carbono	Dosaje de glucosa y glucógeno
III	Lípidos Lípidos	Test de tolerancia a la glucosa endovenoso
IV	Lípidos Lípidos	Extracción de triglicéridos
V	Aminoácidos Alcohol	Dosaje de triglicéridos
VI	Consultas Consultas	Semana libre por parcial de teoría voluntario
VII	Consultas 1er. Parcial	
VIII	Aminoácidos Krebs-Resp.Celular	Velocidad de secrec.de V.L.D.L.-Tg
IX	Aminoácidos Nucleoproteidos	Estudio de la remoción de T.G. "in vivo"
X	Aminoácidos Hormonas	Cromatografía en capa fina- Dosaje.de colesterol
XI	Hormonas-Porfirinas Porfirinas	Proteínas-Seminario Western
XII	Consultas Consultas	Recopilación datos - Coloquio integrador
XIII	Consultas	Evaluación de T. Prácticos
XIV	2do. Parcial+ Regularizador	
XV	Recuperatorio	



# DETERMINACION DE GLUCOSA

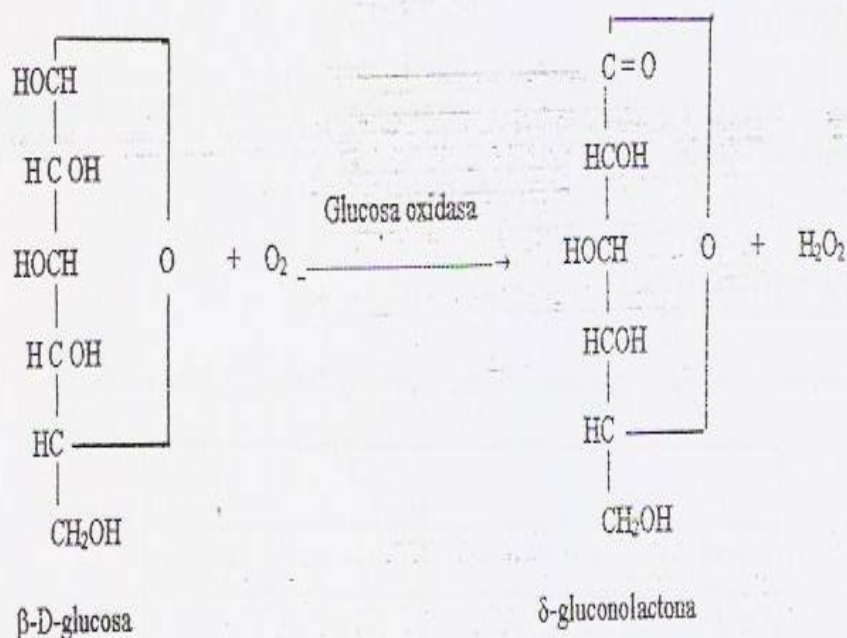
## Método Enzimático

### OBJETIVO:

Cuantificación de glucosa en suero o plasma de animales de experimentación.

### FUNDAMENTO DEL METODO:

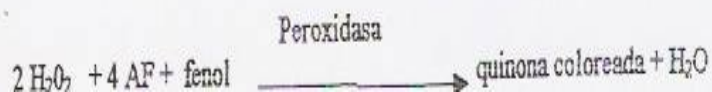
La  $\delta$ -gluconolactona se forma por oxidación aerobia de la glucosa catalizada por la enzima glucosa oxidasa del *Penicillium notatum*:



La glucosa oxidasa presenta marcada especificidad por la  $\beta$ -D-glucosa y se la emplea para la determinación cuantitativa de la glucosa, puesto que el peróxido de hidrógeno que se genera estequiométricamente puede medirse cuantitativamente, utilizando peroxidasa y un sustrato cromogénico adecuado o mediante métodos electroquímicos empleando un sensor amperométrico. Alternativamente, el consumo de  $\text{O}_2$  de la reacción inicial puede ser medido utilizando un electrodo de oxígeno.

En nuestro caso, el peróxido de hidrógeno producido en presencia de peroxidasa, 4 aminofenazona (4-AF) y fenol, forma una quinoneimina con un pico de absorción a 505 nm. La intensidad de color es proporcional a la concentración de glucosa de la muestra.

El esquema de reacción es el siguiente:





## REACTIVOS:

Standard: Solución de glucosa 1 g/l

Enzimas GOD/POD : Solución de glucosa oxidasa (1.000 U/ml.) y peroxidasa (120 U/ml.).

Reactivo 4-AF: Solución de 4-aminofenazona 25 mmol/l. en Buffer Tris 0,92 mol/l.

Reactivo fenol: Solución de fenol 5,5 mmol/l..

## PREPARACION DEL REACTIVO DE TRABAJO:

De acuerdo al volumen de trabajo, colocar en una pro- beta 500 partes de agua destilada, 50 partes de Reactivo 4-AF, 50 partes de Reactivo de Fenol y llevar a 1.000 partes con agua destilada. Agregar 3 partes de GOD/POD previamente homogeneizadas. Mezclar por inversión sin agitar. Conservar en refrigerador (2-10° C) y en frasco color caramelo. La estabilidad del reactivo es un mes a partir de la fecha de su preparación.

## MUESTRA:

Plasma recogido con heparina, EDTA (anticoagulantes) o EDTA - fluoruro (anticoagulante-antiglucofítico) o suero.

## PROCEDIMIENTO:

Preparar tubos con las siguientes inscripciones: Blanco (B), Testigo (T), Desconocido (D)

	B	T	D
Muestra			20 µl.
Testigo		20 µl	
Reactivo de trabajo	2 ml.	2 ml.	2 ml.

Incubar 10 minutos en baño de agua a 37° C. Luego leer en espectrofotómetro a 505 nm. El color de reacción final es estable 1 hora.

## CÁLCULOS:

C testigo = 1 g/l

PM (glucosa): 180 g/mol

El resultado se expresa en g/l y mM.

La reacción colorimétrica sigue la ley de Beer hasta una concentración de 4,5 g/l de glucosa.

**DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GLUCÓGENO**  
Método de hidrólisis ácida

**INTRODUCCIÓN:**

El glucógeno (polimero ramificado de  $\alpha$ -D-glucosa) es la forma principal de almacenamiento de hidratos de carbono, principalmente glucosa, en células animales y es fácilmente movilizable.

Se encuentra en mayor proporción en el hígado (hasta 6%) y en el músculo (1%). Sin embargo, debido a su masa mayor, el músculo almacena 3 a 4 veces la cantidad de glucógeno que tiene el hígado.

La mayoría de las unidades de glucosa del glucógeno están unidas por enlaces  $\alpha$ -1,4 glucosídicos; las ramificaciones se forman por enlaces  $\alpha$ -1,6 glucosídicos.

Existen distintos métodos para cuantificar glucógeno. En esta guía describiremos uno de ellos.

**FUNDAMENTO:**

La cuantificación de glucógeno en tejidos se puede realizar mediante hidrólisis ácida y en caliente. Luego se neutraliza y se centrifuga. En el sobrenadante obtenido se cuantifica espectrofotométricamente las unidades de glucosa utilizando un método enzimático.

**REACTIVOS:**

- HCL 2M.
- NaOH 2M.
- Cinta de pH.
- Kit comercial para cuantificar glucosa por el método enzimático de la glucosa oxidasa/peroxidasa (ver guía de T. P. "cuantificación de glucosa").

### TÉCNICA OPERATORIA:

- Pesar entre 150 y 200 mg de tejido hepático en tubo para homogeneizar.
- Adicionar 3,5 ml de HCl 2M.
- Homogeneizar.
- Llevar a tubos Falcon tapados en una gradilla a estufa 85-90 °C durante 2 horas.
- Enfriar en baño de hielo.
- Neutralizar con 3,2 ml de NaOH 2M y controlar con cinta de pH.
- Centrifugar a 7500 rpm durante 5 minutos.
- El sobrenadante se utiliza para la cuantificación de glucosa.

### Cuantificación de glucosa (ver guía correspondiente)

Estándar de glucosa = 1 g/l

	BLANCO	TESTIGO	DESCONOCIDO
	20 µl agua destilada	20 µl estándar	20 µl sobrenadante
Reactivo de color	2 ml	2 ml	2ml
Incubar 15 minutos a 37 °C			
Leer a 505 nm			

### RESULTADOS:

Expresar en: µmol / g tejido húmedo  
µmol / órgano total

Valor promedio para ratas alimentadas con DC =  $200 \pm 15$  µmol / g tejido húmedo.

### BIBLIOGRAFÍA:

- A comparison of three methods of glycogen measurement in tissues. Passonneau, J. and Landerdale, V. Anal. Biochem. 60: 405-412. (1974).

## **TRABAJO PRÁCTICO GLOBALIZADOR: “CAMBIOS METABÓLICOS INDUCIDOS POR DIETAS EXPERIMENTALES”**

### **OBJETIVOS:**

- ✓ Observar alteraciones metabólicas inducidas por los distintos tipos de dietas administradas a animales de experimentación.
- ✓ Determinar parámetros bioquímicos en suero y tejidos.
- ✓ Comparar los resultados obtenidos en los lotes experimentales respecto de sus controles.

### **ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN:**

Se utilizan ratas macho de la cepa Wistar, mantenidas en bioterio a una temperatura estable de aproximadamente 22°C, con ciclo de luz-oscuridad de 12 hs. (luz: 7 – 19 hs.) y libre acceso al agua y a la dieta standard de laboratorio (pellet). Al alcanzar 180-200 g. de peso las ratas se dejan en ayuno durante 12-14 hs., con el objeto de que acepten el cambio de dieta y se dividen en lotes experimental y control.

### **SEGUIMIENTO DE LOS ANIMALES:**

Durante el período experimental los animales serán pesados 3 veces a la semana para confeccionar la CURVA DE PESO: Peso (g) vs. Tiempo (días) y se calculará la comida efectiva, expresada en base seca (es decir sin el contenido de agua), de la siguiente manera:

#### **DÍA 1:**

- Pesar las ratas y obtener el peso promedio de cada lote ( $P_0$ ).
- Ofrecer una determinada cantidad de comida en un recipiente previamente pesado (CO).
- Llevar a estufa de 60°C, durante una semana, una alícuota de la misma comida A gramos (aproximadamente 10g), a fin de conocer el porcentaje de humedad y poder expresar la CO en base seca de la siguiente manera:

A g comida húmeda ..... A<sub>1</sub> g comida seca  
CO g comida húmeda ..... CO<sub>1</sub> g comida seca

#### **DÍA 2:**

- Pesar cada lote de ratas (aproximadamente a la misma hora) ( $P_1$ ).
- Retirar la comida remanente en el recipiente ( $R_1$ ).
- Recolectar la comida desperdiciada separándola de la materia fecal; colocar en caja de Petri previamente tarada, agregando  $R_1$ . Llevar a estufa de 60°C durante una semana; pesar. Este valor

La COMIDA EFECTIVA ingerida por el animal será:

$$CE = CO_s - R_s$$

### **TOMA DE MUESTRA:**

Finalizado el período experimental de 22 días, se pesa y se anestesia la rata con pentobarbital sódico (60 mg/kg de peso corporal con una concentración de 10mg/ml). Se extrae sangre de la vena cava inferior, se separa el suero y se conserva a -18°C hasta el momento de las determinaciones.

Se extraen trozos de dos lóbulos distintos del hígado, congelándolos inmediatamente con una pinza Wollemerger enfriada a la temperatura de la nieve carbónica. Se extrae el resto del hígado y se pesa, sumándole el peso del trozo congelado para obtener el peso total del hígado. Se muele el tejido con nieve carbónica en un mortero previamente enfriado y se guarda en termo de Nitrógeno líquido o en freezer -80°C, identificando cada porción. Se extraen también el tejido adiposo epididimal y retroperitoneal y se registra el peso.

### **PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS:**

Con los tejidos obtenidos se preparan homogeneizados. Trabajando entre 0 y 4°C se pesa rápidamente una alícuota del tejido triturado en un tubo de homogeneizador frío y tarado. Se diluye con la cantidad de agua destilada fría que corresponda (considerando que el Peso Específico del tejido es igual al del agua: 1g de tejido = 1 ml de tejido). Se homogeneiza en homogeneizador.

Ejemplo: peso de tejido triturado = 0,32 g  
dilución con agua = 1/10  
ml de agua a agregar = 0,32 x 9 ml

De este homogeneizado se toma el volumen requerido para las determinaciones o para efectuar una dilución mayor en aquellos procedimientos que lo requieran.

### **ANÁLISIS DE DATOS:**

Con los datos obtenidos en cada una de las determinaciones se obtendrá la expresión del resultado:

- Promedio:  $x = \frac{\sum x_i}{n_i}$
- Desviación Standard:  $S = \frac{\sum (x - x_i)^2}{n_i - 1}$
- Desviación Standard del Promedio:  $SEM = \frac{S}{n_i}$
- ✓ Expresión del resultado:  $x \pm SEM$

Para comparar los resultados de los parámetros estudiados entre dietas distintas respecto de sus controles, se utiliza el "t" test de Student, de acuerdo a la siguiente ecuación a partir de los valores individuales obtenidos en cada grupo en estudio:

Parámetro de Student:

$$t = \frac{x_1 - x_2}{\sqrt{SEM_1^2 + SEM_2^2}}$$

$x_1$  = valor promedio (lote 1)

$x_2$  = valor promedio (lote 2)

$n_1$  = número de muestras (lote 1)

$n_2$  = número de muestras (lote 2)

$n_1 + n_2 - 2$  = grado de libertad

Con  $t$  calculado y los grados de libertad se ingresa a la tabla de distribución "t", para sacar los niveles de probabilidad:

Niveles de probabilidad:

si  $p > 0,05$  no existe diferencia significativa

si  $p < 0,05$  sí existe diferencia significativa

## DIETAS:

Todas las dietas son isocalóricas y proveen aproximadamente 16,3 Kjoules/g de dieta seca.

La mezcla de sales y vitaminas son las recomendadas por el Instituto Americano de Nutrición (AIN - 93 M) para ratas adultas jóvenes.

### • COMPOSICION DE LAS DIETAS

<u>Componentes</u>	<u>Dieta control (DC)</u>		<u>Dieta rica en sacarosa (DRS)</u>		<u>Dieta rica en sacarosa y ABH (DRS + n-3)</u>	
	<u>g/100g</u>	<u>E (KJ/g)</u>	<u>g/100g</u>	<u>E (KJ/g)</u>	<u>g/100g</u>	<u>E (KJ/g)</u>
Almidón	62,5		-		-	
Sacarosa	-		62,5		62,5	
Proteínas	17		17		17	
Aceite maíz	8		8		1	
Aceite de hígado de bacalao	-		-		7	
Clorhidrato de colina	0,2		0,2		0,2	
Metionina	0,3		0,3		0,3	
Sales y vitaminas	4,5		4,5		4,5	
Fibra	7,5		7,5		7,5	

## TEST DE TOLERANCIA ENDOVENOSA A LA GLUCOSA

### PROTOCOLO EXPERIMENTAL:

#### Animales de experimentación:

Se utilizan ratas machos Wistar de un peso inicial de 180-200 g de peso inicial alimentados durante 3 semanas con dieta control o dieta experimental.

#### Metodología:

Los animales son ayunados durante 16 a 18 horas previas al inicio de la prueba. El estudio se lleva a cabo a las 8.00hs.

El animal a estudiar se pesa y posteriormente es anestesiado en forma intraperitoneal con pentobarbital sódico (60mg/kg de peso corporal). Una vez provocado el adormecimiento, se procede a canular las venas yugulares derecha e izquierda. Se extrae de la vena yugular derecha una alícuota de sangre (0,2-0,3 ml) correspondiente a la muestra basal y luego se administra lentamente por la misma vía 1 ml de una solución de glucosa 25% por cada 100 g de peso del animal. Luego se extraen muestras de sangre (0,2-0,3 ml) de la vena yugular opuesta a los 2, 5, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 minutos posteriores a la inyección de glucosa de manera tal que el volumen removido total no exceda los 7 ml/kg de peso. Luego de cada extracción, se reemplaza el volumen de sangre extraído por solución salina isotónica para mantener la volemia del animal.

Las muestras de sangre se recogen sobre hielo en tubos de microcentrifuga conteniendo heparina (10U/tubo) y luego son centrifugadas. El plasma obtenido se almacena a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su utilización.

#### Cuantificación de glucosa plasmática:

La concentración de glucosa en plasma se determina en forma enzimática mediante el método de la glucosa oxidasa/peroxidasa.

#### Procesamiento de resultados:

Una vez obtenidos los resultados, se procede a graficar en ejes cartesianos ortogonales la concentración de glucosa (variable y) en función del tiempo (variable x), observando que la desaparición de glucosa en plasma a lo largo del estudio (2 a 60 minutos) se ajusta a la siguiente relación:

concentración de glucosa en el tiempo t;

concentración de glucosa cuando  $t = 0$  al inicio de la experiencia (con la concentración de glucosa en la muestra de sangre basal obtenida antes de administrar la carga de glucosa endovenosa);

valor de los logaritmos neperianos;

velocidad o constante de desaparición de la glucosa; y

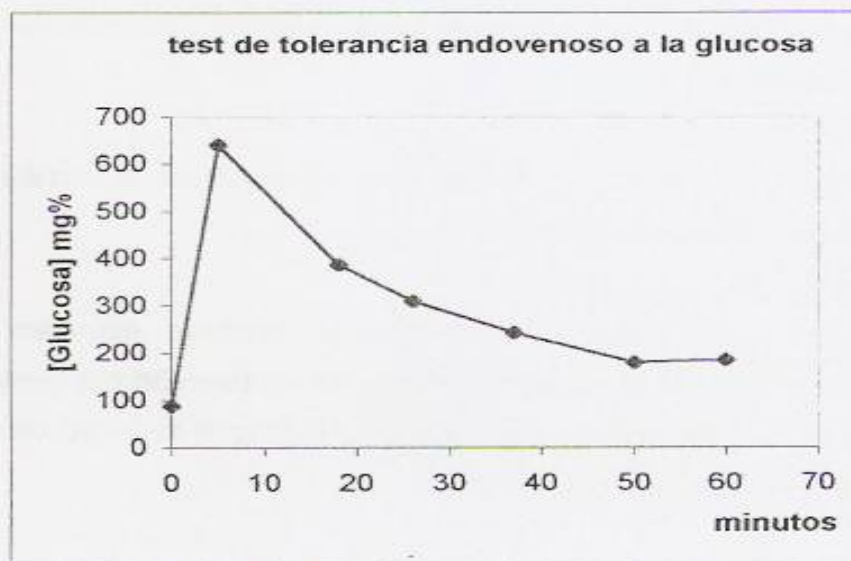
valor no considerado.

Si se expresan los datos en logaritmos naturales, la Ecuación 1 se transforma en:

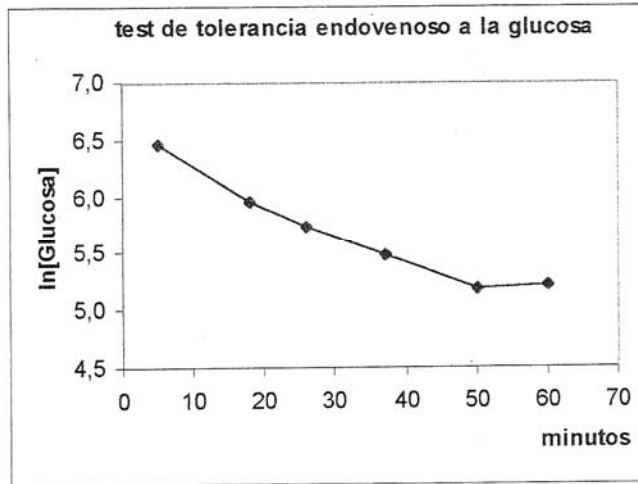
$$\ln C = \ln C_0 - K_g \cdot t \quad (\text{Ecuación 2})$$

De esta manera se puede determinar  $K_g$  calculando la pendiente de la gráfica de  $\ln C$  vs tiempo.

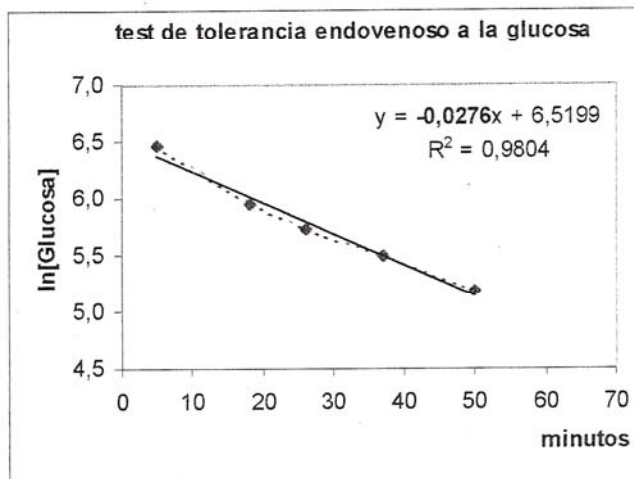
tiempo (minutos)	[Glucosa] mg%	$\ln[\text{Glucosa}]$
muestra basal	88	
5	642	6,465
18	387	5,958
26	310	5,737
37	244	5,497
50	180	5,193
60	185	5,220







En el gráfico se observa que luego de  $t = 50$  minutos ya no disminuye el  $\ln[\text{Glucosa}]$ , por lo tanto se considera para calcular la constante de desaparición de la glucosa el rango correspondiente a los tiempos 2 a 50 minutos.



A partir de la ecuación de la recta más probable, se determina que la constante de desaparición de la glucosa es:  $K_g = 0.0276$  y que cuando se extrapola a  $t = 0$ :  $y = \ln[\text{Glucosa}]$  toma un valor 6,5199, en consecuencia  $C_0 = 678,5 \text{ mg\%}$ .

## VALORES DE REFERENCIA:

Suero o plasma: 5,5 – 6 mmol/L.

## BIBLIOGRAFIA:

- ✓ White, A., Handler, P., Smith, E., Hill, R., Lehman, R. *Principios de Bioquímica*. Mc Graw Hill, Inc, USA- 6ta edición, 1978.
- ✓ Henry, R. J. *Química Clínica. Principios y Técnicas*. Ed. Jims 1980
- ✓ Tietz, N. W. *Fundamentos de Química Clínica*.

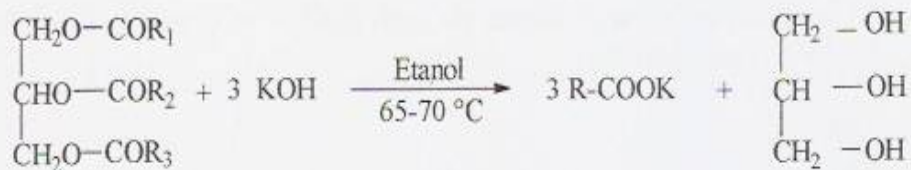
## DETERMINACION DE TRIGLICÉRIDOS EN SUERO Y TEJIDOS

### Método de Folch modificado

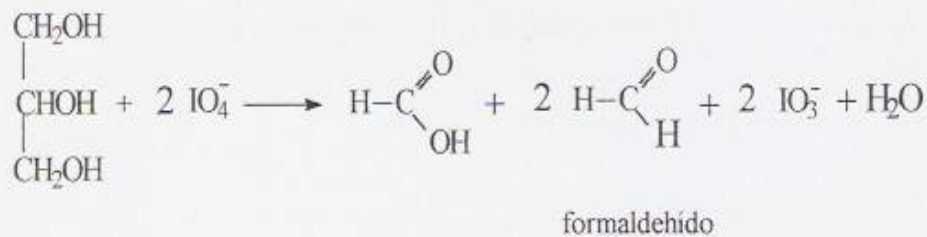
#### FUNDAMENTO:

El presente método se basa en la determinación del glicerol liberado por hidrólisis química de los triglicéridos. Posteriormente el formaldehído formado por oxidación del glicerol se detecta fotocolorimétricamente a través de la reacción con ácido cromotrópico que da lugar a un cromóforo violeta de estructura desconocida, de acuerdo a las siguientes reacciones:

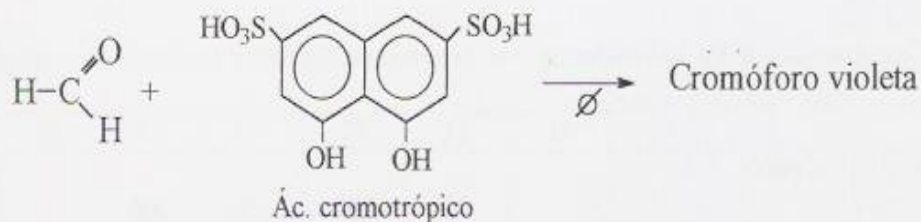
A.-



B.-



C.-



El método involucra los siguientes **pasos**:

- 1.- Extracción de los lípidos totales de 1 volumen de muestra con 19 volúmenes de mezcla Cloroformo/Metanol: 2/1 (v/v).
- 2.- Lavado del extracto crudo filtrado y diluido con soluciones adecuadas de sales y solventes para extraer las sustancias no lipídicas del mismo.
- 3.- Remoción de los fosfolípidos por adsorción con ácido silícico, debido a que interfieren al producir glicerol por saponificación.
- 4.- Saponificación de los triglicéridos (TG) con KOH etanólico.
- 5.- Dosaje del glicerol, por oxidación del mismo con peryodato (el exceso de peryodato se elimina por agregado de arsenito de sodio). El formaldehído producido se determina por reacción con ácido cromotrópico a 570 nm.

- 1.- Cloroformo.
- 2.- Metanol Absoluto.
- 3.- Mezcla extractante cloroformo/metanol: se prepara en el momento de usar manteniendo las proporciones 2/1 (v/v) respectivamente.
- 4.- Solución estandar de TG: 200 mg de trioleina/100 ml de cloroformo. PM 885,41 g/mol.
- 5.- Soluciones de lavado:
  - I-  $\text{CaCl}_2$  0.02 % en la mezcla cloroformo/metanol/ $\text{H}_2\text{O}$  : 3/48/47 (v/v/v)
  - II- Cloroformo/metanol/  $\text{H}_2\text{O}$  : 3/48/47 (v/v/v)
- 6.- Acido silicico 100 Mesh: Activado durante 2 horas a 110-120 °C y guardado en recipiente hermético en desecador.
- 7.- Etanol absoluto
- 8.- KOH 6 N
- 9.- KOH etanólico: se mezclan en el momento de usar KOH 6 N y etanol, manteniendo las proporciones 0,5/9,5 (v/v) respectivamente.
- 10.-  $\text{SO}_4\text{H}_2$  0.6 N.
- 11.- m- $\text{IO}_4\text{Na}$  0.02 M.
- 12.-  $\text{AsO}_2\text{Na}$  0.2 M.
- 13.- Reactivo de Color: diluir 300 ml de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  concentrado en 150 ml de agua destilada. Separadamente se disuelve 1 g de ácido 4-5 dihidroxi 2-7 naftalen disulfónico (ácido cromotrópico) sal disódica, en 100 ml de agua destilada, se filtra y se agrega el  $\text{SO}_4\text{H}_2$  diluido. Esta solución debe ser preparada dos días antes de ser usada. Guardar en frasco oscuro a 4 °C.

### MUESTRAS:

**Suero:** se procesa sin diluir.

**Homogeneizado de Tejido (hígado):** se procesa diluido 1/10.

### TÉCNICA:

#### 1.- Extracción de TG

Se realiza la extracción de los lípidos totales con la mezcla extractante cloroformo/metanol (2/1).

	B	T1	T2	T3	T4	D
Estandar de Trioleina 200 mg% ( $\mu\text{l}$ )	-	50	100	150	200	-
Suero u homogeneizado (dil. 1/10) ( $\mu\text{l}$ )	-	-	-	-	-	200
$\text{Cl}_3\text{CH}/ \text{CH}_3\text{OH}$ (2/1) (ml)	4.00	3.95	3.90	3.85	3.80	3.80

Agitar – Dejar reposar 60 minutos (**tubos tapados**).

Se filtra el homogenato en tubos de centrifuga, usando papel de filtro libre de grasas (previamente lavado con mezcla cloroformo/metanol 2/1). Marcar el volumen obtenido.

se agrega 0.7 ml de la solucion de lavado I y se mezcla. Se centrifuga hasta separacion completa de fases. La fase superior se elimina por succión.

Enjuagar la interfase agregando 0,7 ml de solución de lavado II, nuevamente mezclar. Centrifugar a separación de fases y descartar la fase superior por succión, eliminando la mayor cantidad posible (en caso de ser necesario repetir este último lavado).

Agregar gotas de metanol a la fase inferior y al liquido de enjuague remanente hasta formar una nueva fase.

Llevar nuevamente al volumen inicial con la mezcla cloroformo/metanol: 2/1 (v/v).

#### Remoción de fosfolípidos

	B	T1	T2	T3	T4	D
Acido silicico (g)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3

Agitar 30'' – reposar 10' - Agitar 30''  
Centrifugar 10'

Transferir 1,5 ml del sobrenadante a **tubos cortos**.

Evaporar a sequedad en Baño María 65 – 70 °C. (En esta etapa se puede detener la reacción tapando y enfriando los tubos a -20 °C).

#### Saponificación de TG:

	B	T1	T2	T3	T4	D
KOH etanólico (ml)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4

Agitar – Llevar a Baño María 65 – 70 °C 10' – Enfriar

	B	T1	T2	T3	T4	D
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.6 N (ml)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

Agitar – Llevar a Baño María 65 – 70 °C 10' – Enfriar

Transferir 0.3 ml de la mezcla a tubos de ensayo.

#### Dosaje de glicerol

	B	T1	T2	T3	T4	D
Na IO <sub>4</sub> 0.02 M (ml)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

Agitar – Dejar reposar 10'

	B	T1	T2	T3	T4	D
Na <sub>2</sub> AsO <sub>2</sub> 0.2 M (ml)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

Agitar – Dejar reposar 5'

	B	T1	T2	T3	T4	D
Reactivo de color (ml)	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0

Agitar - Llevar a Baño María en ebullición 30' - Enfriar. Leer en espectrototometro a 570 nm.  
El color es estable durante 2 horas.

### **EXPRESIÓN DEL RESULTADO:**

Suero: mM

Tejido:  $\mu\text{mol/g TH}$

$\mu\text{mol/peso de órgano}$

$\mu\text{mol/100 gr de rata}$

P.M de glycerol: 885,41 gr

### **Valores de referencia**

Suero: 50-80 mg% - 0.68 mM

Tejido (hígado): 10 - 14  $\mu\text{mol/g TH}$

### **BIBLIOGRAFIA:**

✓ "A Simple method for the isolation and purification of total lipids from the animal tissues". Jordi Folch, M. Lees, G. H. Sloane Stanley. J. Biol. Chemistry. Vol. 226, pp. 497-509. 1957.

## VELOCIDAD DE SECRECIÓN DE PRE- $\beta$ LIPOPROTEÍNA-TRIGLICÉRIDOS (VLDL-TG)

### FUNDAMENTOS TEÓRICOS:

Una técnica adecuada para determinar la velocidad de secreción hepática de triglicéridos (TG) "in vivo" es la descripta por Otway y col. La misma se basa en la inhibición de la clarificación de TG circulantes por la acción de un agente no iónico: Triton WR 1339. El mecanismo por el cual el Triton bloquea la remoción intravascular de las lipoproteínas de densidad menor de 1.006 g/ml no está completamente dilucidado. Se ha sugerido que este agente inhibe selectivamente la lipoproteína lipasa (LPL) funcionalmente activa de los tejidos extrahepáticos, enzima directamente involucrada en la hidrólisis de Tg provenientes de las VLDL y Quilomicrones. Por otro lado el Triton formaría un complejo con los lípidos o apoproteínas de superficie de las partículas de VLDL previniendo la delipidación por la acción de la LPL.

De lo expuesto, la acumulación de TG en suero, luego de la inyección de este agente, en función del tiempo, representa una medida válida para el estudio de la velocidad de secreción de VLDL-TG por el hígado "in vivo", ya que la contribución intestinal de las mismas en condiciones de ayuno, es despreciable. Por otro lado, está bien establecido que el Triton WR 1339 inhibe la remoción pero no interfiere con la síntesis y secreción de VLDL-TG.

### ANIMALES Y MATERIAL NECESARIO:

1. Ratas macho Wistar de los distintos lotes experimentales
2. Anestesia (Pentobarbital: 60 mg/ kg de peso corporal).
3. Triton WR 1339: 600 mg / kg peso corporal disueltos en 0,9% de NaCl. Preparar una solución de Triton = 150 mg/ml de Solución Fisiológica. Calcular el volumen a inyectar según peso del animal.
4. Cánulas.
5. Jeringas y agujas para extracción.
6. Solución Fisiológica.

### METODOLOGIA:

#### Pasos a seguir:

1. Ayunar los animales durante 12-16 horas.
2. Anestesiarse a los animales intraperitonealmente con pentobarbital según la dosis indicada.
3. Canular la vena yugular y tomar una muestra de sangre basal (tiempo=0).
4. Inyectar a través de la cánula la solución de Triton calculada según la dosis y el peso del animal.
5. Mantener los animales a 37 °C durante toda la experiencia.
6. Realizar extracciones de sangre utilizando la otra vena yugular a 60, 90 y 120 min luego de la administración del Triton. Conservar las muestras a 4°C hasta finalizar la experiencia.

7. Centrifugar las muestras y separar el suero.
8. Dosar el contenido de TG en cada una de las muestras obtenidas mediante la técnica de determinación enzimática de TG (ver guía de T.P. correspondiente). Para determinar [TG] a los 120 min., se debe diluir la muestra con solución fisiológica antes de procesar. A modo de ejemplo: para animales DC:  $d=1/3$  y para animales DRS  $d=1/4$ .
9. Calcular la velocidad de secreción (VSTG) según la siguiente expresión:

$$\text{VSTG}(\eta\text{mol}/100\text{g peso}/\text{min}) = \frac{(\text{TG}_{(120)} - \text{TG}_{(0)}) \times V_p \times 100}{120 \times P}$$

$\text{TG}_{(0)}$  = [TG] a tiempo= 0 min.

$\text{TG}_{(120)}$  = [TG] a tiempo= 120 min.

$V_p$  = Volumen plasmático

$P$  = Peso del animal

100 = factor para corregir la expresión por 100 g rata.

#### Determinación del volumen plasmático

Se determina en los animales de ambos grupos experimentales usando la técnica de dilución del Azul de Evans:

- A animales ayunados (12-16 horas) y anestesiados se les extrae 0,4 ml de sangre de la vena yugular y por dicha vía se inyecta una solución del colorante Azul de Evans (0,4% p/v).
- A los 5 minutos de la inyección del colorante se extraen aproximadamente 1 ml de la vena cava inferior.
- Las muestras de sangre son centrifugadas y el suero diluido 1/10 en ambos casos.
- La absorbancia de la muestra es leída en espectrofotómetro a 600nm. La absorbancia debida al colorante Azul de Evans es calculada por diferencia del valor obtenido de la muestra de plasma diluida extraída previa y 5 min. después de la administración del colorante.
- Se realiza una curva standar del colorante agregando cantidades aditivas del mismo a la muestra basal del plasma diluido. El volumen plasmático se calcula según la siguiente ecuación:

$$V_p \text{ (ml)} = \frac{M}{C}$$

$M$  = masa en  $\mu\text{g}$  de Azul de Evans adicionada.

$C$  = concentración en  $\mu\text{g}/\text{ml}$  del colorante luego de 5' de su administración.

#### VALORES DE REFERENCIA:

Dieta control: 130- 170 nmol/minuto/100 g rata.

#### BIBLIOGRAFIA:

- ✓ Otway S. and Robinson D. "The use of an non-ionic detergent (Triton WR 1339) to determine rates of triglyceride entry into the circulation of the rat under different physiological conditions". J. Physiological 190, 321-330 (1967).
- ✓ Bernal C., Basílico M.Z., Gutman R., Lombardo Y.B. "Secretion and removal rates of very low density lipoprotein triglycerides at the three metabolic periods of hipertriglyceridemia induced by a sucrose rich diet". Nutr. Rep. Int. 40, 71-83 (1989).



## ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE TG IN VIVO: TEST DE TOLERANCIA GRASA ENDOVENOSO.

### FUNDAMENTOS TEÓRICOS:

El test de tolerancia grasa endovenoso, el cual involucra la administración de una emulsión grasa artificial, es una herramienta conveniente para el estudio de la remoción de triglicéridos (TG) en diferentes estados metabólicos. Se ha comprobado que la emulsión grasa "Intralipid" (I) es un trazador útil para el estudio de la velocidad de remoción fraccional de los TG circulantes. Al ponerse en contacto con la circulación la partícula lipídica adquiere Apo CII, Apo CIII y Apo A de lipoproteínas ( $\alpha$  lipoproteína- HDL), constituyendo de esta manera un sustrato adecuado para ser degradado en forma similar a las pre $\beta$ -lipoproteínas y Quilomicrones por las enzimas tisulares.

La velocidad de desaparición de la emulsión grasa desde la circulación (cuantificada como concentración de TG en función del tiempo) sigue una cinética de primer orden. La constante cinética,  $K_2$ , es la velocidad fraccional de remoción:  $K_2$  (%  $\text{min}^{-1}$ )

### ANIMALES Y MATERIAL NECESARIOS:

1. Ratas macho Wistar de los distintos lotes experimentales ayunadas durante 16-18 horas.
2. Anestesia (Pentobarbital: 60 mg / kg de peso corporal).
3. Heparina.
4. Cánulas heparinizadas.
5. Jeringas de 2 ml y agujas para extracción.
6. Solución Fisiológica.
7. Intralipid al 20%.

### METODOLOGÍA:

#### **Pasos a seguir:**

1. Los animales tendrán un ayuno de 12-16 horas.
2. Anestesiarse los animales intraperitonealmente con pentobarbital según la dosis indicada.
3. Canular la vena yugular y tomar una muestra de sangre basal (tiempo = 0) con jeringa heparinizada.
4. Inyectar a través de la vena yugular 0,1 ml de Intralipid al 10% / 100 g de peso corporal.
5. Realizar extracciones de sangre (0,2-0,3ml) mediante cánula en la otra vena yugular a los 2,4,6,10,20 y 30 minutos después de la administración del I, enjuagando las jeringas con solución

7. Centrifugar las muestras a 600 rpm (60xg) durante 10 min. Separar el plasma cuidadosamente y trasvasarlo a otro tubo y centrifugar nuevamente bajo las mismas condiciones para eliminar cualquier remanente de células rojas.
8. Diluir los plasmas obtenidos a los distintos tiempos con solución fisiológica según corresponda.
8. Graficar [TG] vs Tiempo
9. Calcular  $K_2$  %  $\text{min}^{-1}$

### VALORES DE REFERENCIA:

Dieta control  $k_2$  6-12 %  $\text{min}^{-1}$

### BIBLIOGRAFIA:

- ✓ Lewis B., Boberg J., Mancini M. and Carlson L.A. *Atherosclerosis* 15, 83-86.(1963)-
- ✓ Rossner S. *Acta Med. Scand.Supp.* 1, 564, 1-24. (1974)

## CROMATOGRAFÍA EN CAPA DELGADA

### OBJETIVO:

Separación e identificación cualitativa de una mezcla de lípidos por la técnica de cromatografía en capa delgada (CCD) o también denominada cromatografía líquida planar (TLC: del inglés Thin Layer Chromatography), monodimensional ascendente.

### FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Es un método cromatográfico que permite la separación diferencial de los compuestos presentes en una mezcla sobre una capa delgada, llamada fase estacionaria ó fija y una fase móvil ó circulante. Dependiendo del material que constituye la capa delgada, el mecanismo de separación puede ser de reparto, adsorción, intercambio iónico ó exclusión molecular. Uno de los más empleados es el de adsorción.

El material sólido que sirve como fase estacionaria en la cromatografía de adsorción se denomina adsorbente, depositado sobre un soporte rígido (cromatoplaaca) o flexible (cromatofolio). Se ha estandarizado para la CCD que el espesor de la capa de adsorbente sea de 250  $\mu$ . Como la adsorción es un fenómeno de superficie, es importante que el polvo utilizado para la cromatografía tenga un tamaño de partícula lo suficientemente pequeño para proporcionar una gran área superficial para la adsorción de las sustancias a separar.

El adsorbente más usado es el gel de sílice, al que se le añaden aglutinantes como yeso o almidón para reforzar su adherencia al soporte. Los granos de silicagel tienen un tamaño que usualmente va de 5 a 20  $\mu$  ( $x = 12\mu$ ) y deben ser de una forma irregular para aumentar la superficie de contacto. Podrían ser comparados con una esponja con poros y dentro de ellos está la energía interfacial necesaria para la interacción. El diámetro de los poros en el interior de las partículas es de unos 60 Å (unas 1000 veces menor que el tamaño de la partícula). Como soporte se utilizan placas de vidrio, plástico o metal.

Este método cromatográfico se puede considerar como una optimización de la cromatografía en papel. Entre las ventajas de la CCD podemos citar su versatilidad (permite el uso de variados soportes y solventes), sensibilidad en alto grado, rapidez para separar en forma bien definida compuestos estructuralmente muy similares y posibilidad de separar muchas muestras simultáneamente. Además, cuando el material que forma la capa delgada es de naturaleza inorgánica, pueden emplearse para la comprobación de las sustancias cromatografiadas reactivos agresivos tales como ácido sulfúrico o ác. sulfocrómico, y condiciones tales como calentamiento a 150 °C.

Existen diferentes técnicas cromatográficas para el desarrollo de la CCD entre las cuales podemos citar: monodimensional (ascendente o descendente), bidimensional, HPTLC (high performance thin layer chromatography), entre otros. El método más sencillo, y en consecuencia el más usado, es el monodimensional ascendente, en el cual el eluyente avanza hacia arriba sobrepasando la mancha de siembra en el origen. La fuerza gravitatoria limita el ascenso del eluyente y de las sustancias cromatografiadas. Estas últimas son arrastradas a velocidades distintas formando zonas de alta concentración llamadas comúnmente manchas.

La distancia recorrida por una sustancia particular, en un tiempo fijo y en condiciones específicas, es función de la resultante de la fuerza impulsora y de la fuerza que la retiene. Tanto en la

En un cromatograma de adsorción como en la de reparto, es muy importante la relación entre la velocidad de movimiento del soluto y la del medio de elución:

$$R_f = \frac{\text{velocidad de movimiento del soluto}}{\text{velocidad de movimiento del frente de elución}}$$

En la práctica se utiliza la relación anterior en términos de las distancias recorridas por cada uno en la placa.

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por el soluto}}{\text{distancia recorrida por el frente de elución}}$$

El valor de "Rf" obtenido bajo condiciones definidas, representa una característica importante de una sustancia, por eso ha de determinarse muy cuidadosamente.

En razón de la variación del Rf producida por múltiples causas, algunas difíciles de controlar, tales como la actividad del adsorbente, la saturación de la cámara de desarrollo, las condiciones ambientales durante el desarrollo y la cantidad de muestra, es recomendable hacer desplazar en el mismo cromatograma una sustancia de referencia o testigo. Esto permite definir un valor de Rx relativo:

$$R_x = \frac{\text{distancia recorrida por el soluto}}{\text{distancia recorrida por el testigo}}$$

## MATERIALES Y REACTIVOS:

Placas de Sílica gel "G" 60 Å.

Cubas de cromatografía

Cloroformo.

Metanol.

Mezcla extractante cloroformo/metanol : se prepara en el momento de usar manteniendo las proporciones 2/1 (v/v) respectivamente.

Solución de lavado I: Cl<sub>2</sub>Ca 2% en la mezcla cloroformo: metanol:H<sub>2</sub>O (3/48/47)

Solución de lavado II: cloroformo: metanol:H<sub>2</sub>O (3/48/47)

Ác. fórmico.

n-Heptano.

Diisopropil éter.

Ác. acético.

SO<sub>4</sub>Cu al 10% en PO<sub>4</sub>H<sub>3</sub> 8%: es conveniente mantener las soluciones por separado y mezclar antes de usar.

Jeringas o capilares para la siembra

Secador de cabello

## PROCEDIMIENTO:

1) Preparación de las placas:

Para el fraccionamiento de lípidos utilizamos placas que contienen como adsorbente gel de sílice "G" (fase estacionaria o inmóvil) conteniendo yeso como aglutinante

Para ser utilizadas en la separación de lípidos las placas deben lavarse con cloroformo: metanol: H<sub>2</sub>O (60:40:10) durante la noche previa.

Cuando se utilizan placas de silicagel, es preciso eliminar el agua que normalmente tiene retenida por interacciones polares con sus grupos silanoles (SiOH). De no tomar esta precaución, la separación cromatográfica de los solutos sería la consecuencia de un doble proceso: por una parte se produciría un reparto por solubilidad, y por otro un proceso de adsorción. La extensión en que se darían uno y otro dependería del grado de humedad de la placa, y en definitiva, los resultados serían poco reproducibles. Para eliminar este inconveniente, se procede a *activar las placas* de silicagel antes de la aplicación de la muestra, colocándolas en un soporte especial y llevando a estufa a 110 °C durante 30 min.

#### **b) Extracción de lípidos:**

##### *Método de Folch.*

Los lípidos de la muestra son extraídos con una mezcla de cloroformo: metanol (200 µl de suero u homogeneizado de hígado diluido 1/10 + 3,8 ml de mezcla) durante 2hs.

Se filtra y se marca el volumen del filtrado. Se lava con 0,7 ml de solución salina I, se centrifuga para separar las fases y se elimina la superior por succión. Se repite la operación con solución de lavado II. Se agregan unas gotas de metanol y se lleva nuevamente a volumen con mezcla cloroformo: metanol.

Se trasvasan 2 ml a un tubo corto y se evapora a sequedad en baño a 65-70 °C.

#### **b) Aplicación de las sustancias:**

Se preparan soluciones testigo al 1% en cloroformo de: trioleína, colesterol, acetato de colesterol y ác. palmítico. Las muestras se resuspenden en 100µl de cloroformo.

Se siembran a una distancia de 1 cm del borde inferior de la placa constituyendo la llamada "línea de siembra" del cromatograma. Los puntos de siembra de cada sustancia estarán separados a 1 cm unos de otros. Es recomendable verter la solución problema en pequeñas porciones (gota a gota) evaporando el solvente de cada gota antes de agregar la siguiente. El diámetro de las manchas en el origen debe ser lo más pequeño posible.

#### **c) Desarrollo:**

Es de esencial importancia obtener antes de colocar la placa una buena saturación de la cuba. La *fase gaseosa* es el estado ambiental existente en la cuba donde se desarrolla la cromatografía. Todo desarrollo cromatográfico está altamente influenciado por las interacciones entre la fase gaseosa y la fase estacionaria. La presión lo hace en forma directa (a mayor presión, mayor adsortividad), mientras que la temperatura lo hace en forma inversa (a mayor temperatura, menor adsortividad).

El nivel del eluyente debe hallarse por debajo de la línea de siembra del cromatograma.

- I. Colocar la placa en una cuba con cloroformo: metanol: ac. fórmico (1:2:1), para separar los fosfolípidos que quedan en el punto de aplicación, hasta que suba aproximadamente 0,3 cm. Sacar la placa y secarla bien con secador.
- II. Colocar la placa en una cuba con n-heptano: diisopropil éter: ác. acético (70:30:2) hasta que llegue al cm 9 desde el punto de aplicación. Sacar la placa y secarla bien con secador.
- III. Colocar la placa en una cuba con n-heptano para arrastrar todas las impurezas hasta el cm 11 desde el punto de aplicación.
- IV. Retirar la placa de la cuba, marcar el frente del eluyente y secar bien con secador.

d) Revelado:

Sumergir la placa en una solución de  $\text{SO}_4\text{Cu}$  10% en ác. fosfórico 8% durante 4-6 seg. Sacar la placa, secarla con secador y dejarla en reposo 20 min. Colocar en estufa a  $200^\circ\text{C}$  durante 2,5 - 4,5 min. (hasta aparición de las manchas).

e) Identificación de las sustancias:

Se calculan los Rf y se procede a la identificación de las sustancias presentes en la muestra.

BIBLIOGRAFÍA:

- ✓ *Cromatografía de capa fina*. K. Randerath. Editorial Urmo. 1969.
- ✓ *Thin-Layer Chromatography*. G.B. Marini - Bettolo. Editorial Elsevier Publishing Company. 1964.
- ✓ *Cromatografía en papel y capa delgada*. Xorge A. Dominguez. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. OEA. Washington D.C. 1982.
- ✓ *Técnicas de Bioquímica y Biología molecular*. D. Freifelder. Editorial Reverté. 1979.
- ✓ *Quantitative Thin Layer Chromatography*. J.C. Touchstone. Editorial Jhon Wiley & Sons. 1973.
- ✓ *Lipid Analysis*. W.W. Christie. Editorial Pergamon Press. 1982.
- ✓ *Técnicas instrumentales de análisis en Bioquímica*. J.M. García -Segura, J. Gavilanes, A. Martínez del Pozo, F. Montero, M. Oñaderra, F. Vivanco. Editorial Síntesis. 1996.

## DETERMINACION DE COLESTEROL

Método de H. Harrison y M. D. Leffler

### OBJETIVO:

Dosaje de colesterol total en suero y tejidos de animales de experimentación.

### INTRODUCCIÓN:

El colesterol es uno de los compuestos biológicos denominados "esteroides", los cuales poseen la estructura básica cíclica: "ciclopentanoperhidrofenantreno".

El colesterol es fundamental para el funcionamiento normal del organismo, por ser componente de todas de las membranas de las células animales; además es precursor de ácidos biliares, de hormonas esteroides, etc.

Casi todos los tejidos son capaces de sintetizar colesterol a partir de acetil CoA, siendo los órganos sintetizadores más activos el hígado y la pared intestinal. Estos dos tejidos son los que aportan la mayor cantidad de colesterol de origen endógeno al plasma.

Debe destacarse que existe un desplazamiento continuo del colesterol desde y hacia la corriente sanguínea. La velocidad de recambio y la cantidad intercambiable con el plasma varían de un tejido a otro.

### FUNDAMENTO:

El método de H. Harrison y M. D. Leffler es un método de 2 etapas. En la primera, las proteínas de la muestra son precipitadas y extraído el colesterol. En la segunda, el agregado del reactivo  $\text{Cl}_3\text{Fe} + \text{PO}_4\text{H}_2 + \text{SO}_4\text{H}_2$  a una alícuota del sobrenadante, produce un color estable cuya densidad óptica es proporcional a la cantidad de colesterol total presente.

### REACTIVOS:

- a) Alcohol isopropílico p.a.
- b) Solución stock férrica: 2.5 g. de  $\text{Cl}_3\text{Fe} \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  es disuelto en 100 ml.  $\text{PO}_4\text{H}_2$  al 87 %. Estable 9 meses.
- c) Reactivo de color: 8 ml. de la solución stock es diluida a 100 ml. con  $\text{SO}_4\text{H}_2$  conc. Esta solución es estable por 6 semanas cuando es conservada en oscuridad (frasco color caramelo) a temperatura ambiente. Si aparece precipitado debe descartarse.
- d) Acido acético glacial.
- e) Solución de colesterol concentrada: Preparar una solución saturada de colesterol en alcohol etílico (2.5 g/100 ml.), la solución es posteriormente enfriada a  $4^\circ \text{C}$  hasta que la recristalización sea completa. El sobrenadante es descartado. El colesterol es recristalizado 2 veces más y secado al vacío hasta peso constante. **100 mg. de colesterol purificado es diluido a 100 ml. con alcohol**

f) Solución de colesterol de trabajo: 1,6 ml. de la solución concentrada de colesterol es llevado a 10 ml. con alcohol isopropílico.

### MUESTRAS:

Suero - Tejidos.

### PREPARACION DE LAS MUESTRAS:

#### Preparación del homogeneizado:

Para tejido hepático se utiliza una dilución 1/10 en agua destilada fría.

#### Extracciones:

Tejidos: a 0,3 ml. de homogeneizado de hígado diluido 1/10 se le agregan 2,7 ml. de alcohol isopropílico.

Suero: a 100 µl se le agregan 2,4 ml. de alcohol isopropílico.

- ◆ Agitar 10 segundos.
- ◆ Reposo 10 minutos.
- ◆ Agitar 10 segundos.
- ◆ Centrifugar 5 minutos.

	B	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	D
Alcohol isopropílico (ml.)	1	0,875	0,750	0,500	-
Solución testigo (ml)	-	0,125	0,250	0,500	-
Muestra (ml)	-	-	-	-	1
Acido acético (ml.)	2	2	2	2	2
Reactivo de color (ml)	2	2	2	2	2

Adicionar lentamente el reactivo de color por las paredes del tubo, mezclar con varilla, enfriando en baño o bajo corriente de agua.

Dejar en reposo 10 minutos y leer en espectrofotómetro a 540 nm.

El color es estable varias horas.

### RESULTADOS:

PM colesterol: 386,64 g/ mol

Suero: mM

Hígado: mg/ g TH

### VALORES DE REFERENCIA PARA RATAS CONTROLES:

**Suero:** 1,80 mmol/L.

**Hígado:** 3 – 5 mg/g TH.

### BIBLIOGRAFIA:

✓ Harrison H.; Leffler M.D. "Estimation of cholesterol in serum". American Journal on Clinical Pathology. Vol 31 N° 4 April 1959.



## DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS

Método del Fenol de Folin,  
modificado por Lowry, Rosebrough, Farr y Randall

### FUNDAMENTOS:

Esta técnica se lleva a cabo en dos etapas. En la primera, las proteínas son tratadas con una solución alcalina de cobre; y en la segunda se adiciona el reactivo de fenol de Folin Ciocalteau, siendo su constituyente activo la mezcla ácida tungstica-molibdica. Las proteínas provocan la reducción de los ácidos fosfomolibdico y fosfotungstico con pérdida de 1, 2 ó 3 átomos de oxígeno del tungstato y/o molibdato, produciendo un complejo que tiene un color azul característico.

El cobre, al permanecer en la estructura peptídica, facilita la transferencia de electrones desde la vecindad de los grupos funcionales aminoácidos, a la mezcla cromogénica ácida, incrementando así la sensibilidad de la proteína.

La producción de color por los péptidos es aproximadamente igual a la suma de cromogenicidad de los aminoácidos que los componen (dependiendo de la secuencia, longitud de la cadena y la exposición de los grupos funcionales) y de la proporcionada por las uniones peptídicas.

La tirosina y el triptofano dan color incluso en ausencia de cobre, la cistina, cisteína e histidina son también cromogénicos, pero en menor grado, pero el resto de la molécula proteica no produce la reacción coloreada a menos que existan los iones cobre.

La reacción se realiza a pH 10 debido a que a esta concentración de hidrogeniones se obtiene el máximo desarrollo de color. A ese pH la solución de Folin es solamente reactiva por un corto tiempo, razón por la cual es necesario mezclar de inmediato. La disminución de la reactividad parece ser función de la desaparición del color amarillo original del fosfomolibdato (aproximadamente 8 segundos), y es presumiblemente debido a la disociación de los aniones fosfomolibdato con formación de ácido fosfórico, que disminuye el pH, motivo por el cual la solución debe ser tamponada.

### MUESTRA:

Homogeneizado de tejido.

### REACTIVOS:

- Solución testigo: Albúmina 100 mg%.
- Reactivo A: Disolver 30 gr de  $\text{CO}_3\text{Na}_2$  anhidro y 4 gr de NaOH, en agua dest. y enrasar a 1l.
- Reactivo B: Solución de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  al 2%.
- Reactivo C: Solución de tartrato de Na y K al 4%.

Mezcla Reactiva: Mezclar en el momento de usar 1 volumen de reactivo B con 1 volumen de reactivo C y 100 volúmenes de reactivo A.

- Reactivo de Folin-Ciocalteau: Solución de tungstato y molibdato de Na en medio ácido. Diluir al medio con agua destilada antes de usar.

### TÉCNICA OPERATORIA:

- Preparar un homogeneizado del tejido a una dil. 1/10, llevar a una dilución final de 1/500.

2) Cuantificación de proteínas.

TUBOS	B	T1	T2	T3	T4	T5	I
Sol. Testigo (μl)		25	50	75	100	125	
H <sub>2</sub> O dest. (μl)	200	175	150	125	100	75	
Homog. (μl) dil. 1/600							200
Agitar- Reposo 5 min.							
Mezcla (ml) reactiva	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Agitar- Reposo 10 min.							
R. Folin (μl) Cioclateau dil.	250	250	250	250	250	250	250
Agitar inmediatamente- Reposo 30 min.							

Leer en espectrofotómetro a 660 nm.

**RESULTADOS:**

Expresar en: mg/gr tejido húmedo.

**VALOR DE REFERENCIA:**

Dieta control: 180-250 mg/ g TH.

**BIBLIOGRAFÍA:**

✓ "Protein measurement with the Folin Phenol reagent". O.H.Lowry, N.J.Rosebrough, A.Lewis Farr, R.J.Randall. J.Biol.Chem. Vol.193. pp 265-275. 1951

✓ Revisión de la cuantificación de Proteínas por el método del Fenol de Folin, de Lowry, Rosebrough, Farr y Randall. G.Peterson.

## WESTERN BLOTTING

Western Blotting es una técnica sensible para la determinación cualitativa y cuantitativa de proteínas.

La muestra se somete a una electroforesis en gel de SDS-Poliacrilamida (SDS-PAGE) para separar las proteínas por su tamaño molecular. Luego, las proteínas separadas se transfieren electroforéticamente a membranas de nitrocelulosa, a la cual se enlazan irreversiblemente. En estas membranas queda una réplica del patrón de proteínas separadas en el gel, y aquí se pueden aplicar una amplia variedad de procedimientos analíticos a las proteínas inmovilizadas. A continuación se adiciona un Anticuerpo o ligando específico para la proteína en estudio y se procede a la detección del complejo Antígeno-Anticuerpo (Ag-Ac)

### 1ª. PARTE: SDS-PAGE

La electroforesis en gel de poliácridamida es un método de alto poder resolutivo que combina la migración en un campo eléctrico y el tamizado molecular a través de un gel de corrida.

#### Soporte:

Los geles de poliácridamida resultan de la polimerización en largas cadenas de la acrilamida monomérica y de su entrecruzamiento por medio de la N, N'-metilénbisacrilamida (o bisacrilamida).

La polimerización de la acrilamida es iniciada con el agregado de *persulfato de amonio* o de riboflavina (iniciador del proceso), siendo el primero el más comúnmente usado. Además se necesita un acelerador del proceso de polimerización, para lo cual se añade N, N, N', N'-tetrametilendiamina (TEMED). En el sistema persulfato de amonio-TEMED, éste último cataliza la formación de radicales libres a partir de persulfato lo que en definitiva inicia la polimerización.

El oxígeno inhibe la polimerización, ello hace que los reactivos a emplear deben ser previamente desgasificados.

Los monómeros (en polvo o disolución) son neurotóxicos, por absorción a través de la piel o por inhalación. Por ello deben manejarse en una campana extractora, con guantes y mascarilla. Luego de la polimerización, la toxicidad es baja, pero es recomendable usar guantes para manipular el gel, debido a la posible presencia de monómeros libres

El *poro del gel* desempeña un papel fundamental. En algunos geles, como los de agarosa, los poros son suficientemente grandes como para no retener a la mayoría de las moléculas proteicas que migran, por lo que aquí la separación dependerá fundamentalmente de la carga neta de éstas. Además, dado que se trata de un producto natural sus poros no son homogéneos.

El tamaño del poro del gel de poliácridamida está muy influenciado por la concentración de acrilamida total en la mezcla de polimerización, por lo que pueden

conseguirse poros de diferentes diámetros según las condiciones de la polimerización: el tamaño del poro efectivo disminuye, al incrementarse la concentración de acrilamida. En un gel de determinado poro, el tamaño molecular y la carga neta serán los factores determinantes de la separación de las moléculas de una mezcla.

### Muestra:

Utilizaremos un sistema de buffer **para disociar proteínas** en sus subunidades polipeptídicas. El agente disociante más empleado es el detergente no iónico, dodecil sulfato de sodio (SDS).

La muestra debe ser procesada previamente a su análisis. Para ello se le adicionará:

- Buffer Tris-HCl, pH= 6,8
- Agente desnaturante (SDS, urea) = produce desplegamiento de las proteínas. Las proteínas pierden su estructura tridimensional y por lo tanto su actividad biológica. El agente desnaturante debe incluirse también en el buffer de los reservorios y en los de los geles (de concentración y de resolución), para mantener las condiciones disociantes
- Agentes reductores ( $\beta$  mercaptoetanol, ditiotretol): rompen los puentes disulfuro intra o intercatenarios existentes en las proteínas
- Sacarosa o glicerol: para aumentar la densidad
- Azul de bromofenol: para visualizar el frente de corrida

Calentar a BM 100°C durante 3 minutos

Los **patrones de PM conocido** también deben procesarse de igual forma que la muestra.

La mezcla de proteínas es desnaturada por calentamiento a 100 °C en presencia de un exceso de *SDS* y *2-mercaptoetanol*. En estas condiciones el tiol rompe los puentes de disulfuro que pudieran existir y el agente desnaturante hace que la proteína se desdoble en sus polipéptidos constitutivos, los que fijan SDS en una relación constante (1,4 g. de SDS por gramo de polipéptido). A causa de ello la carga intrínseca del péptido se hace insignificante ante el exceso de carga negativa de SDS, como consecuencia, la carga de todas las moléculas será prácticamente idéntica. Su desplazamiento en un campo eléctrico, en el que el soporte de corrida es un gel de determinada porosidad, dependerá exclusivamente de su tamaño molecular. Este método, conocido como electroforesis en gel de poli(acrilamida) en presencia de SDS o **SDS-PAGE**, permite, por comparación con sustancias de peso molecular conocido que han sido corridas simultáneamente, determinar el peso relativo de los productos de análisis.

Importante la **masa a sembrar**: 1-150  $\mu$ g. dependiendo de la sensibilidad del método de detección.

### Sistemas de buffer discontinuo

En los **sistemas discontinuos**, el buffer de los geles y el de los reservorios de los electrodos son diferentes. Normalmente los pH de ambas soluciones buffer son también distintos.

Existen 2 geles distintos:

- Gel de poro grueso, de concentración, de apilamiento o stacking:  
Buffer Tris-ClH, pH: 6,8.

Tamaño de poro grande (no restrictivo)

- Gel de corrida o de resolución

Buffer Tris-glicina pH:8,3

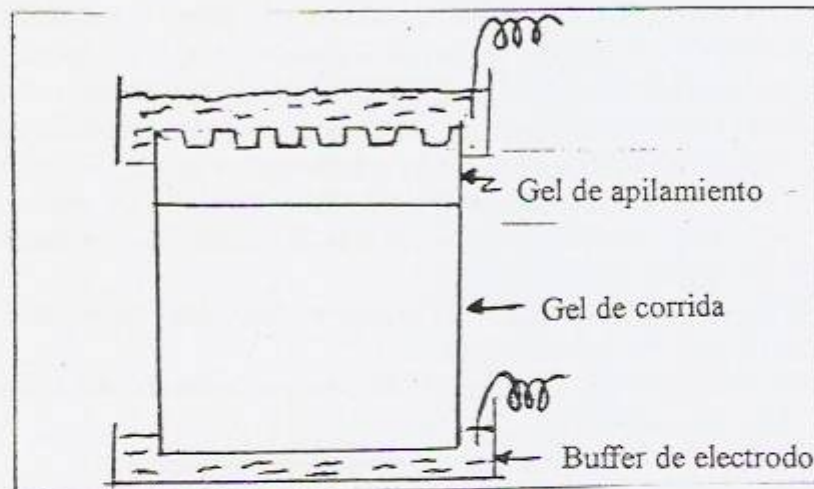
Tamaño de poro restrictivo (aquí se separan las proteínas)

Las muestras a analizar se siembran en un gel de poro grueso al que se ha hecho polimerizar por sobre el gel de corrida o gel de separación

La mayor ventaja de los sistemas de buffer discontinuos es que permite que volúmenes apreciables de muestras diluidas de proteínas pudieran ser analizadas, ya que al ser sembradas en un gel de este tipo en el que los iones y el pH de los buffer son diferentes, las moléculas se desplazarán a través del gel y se concentrarán en una zona estrecha, en el límite correspondiente al gel de corrida, previo a su separación en éste.

En el caso de SDS-PAGE, la carga neta de las diferentes moléculas es prácticamente la misma por lo que la separación será sólo por tamaño molecular.

Figura 1



## 2ª PARTE: TRANSFERENCIA DE PROTEÍNAS A MEMBRANA DE NITROCELULOSA y DETECCIÓN DE LAS MISMAS

Se puede obtener información acerca de la identidad de las proteínas si se transfieren electroforéticamente desde el gel a membranas. Aquí las proteínas están accesibles (cosa que no ocurre en el gel) para interactuar con otras moléculas que permitan su identificación.

El proceso de transferencia y detección consta de las siguientes etapas:

Transferencia electroforética de las proteínas desde el gel a la membrana



Bloqueo de los sitios desocupados de la membrana



Unión con el Ac primario específico para la proteína de interés



Lavados



Marcado de los complejos Ag-Ac utilizando Ac secundarios o ligandos específicos para el primer Ac y conjugados o marcados, ej: enzimas.



### Transferencia de las proteínas (ver Figura 2)

Las membranas más utilizadas son las de nitrocelulosa:

- Buena capacidad de unión de proteínas ( $250 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ).
- Existen membranas con distinto grado de porosidad: se elige según el tamaño de la proteína a transferir.

El tiempo de transferencia depende del espesor del gel y del tamaño de la proteína que se transfiere. En general las proteínas se transfieren en 1 a 6 horas.

Al buffer de transferencia se le adiciona metanol para prevenir el hinchamiento del gel durante la transferencia y para aumentar la unión de las proteínas a la membrana

Para evaluar la transferencia a la membrana se aconseja hacer una tinción no específica de las proteínas luego de transferidas. Para ello se prefiere Rojo Ponceau, que tiñe en forma reversible, ya que durante la incubación con buffer de bloqueo se produce la decoloración.

También existen *St de transferencia de proteínas* (marcadores de PM ya coloreados con azul de bromofenol). Son muy útiles:

- como marcadores de PM para identificar por comparación la banda de interés en la muestra incógnita.
- para monitorear la eficiencia del proceso de transferencia

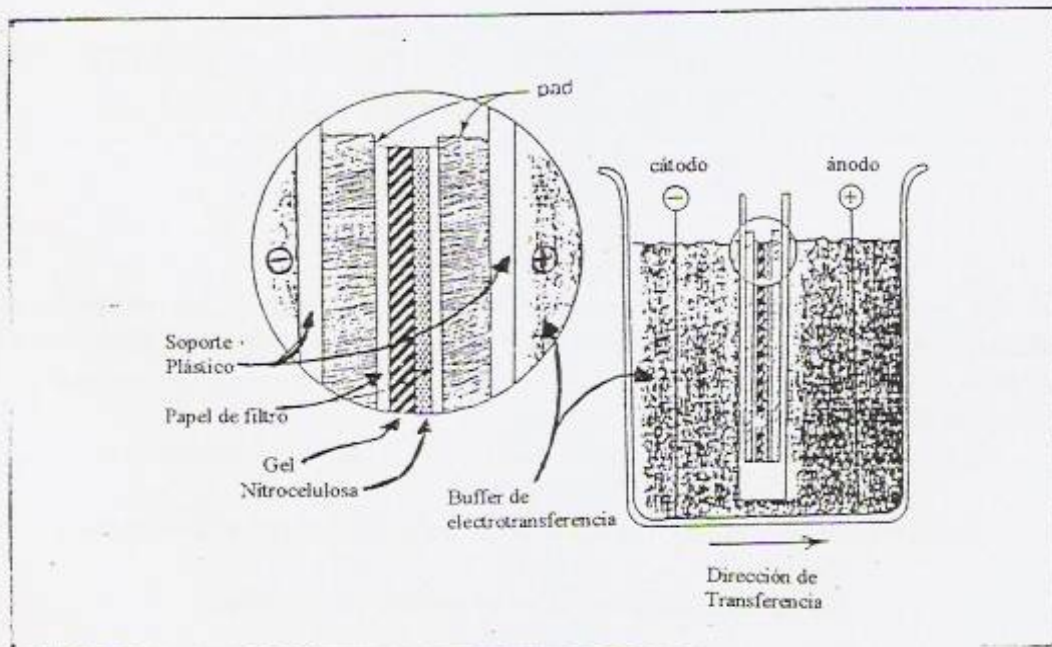


Figura 2 Western Blotting

### Bloquear la membrana

Luego de la transferencia los sitios de unión no ocupados de las membranas se deben bloquear para prevenir la unión no específica de los Ac o ligandos, la mayor parte de los cuales son proteínas.

Si no se satura la membrana adecuadamente puede conducir a elevados backgrounds.

Es importante testear varios agentes de bloqueo para obtener mínimos backgrounds sin pérdida de señal. Generalmente se usa leche descremada en polvo o BSA (albúmina bovina sérica)

### Ac primario específico

Puede ser monoclonal o policlonal. Se diluye adecuadamente en buffer PBS con leche descremada.

### Lavados

Se realizan con el buffer PBS. Son muy importantes y deben hacerse reiteradas veces.

### Métodos de detección

La identificación de la proteína transferida puede hacerse uniéndolo a un marcador al segundo Ac.

- Los primeros sistemas de detección: Ac conjugados con radioisótopos ( $I^{125}$ ) semejantes a los usados en RIA
- Actualmente existe un gran número de sistemas enzimáticos: En este caso el segundo Ac está unido a enzimas. La visualización se lleva a cabo adicionando el sustrato apropiado para la enzima. De esta manera se forman productos coloreados, que precipitan en el sitio de producción y permanecen unidos a la membrana.
  - *Sistema peroxidasa del rábano picante*  
Fue la primera enzima conjugada usada para la detección inmunológica de membrana.  
El reactivo de color precipitable que se añade puede ser 4 cloro 1 naftol (4 CN) o 3,3'-diaminobenzidina (DAB)  
Los resultados obtenidos con este sistema de detección no son tan sensibles como con otros métodos.
  - *Sistema Fosfatasa alcalina*  
Mayor sensibilidad de detección con respecto al sistema peroxidasa  
El sustrato soluble puede ser 5 bromo-4 cloro 3 indolyl phosphate (BCIP) o nitroblue tetrazolium (NBT)
- Quimioluminiscencia: en este caso el segundo Ac está conjugado a peroxidasa (HRP). En presencia de  $H_2O_2$  la peroxidasa oxida al luminol (compuesto fluorescente) el cual emite fotones. La intensidad de la emisión se detecta por exposición a una película de rayos X y se desarrolla como una autorradiografía.  
Este método es 3 veces más sensible que el uso de sustancias cromogénicas y los tiempos de exposición son muy cortos (1 segundo a 10 minutos)

## BIBLIOGRAFIA:

- ✓ *Molecular Cloning. A laboratory manual.* Sambrook, Fritsch y Maniatis. - Unidad 10.2: *Electrophoretic separation of proteins* Unidad 10.8: *Analysis of Proteins..*
- ✓ R. Margni. *Inmunología e Inmunoquímica. Fundamentos.* 5ª. Edic. 1996. Ed. Panamericana.
- ✓ Harry Towbin, Theophil Staehelin and Julian Gordon. "*Electrophoretic transfer the protein from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications*". Proc.Natl.Acad.Sci. USA Vol. 76,nº 9, pp 4350-4354. September 1979.
- ✓ *Técnicas instrumentales de análisis en Bioquímica.* J.M. García -Segura, J.Gavilanes, A.Martinez del Pozo, F.Montero, M.Oñaderra, F.Vivanco. Editorial



IX - ANEXO 2

FOCOPIAS DE 2 MEJORES RESPUESTAS CORRESPONDIENTES AL AÑO 2004

## SLUMMO A

1. Las diferencias están en la composición.

DRS: sacarosa (H<sub>2</sub>O + C)      C: almidón (H<sub>2</sub>O + C)  
C: almidón ( " )      C + n - 3: " " "

DRS: ácido de grasas (lípidos)      C: ácido de grasas (lípidos)  
C: " " " ( " )      C + n - 3: ácido de grasas de base  
+ ácido de grasas.

2. Sacarosa: glucosa + fructosa → difusión facilitada  
↓  
transporte activo      incompleta

Almidón = polisacárido (amilosa + amilopectina) formado por unidades de glucosa, que se absorbe por transporte activo.

Sacarosa: disacárido.

La tolerancia en la DRS está disminuida debido a la resistencia insulínica. incompleta

## ALUMNO B

1. Similitudes: ambas dietas son isocalóricas (control y experimental) y el resto de los nutrientes (H. de C. o lípidos, vitaminas, sales, minerales).  
Las diferencias entre DR5 y C. es el H. de C.: la 1ª tiene sacarosa y la 2ª almidón y entre C y C+m-3 es el lípido: C = aceite de maíz y C+m-3 aceite de hígado de bacalao (A.G. poliinsaturado) + aceite de maíz → aporta A.G. esenciales.
2. La sacarosa es un H. de C. (disacárido). En el tracto intestinal se desdobra por acción de disacaridasas en fructosa y glucosa. La glucosa necesita para absorberse en el intestino de la bomba de Na. La fructosa por difusión facilitada.
3. La sacarosa es un disacárido. Almidón: polisacárido (glucosa). El almidón se desdobra y da glucosa que se absorbe como se describió en la 2ª pregunta.
4. La tolerancia a la glucosa está disminuida. Falta justificar.

## ALUMNO A

1. El nivel de los T.G. plasmáticos depende de la secreción hepática de T.G. y de la remoción de los TG transportados por las V.L.D.L.
2. Por la sobreproducción de TG. al metabolizarse la fracción que no alcanza a ser transportada por la mayor producción de V.L.D.L. Puede ser debido a:
  - por problemas en el ensamblaje de la parte proteica con la lipídica.
  - menor producción de la parte proteica con respecto a la parte lipídica.
3. La secreción está disminuida falta justificación
4. La remoción está aumentada por la mayor sensibilidad insulínica, por lo tanto hay mayor actividad de la LPL.  
incompleta

## ALUMNO B

1. Depende de la secreción hepática de T.G. y de la remoción de los T.G. que son transportados por las V.L.D.L.
2. En la dieta con sacarosa, al metabolizarse la fructosa se produce mayor cantidad de acetyl CoA y glicerol por varios motivos:
  - la mayor actividad de la ~~fructo~~fructoquinasa con respecto a la glucocinasa y hexocinasa.
  - No pasa por la etapa limitante de la fosfofructoquinasa. Si bien se sintetiza mayor cantidad de V.L.D.L., pero no alcanza a transportar todos los T.G. sintetizados en el hígado.
3. La secreción está disminuida. Falta justificación.
4. La remoción está aumentada por la mayor efectividad de la enzima, hay mayor actividad de la LPL.

X - ANEXO 3

FOTOCOPIAS DE EXAMENES CORRESPONDIENTES A:

X - 1 ALUMNOS DEL GRUPO PILOTO 2003: A, B, C, D, E, F, G, H, I

X - 2 ALUMNOS DEL GRUPO TRADICIONAL 2003: J y K

X - 3 ALUMNOS DEL GRUPO PILOTO 2004: L, M, N, O, P (cuestionario A),  
Q (cuestionario B)

X - 4 ALUMNOS DEL GRUPO TRADICIONAL 2004: R, S (cuestionario A),  
T (cuestionario B)

X – 1 EXAMENES DE ALUMNOS DEL GRUPO PILOTO 2003

turno tp: lunes a la mañana

ALUMNO A

P

PUNTAJE 9.8/10

2 Hojas

EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 ptos) - 2021

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+n-3)? Puntaje: 2 ptos
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 ptos
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 ptos
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC?



Tomo de TP; lunes a la mañana.

alhojas

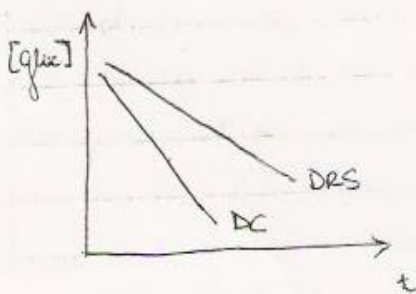
1) Las tres dietas no tienen diferencias en cuanto a calorías, es decir son isocalóricas.

En cuanto a la composición la diferencia entre Dieta control y dieta Rica en sacarosa es los hidratos de Carbono. En dieta control el hidrato de Carbono es el Almidón y en la DRS es sacarosa (aportando iguales calorías).

La diferencia entre dieta control y dieta control + n-3 es la composición lipídica. En dieta control hay aceite de maíz <sup>(8%)</sup> como aporte de lipídico y en Dieta control + n-3 hay Aceite de Maíz <sup>(7%)</sup> + Aceite de Hígado de Bacalao <sup>(1%)</sup> → este aceite aporta aceites esenciales? → DHA (Ácido docosahexaenoico) 22:6 n-3, y EPA (Ácido eicosapentaenoico) <sup>n-3</sup> 20:5

En el resto de la composición: proteínas, vitaminas, minerales, etc son iguales en las 3 dietas.

2) La tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS está disminuida con respecto a los animales alimentados con Dieta Control, esto se debe a que la insulina no es efectiva, es decir la secreción de insulina es alta pero es la hormona que no funciona correctamente, por lo tanto la glucosa tardará más en metabolizarse tardará más en entrar a los tejidos extra hepáticos insulino dependiente, y tardará más en degradarse (glucólisis) por que los enzimas relacionados son enflaquecidos por la insulina. La respuesta insulínica es hiperinsulémica, es decir hay una mayor secreción de insulina durante el test de tolerancia a la glucosa.



9 El aumento de TG plasmáticos en animales alimentados con DRS se debe a varios motivos:

⊗ ✓ Mayor síntesis de ácidos grasos: Esto se debe a que la fructosa que se metaboliza + rápido que la glucosa, da mucho acil CoA como producto de su metabolismo y esta molécula es de la cual se parte para síntesis de TG. Además, la fructosa estimula (además de los enzimas encargados de su degradación) a los enzimas que intervienen en el proceso de síntesis de Ácidos Grasos: Acil CoA carboxilasa y Ácido Graso sintasa. Al haber mayor síntesis de Ácidos Grasos hay más esterificación de éstos → TG.

✓ Mayor secreción de VLDL-TG: Al haber mucha síntesis de ácidos grasos, hay más síntesis de TG, por lo que se secreta + VLDL-TG que es la forma de salir del hígado para ir a circulación y a tejidos extra hepáticos.

✓ Menor Remoción de VLDL-TG: La remoción de TG de las VLDL se lleva a cabo por una enzima LPL (lipoproteína lipasa) que se encarga de remover los TG hidrolizándolos en ácidos grasos y glicerol para que entren a los tejidos. Esta enzima se ve influenciada por la insulina, que en el caso de animales alimentados con DRS no es efectiva, ya que hay una resistencia insulínica, por lo que la LPL no funciona correctamente y no hay remoción adecuada de TG.

► Por estas tres causas es que el nivel de TG en plasma está aumentado. ⊗ Además hay + lipólisis en Tej. adiposo por que no hay inhibición de la insulina → + ácidos grasos q' unidos a albumina pueden ir a <sup>circ</sup>

4) los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3 están disminuidos, ya que los ácidos grasos n-3 influyen: ~~•~~ Inhibiendo la actividad de los enzimas lipogénicos (de la síntesis de Graso Graso), por lo que se sintetiza menos cantidad de ácidos grasos;

• Hay menor secreción de VLDL-TG, porque hay

menor síntesis de ácidos grasos.

- Mayor ~~actividad~~ ~~de~~ oxidación de ácidos grasos.

5) la prueba para evaluar la renovación de TG, se hace ~~pasando~~ ~~por~~ a una muestra de plasma de animales. Evalúo la actividad de la lipoproteína lipasa, que es la ~~que~~ <sup>que</sup> hidroliza los TG de los VLDL para que pueda ingresar los AG a ~~los~~ <sup>los</sup> tejidos. La renovación de TG en animales alimentados con DC + n-3 es mayor ~~que~~ <sup>con</sup> respecto a los animales alimentados con DC. Esto se debe a que la LPL <sup>(ef. la</sup> muscular) (LPL: lipoproteína lipasa) es más activa, ya que esta es regulada por la insulina y la insulina en animales alimentados con DC + n-3 es más efectiva → es decir, se secreta menos cantidad de insulina, pero es más activa.

ALUMNO B

Hues

P

PUNTAJE: 9/10

EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 ptos) - 2023/24

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+ n-3)? Puntaje: 2 ptos
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 ptos
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 ptos
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos.

Evaluación Trabajo Práctico Globalizador

1)	DC	DRS	DC + n-3
	H. de carbono = almidón	H. de carbono = sacarosa	H. de carbono = almidón
	Lípidos = aceite de maíz	Lípidos = aceite de maíz	Lípido = aceite de hígado de bacalao (AHE)
	proteínas	Proteínas	Proteínas <sup>Ferretina</sup>
	vitaminas	Vitaminas	Proteínas
	Fibras	Fibras	Vitaminas
			Fibras

Las tres dietas aportan la misma cantidad de calorías, son isocalóricas.

Sucorupil

2) En los animales alimentados con DRS la tolerancia a la glucosa se encuentra disminuida. En el test de tolerancia endovenosa (ITEV) se obtiene una menor pendiente (menor  $Kg =$  constante de desaparición de la glucosa).

Existe una respuesta insulínica tisular elevada?

Sucorupil


3) El aumento de TG plasmáticas se debe a que existe una ingesta elevada de sacarosa y en el intestino actúa la enzima sacarasa que desdobra la sacarosa en glucosa y fructosa. Luego llevan al hígado donde se fosforilan, la glucosa pasa a glucosa-6-fosfato participando de esta reacción la enzima glucocquinasa y la hexocquinasa, la fructosa pasa a fructosa-1-fosfato gracias a la enzima fructocquinasa. La fructosa se fosforila más rápido porque la actividad de la enzima fructocquinasa es mucho mayor que la suma de las actividades de glucocquinasa y hexocquinasa y además porque no pasa por el paso regulador de la glucólisis donde actúa la fosfofructocquinasa. Luego los productos de la glicólisis (ácidos grasos) reaccionan con

el glicerol y se forma los TG.

Existe por lo tanto una mayor síntesis de TG (mayor <sup>liberación</sup> concentración de TG plasmático) y una menor remoción ya que las LPL se encuentran con una disminución en su actividad producida por la resistencia insulínica.

⊕

4) Los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC+n-3 se encuentran disminuidos. Existe una menor síntesis y una mayor remoción.

Esta disminución se debe a una mayor oxidación de ácidos grasos y a una menor actividad <sup>tanto</sup> de las enzimas lipogénicas como  de las enzimas que intervienen en la esterificación de ácidos grasos.

La mayor remoción se debe a que las LPL no se encuentran inhibidas (como pasa con la DRS) por la respuesta insulínica.

5) Al animal en experimentación se le puede suministrar una sustancia "Intralipid - I" para poder estudiar la clarificación de los lípidos ya que la misma se puede asociar con distintas apoproteínas (apoCII, apoCIII) y removerse de forma similar a como lo hacen los TG.

La remoción de TG en animales con DC+n-3 se encuentra <sup>11</sup> aumentada comparándola con DC debido a la mayor actividad de las LPL. (página)

⊕ Las VLDL que son las encargadas de transportar los TG desde el hígado al plasma están aumentadas pero no son suficientes para remover todo el TG sintetizado en el hígado. Esta insuficiencia puede ser debido a una falla en la parte proteica o a problemas producidos en el ensamblaje proteína-lípido. Sin embargo, a pesar de estos inconvenientes, los TG plasmáticos se encuentran elevados.

ALUMNO C

PUNTAS: 9,2/10

**EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 ptos)**

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+ n-3)? Puntaje: 2 ptos
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 ptos
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 ptos
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos.

° TI de heces: 2  
 Turno de TP: Jueves por la mañana

(1)

Fecha: 19-11-03

Nombre:

1.

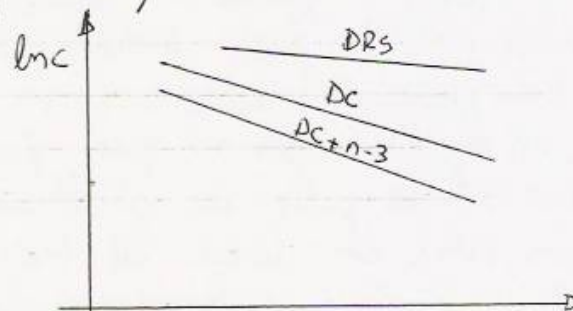
DC: <u>Hidratos de Carbono: almidón</u> Aceite de maíz Vitaminas y sales Fibra	DRS: <u>H. de Carbono: sacarosa</u> Aceite de maíz Vitaminas y sales Fibra
DC: <u>Hidratos de Carbono: almidón</u> Aceite de maíz Grasa Vitaminas y sales Fibra	DC+n-3: <u>H. de Carbono: almidón</u> Aceite de hígado de bacalao (n-3) <u>ácidos grasos</u> Grasa Vitaminas y sales Fibra

Las dietas son isocalóricas, por lo tanto no hay diferencias en cuanto a calorías aportadas.

2.

En animales alimentados con DRS se encuentra intolerancia a la glucosa con respecto a los alimentados con DC. La respuesta insulínica es: hiperinsulinemia.

Al realizar el gráfico de  $\ln C$  vs tiempo con los datos obtenidos a partir del test de tolerancia endovenosa a la glucosa se obtiene los gráficos: (aproximados):





Sus pendientes se denominan  $K_g$ : constante de desaparición de la glucosa, y refleja la posibilidad de uso de la glucosa, de los tejidos.

Una mayor  $K_g$  indica ~~una~~ mayor uso de la glucosa por parte de los tejidos.

En el caso de la dieta DRS se ve que la  $K_g$  es menor que por DC lo que indica que existe una resistencia insulínica y la glucosa no puede ingresar a los tejidos para mantener los niveles normales de la misma en sangre.

A pesar de que hay una gran cantidad de insulina, ésta no es tan activa por dicha resistencia insulínica.

3-

En animales alimentados con DRS hay un aumento de TG plasmáticas dado que hay:

- mayor síntesis de TG y mayor liberación de VLDL-TG en hígado
- menor liberación de TG por parte de la LPL...

Debido a la resistencia insulínica, la insulina (hormona antilipolítica) no sólo no puede estimular a la LPL sino que no hay control sobre la lipólisis ejercido por la lipasa (que es controlada por la insulina) en el tejido adiposo y la lipólisis aumenta.

Al no haber con entrada de glucosa al tejido adiposo por la resistencia insulínica no se puede producir el gliceral 3P necesario para esterificar los ácidos grasos que se liberan por la lipólisis. El tejido adiposo no posee glicerolquinoasa para producir el gliceral 3P a partir de gliceral por lo que los ácidos grasos libres se dirigen al hígado donde se produce por este incremento de ácidos grasos libres un

(2)

incrementos en la síntesis de TG y por ende un incremento en la secreción de VLDL-TG.

~~Observación~~ Sin embargo, la <sup>velocidad de</sup> secreción de VLDL-TG no alcanza a compensar la velocidad de síntesis de TG por lo que hay un acúmulo de TG en hígado. Este faltar de compensación se puede deber a un déficit de producción de proteínas por las lipoproteínas o fallas en el ensamblaje de las VLDL. La LPL no solo trabaja por ~~su~~ ~~propio~~ ~~trabajo~~ por la resistencia insulínica sino que también los VLDL pueden tener fallas en su composición, no tienen quingos apo C2 y la poseen muy poca cantidad y esto hace que la velocidad de remoción disminuya.

Estos dos factores hacen que los TG plasmáticos aumenten.

4-

Los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC+n-3 se encuentran disminuidos dado que hay una mayor oxidación de ácidos grasos debido a la proliferación peroxisomal (los ácidos grasos n-3 son insaturados y promueven la proliferación peroxisomal y por ende la oxidación) y por ende menor síntesis de TG en el hígado dado que la disponibilidad de ácidos grasos disminuye. < acción de los F2 lipoproteínas.

5-

Una prueba dinámica para evaluar la remoción de TG es el Test de Tolerancia Grasa endógena.

En animales alimentados con DC+n-3 hay una mayor remoción de TG dado que la insulina es más activa o menor concentración en estos animales, por lo que la LPL se encuentra en condiciones óptimas de trabajo.

La prueba dinámica para evaluar la remoción de TG trata de ~~evaluar~~ ~~de~~ evaluar la velocidad de desaparición de

Los TG incorporados como Introlipid (hace los neces de los lipoproteínas) en el tiempo de manera de obtener de la pendiente de los graficos  $k_2$  que es la  $cte$  cinetica y mide la velocidad de remoción.

ALUNNO D

3,65/10

EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 ptos) - 2017

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+ n-3)? Puntaje: 2 ptos
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 ptos
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 ptos
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos.

① Los tres dietas tienen vitaminas, sales, proteínas y componentes nutricionales necesarios para el desarrollo de los ratos. Sin embargo, difieren en los azúcares y lípidos aportados:

	DC	DC+W3	DRS
Lípidos	aceite de maíz	aceite de linaza + aceite de maíz	aceite de maíz
Azúcares	Almidón	Almidón	sacarosa

Las dietas son isocalóricas, es decir las 3 dietas tienen la misma cantidad de calorías totales.

② La tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS se encuentra disminuida con respecto a la DC; debido a que, a pesar de existir hiperinsulinemia, se observa resistencia insulínica periférica.

Existe una resistencia insulínica debido a que a pesar de que el páncreas tiene niveles normales de producción de insulina y la secreción se encuentra aumentada, esto no es suficiente para estimular la entrada de glucosa a los tejidos.

③ En DRS el aumento de TG plasmáticos se debe a que hay mayor síntesis hepática de TG, con mayor secreción y menor remoción de TG.

Esto se debe a que por el exceso de sacarosa (fructosa + glucosa) al organismo produce una mayor producción de Acetil CoA y Glicerol 3P por degradación de la fructosa y la glucosa (glucólisis), que da lugar a la mayor síntesis de TG en hígado. Así mismo, se produce un aumento de la secreción de TG en forma de VLDL por parte del hígado para mantener los niveles de TG intrahepáticos.

La disminución en la remoción de TG puede deberse a una disminución en la actividad de la LPL en los tejidos extrahepáticos.

El hecho de que la secreción hepática de TG no alcance para secretar la gran cantidad de TG producidos puede deberse a un problema de ensamblaje entre los apo proteínas y los TG para producir los VLDL, o a un problema en la síntesis de Apo II, o a problemas en la conformación de la VLDL que hace que el tipo LPL no pueda reconocerla correctamente (baja la afinidad por la lipoproteína).

Así mismo, en el tejido adiposo, la resistencia insulínica provoca una mayor lipólisis, lo que resulta en mayor cantidad de TG en plasma que al consumir

TG en hígado se encuentran aumentados, debido a que hay mayor síntesis de TG y menor secreción.

Es decir, la sacarosa, disacárido de glucosa y fructosa se degradan hasta gliceral 3P, y hasta Acetil CoA. Para eso, la fructosa pasa a fructosa 1P y luego a gliceraldehído o a dihidroxiacetona, los que entran a la glicólisis para formar piruvato y por último pasar a acetil CoA (lo que ocurre en varias etapas). El acetil CoA es precursor de los ácidos grasos.

Así mismo, el hígado posee <sup>una</sup> gliceral quinasa que fosforila gliceral para dar gliceral 3P, el cual se combina con los AG para dar TG.

Por esto, en presencia de glucosa y fructosa la formación de acetil CoA es mayor que en dietas ricas que solo poseen glucosa (DC), lo que de luego a mayor generación de TG.

En el hígado, los TG sintetizados pasan a formar parte de VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad) al unirse a los lípidos, colesterol y APO (proteínas). Sin embargo, cuando la generación de TG es tan grande, las apoproteínas necesarias no se sintetizan tan rápido como para secretar todos los TG producidos. Además, pueden producirse errores en la síntesis de apoproteína que hacen que la LPL no pueda unirse correctamente a ella para delipidarla (pero eso <sup>está</sup> afecto la remoción de TG, y los niveles de TG en plasma).

En DRS se encuentran estimulados los siguientes enzimas:

→ en ~~hígado~~ para la fructosa

- \* Fructoquinasa
- \* ~~fructosa 1,6-bisP~~ 6-3P DH
- \* piruvato quinasa

→ para TG:

- \* ATP citrato liasa
- \* Acetil CoA carboxilasa
- \* fosfatidil fosfolípidasa
- \* AG sintasa

Además de enzimas que genera la producción de cofactores como el NADH.

Así, la síntesis de TG está estimulada, también el nivel enzimático

③ la prueba que conozco es la prueba de remoción de TG, o el test de tolerancia lipídica endovenosa (realizado en el TP). Para este prueba se ~~utiliza~~ utiliza una sustancia como el "INTRALIPID" que es un mercado de remoción de TG ~~por~~ por ~~exposición~~.

En DC-43 con respecto a la control esperada en contra niveles de TG en plasma menores. Es decir, menor remoción.

## LA BIOLÓGICA

Esto se debe a que, en DC+W3 existe mayor secreción y "sensibilidad" insulínica. Es decir, la acción insulínica se encuentra favorecida, por tanto, la acción de la LPL se encuentra estimulada (hay mayor entrada tanto de glucosa como de TG de los tejidos).

Es decir, la insulina es antilipolítica, y al no existir resistencia insulínica, los tejidos sintetizarán más TG a partir de los AG tomados (delipidados de los VLDL y quilomicrones → exceso de no ser he- cho lo prueba en estado de ayuno) por la LPL; lo que disminuirá los niveles de TG <sup>circulante</sup> (mayor remoción).

Además, hay un descenso en la oxidación de glucosa y un aumento en la  $\beta$ -oxidación de AG en los tejidos, lo que estimula la entrada de AG a los tejidos (mayor remoción).

En estas dietas, la síntesis de TG está disminuida, pero la secreción y remoción están aumentadas.

③ Así mismo, en el tejido adiposo, la resistencia in- sulínica provoca una mayor lipólisis, lo que re- sulta en mayor cantidad de AGL en plasma, que se unen a la albúmina para viajar por el sistema  $\beta$  llegar luego al hígado, donde se unen a gli- cerol para dar TG.

④ En dietas DC+W3 <sup>que incluye glicina con</sup> se observa una disminución de TG en hígado, debido a que hay una ma- yor secreción y menor síntesis.

Esto se debe a que, en dietas con niveles normales de ácidos grasos y W3 (ácidos grasos po- linsaturados de 20,22C con 50% insatura- ción), se encuentran ~~estimulados los enzi- mos para la síntesis de TG~~ ~~de insulina en~~ ~~alguna manera, esto es una evidencia, ade- más está~~

~~se cree que los W3 actúan sobre receptores de membrana (PPAR) que al in- tervenir~~

~~en la~~ ~~parte~~ ~~de~~ ~~la~~ ~~glucosa~~ ~~captada~~ ~~o~~ ~~oxidada~~ (gluco- lisis, hay un descenso de la oxidac. de glucosa); por tanto, los tejidos buscan la energía necesaria de la  $\beta$ -oxidación de AG, para lo cual se estimulan los enzimas de la lipólisis e inhiben los ~~de~~ lipogénicos.

Por otra parte, a diferencia de lo ocurrido en la DLS, la producción de apoproteínas es su- ficiente como para producir VLDL (secreción) para enviar AG a los tejidos extrahepáticos (re- moción), que serán utilizados en la  $\beta$ -oxi- dación.

TURNO TP: LUNES 8hs.

ALUMNO E

88/10

3 hojas (incluido cuestionario) <sup>P</sup> ①

EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 ptos) - 2013

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+ n-3)? Puntaje: 2 ptos
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 ptos
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 ptos
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? ¿Qué respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos.



EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR

TURNO TP: LUNES 8:00hs.

1) La composición de la dieta control es la siguiente: almidón, aceite de maíz, queso, fibras, vitaminas, proteínas, sales.

La composición de la dieta rica en sacarosa es la siguiente: sacarosa, aceite de maíz, queso, fibras, vitaminas, proteínas, sales.

La composición de la dieta control + W<sub>3</sub> es la siguiente: almidón, aceite de hígado de bacalao, queso, fibras, vitaminas, proteínas, sales. + aceite de maíz (poco)

Entonces, la diferencia de la DRS respecto a la DC es que la DRS tiene sacarosa en lugar de almidón (hidrato de carbono que posee la DC).

La diferencia de la DC+W<sub>3</sub> respecto de la DC es que la DC+W<sub>3</sub> tiene aceite de hígado de bacalao en lugar de aceite de maíz (aceite que se posee la DC).

	DC	DRS <del>ALMIDON</del>
HIDRATO DE CARBONO	ALMIDON	SACAROSA
	DC	DC+W <sub>3</sub>
TIPO DE ACEITE	DE MAIZ	DE HIGADO DE BACALAO

En cuanto a los calorías, no hay diferencia porque las 3 dietas (DC, DRS y DC+W<sub>3</sub>) son isocalóricas (cada dieta aporta la misma cantidad de calorías).

2) La tolerancia a la glucosa en estos animales alimentados con DRS está disminuida respecto a los animales alimentados con DC, es decir que los animales alimentados con DRS toleran menos la glucosa que los animales alimentados con DC.

Esta intolerancia a la glucosa es debida a que no hay una buena respuesta hacia la insulina.

Entonces, lo que ocurre es que la insulina no ejerce su función correctamente en las distintas células, por lo tanto los transportadores de glucosa no pueden ser transportados a la membrana plasmática de las distintas células, por lo cual la glucosa no puede ser ingerida al interior de las células, lo que provoca que la glucosa se acumule en la circulación y se genere la intolerancia ya descrita.

El hecho de que la insulina no ejerce su efecto correctamente puede deberse a que los receptores proteicos para la insulina se encuentran modificados. Hay hiperinsulinemia

3) Una vez que la sacarosa fue ingerida, es dividida en sus monómeros, y luego estos divididos por los enterocitos, esto es con tanto la glucosa como la fructosa provenientes de la sacarosa, a la circulación, a través de la cual llegan al hígado.

Tanto la glucosa como la ~~fructosa~~ fructosa se comportan al llegar al hígado. La fructosa se transforma en fructosa-1-6-bis-fosfato (F-1-6-P) por la acción de la fructokinasa, y luego se convierte en dihidroxiacetona-P y gliceraldehído, por la acción de una aldolasa. De esta manera, se metaboliza más rápido ya que no se transforma en F-1,6-diP por la acción de la fosfofructokinasa-1. Esta reacción es la más lenta en la vía de la glucólisis, pero la fructosa evita este paso y así se metaboliza más rápido (cosa que no ocurre con la glucosa).

Luego, el gliceraldehído producido puede continuar la vía de la glucólisis, o bien se puede transformar en glicerol al requerir una vía distinta. El glicerol al esterificarse en sus 3 grupos hidroxilo con 3 ácidos grasos libres, forma los triglicéridos.

Esto es lo que ocurre en los hepatocitos de los animales dietamentados con DRS. En los TG luego son secretados a la circulación a través de las VLDL (very low density lipoprotein)

o lipoproteína de muy baja densidad). > WU

Los TG circulan en la sangre pero se acumulan a raíz de que las ~~lipoproteínas~~ lipoproteínas lipoproteínas hepáticas y extrahepáticas poseen una actividad menor con respecto a los LPL de animales alimentados con DC. Entonces, al haber menor actividad de LPL, los TG se acumulan en el plasma, y es por eso que los animales alimentados con DZS tienen aumentados los TG plasmáticos respecto a los animales alimentados con DC.

4) Los animales alimentados con DC+W<sub>3</sub> poseen niveles menores de TG hepáticos respecto a los animales alimentados con DC.

La dieta DC+W<sub>3</sub> tiene una alta proporción de ácidos grasos insaturados. Estos AG insaturados al llegar al hígado o través de la circulación, lo que provocan es que haya una menor síntesis de AG por parte del hígado, pero a su vez que haya una mayor oxidación de AG a nivel hepático.

Este mecanismo es propio de la célula, porque al aumentar el pool de AG, lo que hace la célula es disminuir esa cantidad de AG. Así, se inhibe la síntesis y se induce la oxidación de AG a nivel hepático. Esto provoca que los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con ~~DC~~ DC+W<sub>3</sub>, estén disminuidos respecto a los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC.

5) Una prueba dinámica para evaluar la remoción de TG es inyectar en animales (ratos en este caso) alimentados con diferentes dietas, un compuesto sintético (TRITON WR 1559) de composición lipídica que es similar en composición a una VLDL. Entonces lo que se hace es inyectar este compuesto y luego evaluar su remoción dentro del animal ya que puede ser detectado por técnicas específicas que lo que hacen es medir la cantidad remanente del compuesto para poder obtener conclusiones.

La respuesta que esperaríamos encontrar sería que en omnívoros alimentados con DC+W3 la remoción de VLDL-TG se encuentra aumentada respecto a la remoción de VLDL-TG en omnívoros alimentados con DC. Este aumento en la remoción se debe a que existe una mayor actividad de los LPL (lipoproteína lipasa), por lo tanto delipidan con mayor velocidad a los VLDL, lo cual provoca una mayor remoción de VLDL-TG en omnívoros alimentados con DC+W3 respecto a los omnívoros alimentados con DC.

Nombre: ALUMINO F 8.3/10  
Comisión: lunes de 8-13 hs. (Prof. Graciano y Alejandra)

EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 pts)

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+n-3)? Puntaje: 2 pts
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 pts
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 pts
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 pts
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 pts.

Nombre: \_\_\_\_\_

Comisión: Lunes de 8-13 h. (Prof. Graciela y Alejandra)

### 1) Diferencias en composición.

Dc con DRS:

Varían en los hidratos de carbono en Dc, es almidón y en DRS es sacarosa (disacárido compuesto por glucosa y fructosa).

También tienen: HC - grasos <sup>aceite de maiz</sup> - proteínas (aporta calorías)  
Fibras y vitaminas (son factores de crecimiento).

Son dietas isocalóricas, aunque varían en el HC, aportan la misma cantidad de calorías.

Dc con Dc+n-3

Varían en los aceites, en la Dc es aceite de maiz y en la Dc+n-3 es aceite de hígado de bacalao. (aceite de

Ambos dietas tienen: Fibras y vitaminas. <sup>mucho por g</sup>  
A la dieta Dc+n-3 se le adiciona un porcentaje de aceite de maiz para aportar las ac. grasas esenciales.

También son dietas isocalóricas (aporta = cantidad de calorías).

Al ser dietas isocalóricas, se busca que los ratos tengan aproximadamente el mismo peso.

Los ac. grasos esenciales q' aporta el aceite de maiz no pueden ser sintetizados por los ratos.

La cantidad de alimento que se les ofrece a los ratos está previamente pesada, además de saber el porcentaje de humedad que aporta (luego se le resta).

La comida efectiva, es la comida ofrecida a la cual se le resta la comida que quedó o restó en el bol más la que se desperdició la cual se encuentra debajo de la jaula (humedecida con orina) y también se tienen en cuenta los heces.



2) Tolerancia a la glucosa: Beta IRS.

La tolerancia a la glucosa (TTEV) se encuentra disminuida. Hay una respuesta hiperinsulinémica.

Aunque hay mayor cantidad de glucosa circulante la insulina no es lo suficientemente activa como para que sean captados <sup>glucosa</sup> por los tejidos, por lo tanto hay una resistencia insulínica. (por parte de los tejidos).

Debido a esta resistencia, hay una acumulación de glucosa circulante, cuando se realiza TTEV se observa que la glucosa que se adiciona es poca, y se compara esta cantidad con la que se adiciona cuando no existe esta resistencia y la insulina es efectiva o bien lo suficiente / sensible.

3) TG hepáticos: Se encuentran aumentados. Si bien hay una mayor síntesis de VLDL<sup>TG</sup> (lipoprot. de baja densidad) la secreción de VLDL-TG no es lo suficiente / eficaz.

Como para no producir un acumulo de TG. Aunque la vel. de secreción se encuentre aumentada con respecto a la control. Esto se debe o bien a una deficiencia en la producción de la parte proteica de los VLDL o bien un problema de ensamblaje entre la parte proteica y la lipídica.

TG plasmática: Como se expuso anterior la vel. secreción es mayor, pero la velocidad de remoción es menor, (se encuentra disminuida), la actividad de la LPL encargada de la remoción también se encuentra disminuida.

La LPL esta regulada por la insulina y como esta no es lo suficiente / efectiva (debido a su respuesta hiperinsulinémica) se produce la disfunción en la remoción.

En el tjo. adiposo los TG sufren lipólisis espontáneo con la producción de AG<sub>l</sub>.



Comisión: Lunos de 8-13 hs. (Prof. Grover y Algoriza)

4) los niveles de TG hepáticos están disminuidos. Hay una menor síntesis de TG por el hígado. A través del TTEV, se observó que la insulina es lo suficiente activa como para llevar la glucosa a los tejidos y en estos no hay resistencia insulínica.

\* Los niveles de glucosa y glucemia son normales.

\* Al existir una menor síntesis de triglicéridos, hay una menor secreción.

\* Hay una mayor oxidación de AG.

\* Hay una disminución en la actividad que ejercen los enzimas como la carboxilasa.

5) la prueba dinámica es la VSTO?

la velocidad de remoción está aumentada, por lo tanto hay una disminución en los TG plasmáticos.

Esto se debe a la acción de la LPL (que como se expresó anterior| esta regulada por la insulina), la cual es lo suficiente| activa como para producir la remoción; ya que la insulina en este caso es normal.

*Navarro (Fulo)*

ALUMINO G 8/9/10

Luna

EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 ptos) -

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+ n-3)? Puntaje: 2 ptos
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 ptos
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 ptos
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC?

①

1) la dieta rica en sacarosa está compuesta por:

H. de carbono: Sacarosa

Aceite de maíz

Sal y vitaminas

Proteínas

Su control está compuesta por:

H. de carbono: Almidón

Aceite de maíz

sal y vitaminas

proteínas

Las 2 dietas son isocalóricas, es decir aportan la misma cantidad de calorías

la dieta control + n-3 está compuesta por:

H. de carbono: almidón

Grasa

Aceite de hígado de Bacalao + aceite de maíz

Sal y vitaminas

proteínas

La dieta control tiene:

H. de carbono: almidón

Grasa

Aceite de maíz

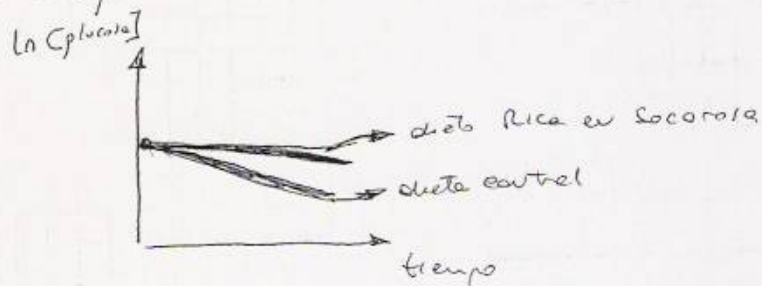
Sal y vitaminas

proteínas

Las 2 dietas son isocalóricas.

2) En animales alimentados con dieta RSD hay una resistencia insulínica, es decir hay mucha insulina circulando pero su acción es inefectiva. Esto trae aparejados que halla una tolerancia disminuida a la glucosa, la cual entre otros a los tejidos: músculo, corazón y cerebro.

Esto se puede ver haciendo un test de tolerancia endovenosa a la glucosa, en el cual se vería que la absorción de glucosa en DRG es más lenta que en la control. Su gráfica sería la siguiente:



la glucosa entre menos a los tejidos periféricos porque la responsable de su entrada es la insulina que actúa a los transportadores, ora que impide glucosa. Como la insulina es inefectiva, los transportadores están menos activos y por ende impide menor glucosa al músculo, tej. adiposa y cardíacos.

3) Hay un aumento de TG plasmáticos porque hay una mayor secreción de VLDL y una menor remoción de TG. La mayor síntesis de TG por parte del hígado, hace que aumente también la secreción de VLDL, en la cual, estos incorporados los TG a su estructura. Los VLDL salen a circulación a una velocidad mayor (velocidad de secreción mayor que en la Dieta control) y además se ve que hay una menor remoción. La LPL (lipo protein lipase) que está en la pared de los capilares, es la encargada de remover los TG de los VLDL. Su actividad está de alguna manera (todavía no se sabe bien cómo) regulada por la insulina. Como la acción de la insulina es deficiente, la LPL está menos activa y por ello la remoción es menor, con

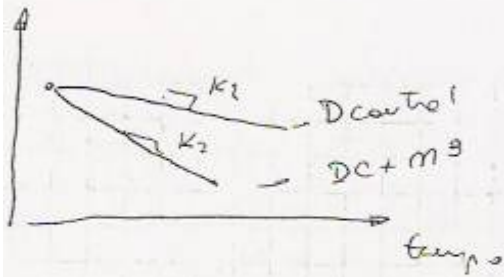
consecuentemente se ve aumentada. Lo que

(2)

Se está estudiando y que todavía no se confirma, es que parece ser que la insulina promueve la síntesis de LPL, con lo que en la DRS habría menos LPL presente y por eso la remoción sería menor. Pero esto es sólo una suposición a confirmar.

4) En la DC+m3 los TG hepáticos están disminuidos. Esta dieta contiene Aceite de hipocholesterolizado de Borden, rica en ácidos grasos insaturados de cadena larga. Estos ácidos grasos de cadena larga estimulan un activador de la proliferación peroxisomal, con lo que aumenta el nº de peroxisomas, aumentando ~~sea~~ por ende la oxidación de ácidos grasos en los peroxisomas. Además, estos ácidos grasos de cadena larga insaturados, estimulan la  $\beta$ -oxidación en los mitocondrios y hacen un efecto negativo en la síntesis de Ac. grasos, es decir la disminuyen. Todo esto trae aparejado que haya mayor utilización (oxidación) de los Ac. grasos y menor síntesis de Ac. grasos, con lo que la síntesis de TG también se ve disminuida.  $\leftarrow$  acción de F2 lipogénico.

5) Para evaluar la remoción de TG, se inyecta un compuesto derivado como <sup>ácido</sup> "INTRALIPID" y se saca sangre a distintos tiempos posteriores a la inyección. Se ~~doza~~ <sup>doza</sup> la cantidad de TG a cada tiempo y se grafica. Para esto, pruebas, los ratos deben estar en ayuno, así ~~sea~~ el aporte de TG a la <sup>de la dieta</sup> circulación es prácticamente nulo, y todo lo TG proviene del compuesto inyectado. Se grafica el  $\ln [TG]$  vs tiempo y se saca la constante  $K_2$



ahora en control que la renovación de  $t_0$  en la dieta control  
 es, ya que <sup>no</sup> voy menos insulina, pero este es más efectivo,  
 que la LPL esta más activa y la renovación es mayor.  
 es mayor en la  $Dc + m3$  por ende voy mayor renovación

ALUMNO H  
88/10

Q

EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 ptos) - 2017

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+n-3)? Puntaje: 2 ptos
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 ptos
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 ptos
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC?

1) Con respecto a las diferencias en cuanto a la composición la DC posee almidón y la DRS posee sacarosa. La DRS tiene DC por el aceite de maíz y la DCTW3 posee aceite de maíz más aceite de hígado de buey.

En cuanto a las vitaminas no hay diferencias ya que las 3 dietas son  $\beta$  sintéticas.

2) La Insulina es el glucosa en orina. Debido a que con DRS vs con DC se disminuye ya que hay resistencia insulínica a nivel de los tejidos, esto hace que la glucosa en sangre aumente, se produce una liberación mayor de insulina para bajar los niveles de glucosa, pero se agota más la reserva. Como para bajarla a los niveles normales, esto produce hiperinsulinemia y niveles de glucosa en sangre elevados.

3) El aumento de TG plasmáticos se debe a que la sacarosa al ser metabolizada se divide en fructosa y glucosa. La fructosa se metaboliza mucho más rápido que la glucosa ya que no requiere un transportador para ingresar al endocitosis, mientras que la glucosa requiere el SGLT1, además la fructólisis de la fructosa es mucho más rápida que la de la glucosa ya que la fructoquinasa posee mayor actividad que la hexoquinasa y la glucoquinasa que además es adaptativa (no se inhibe por producto), no está regulada por la insulina; mientras que la G6P y la HFL se están y el metabolismo de la glucosa se realiza un poco de control importante como el de PFK1.

Todos estos factores hacen que el metabolismo de la fructosa invada los vías metabólicas.



con sus productos, esto hace que se note  
menos mayor cantidad de TG en lipoproteínas  
y por lo tanto aumenta la secreción de las  
mismas, esto hace que los niveles de  
TG plasmático aumente. Además hay una  
menor secreción de HDL ya que las LPL  
no poseen una actividad elevada (esto se  
debe a que hay resistencia a la insulina).  
En conclusión tengo mayor secreción y  
menor secreción de los TG en plasma lo  
que lleva a que esto aumente su con-  
centración.

4) Los TG hepáticos en estado alimentado con  
DC+U<sub>3</sub> se encuentran disminuidos, esto se  
debe a que hay una disminución en la  
síntesis de TG (por consiguiente una menor  
secreción) y hay una mayor oxidación de  
: ácidos grasos, esto hace que los TG hepáticos  
disminuyan.  $\Delta$  actividad de lipoproteína.

5) La prueba para evaluar: la regulación de  
TG es la "regulación de TG" cómo?  
Lo requiere que experimente en estado  
alimentado con DC+U<sub>3</sub> vs DC es que los  
pacientes poseen una mayor secreción de TG  
esto se debe a que las LPL poseen una mayor  
actividad ya que no hay resistencia  
a la insulina la insulina es activa.

*Fernando*

Linus : 8-13 h.

DELFINO I

8,9/10

EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 ptos) -

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+ n-3)? Puntaje: 2 ptos
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 ptos
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 ptos
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC?

## Evolución trabajo práctico glucolípidos

1- La diferencia entre la DC y la DRS es cuanto al tipo de carbohidrato utilizado. En la DC se utiliza almidón y en la DRS se utiliza sacarosa\*. Ambas dietas son isocalóricas.

La diferencia entre la DC y la DC + n-3 es que la primera utiliza aceite de maíz y mientras que en la segunda dieta se utiliza aceite de hígado de <sup>+ o resto de hígado</sup> ~~de~~ <sup>de</sup> ~~bovino~~ <sup>de</sup> ~~bovino~~. Ambas dietas son isocalóricas. Los demás componentes, en las 3 dietas, son los mismos (proteínas, sales y vitaminas, fibras).

2- La tolerancia a la glucosa en DRS con respecto a DC es menor, es decir que la glucosa es captada en menor grado por los tejidos. La respuesta insulínica también está disminuida, la insulina es menos sensible.

*insulina*

3- En DRS hay aumento de Tg plasmáticas, ya que al incorporar fructosa\* a la dieta (además de glucosa) estamos aumentando la producción de ácidos grasos con la consiguiente esterificación de estos para formar los Tg <sup>en hígado</sup>. Entonces el hígado secreta mayor cantidad de VLDL (lipoproteínas que contienen los Tg) que salen a la circulación para dirigirse a los diferentes tejidos. El problema es que la LPL (lipoproteína lipasa), que es la encargada de remover esos Tg, no está funcionando correctamente, esto es por la resistencia insulínica que hay en esta dieta, ya que la insulina estimula la LPL. Entonces, como los Tg no son removidos correctamente en su paso hacia los tejidos, aumentan los Tg plasmáticos.

\* El hecho de que la incorporación de fructosa a la dieta aumente el nivel de Tg se relaciona con que la misma se metaboliza más rápido ya que no requiere de ninguna dismutación para ingresar <sup>de las células del</sup> ~~de~~ <sup>al hígado</sup> ~~al hígado~~ <sup>al hígado</sup> ~~al hígado~~, además la fosforilación es mucho más eficiente, ya que la enzima encargada de esto (la fructoquinasa) tiene mayor actividad que las enzimas que fosforilan a la glucosa; y por último la fructosa no posee por el momento el paso con el que se regula la actividad de la glucólisis (fosforilación de F-6-P a F-1,6 dif por la fosfofructoquinasa)

4- Los Tg hepáticos en animales alimentados con DC + n-3 se encuentran ~~disminuidos~~ <sup>disminuidos</sup> ya que la actividad de las enzimas liposémicas y de las enzimas que esterifican los ácidos grasos se encuentran disminuida, además también hay un aumento en la oxidación de los ácidos grasos, todo esto lleva a que la producción de Tg hepáticos sea menor.

5- La prueba es la de remoción de TG, que consiste en inyectar a los animales con una solución lipídica la cual adquiere las diferentes apoproteínas y forma una partícula similar a los quilomí-  
cronos o a los VLDL y que puede ser de lipídica de la misma forma.

Esta prueba da una idea de la velocidad de remoción de TG.

En la DL + m-3 la remoción es mayor que en DL ya que la LPL tiene mayor actividad y además porque la síntesis es menor.

\*<sub>1</sub> de colesterol es un disolvente que está formado por fructosa y glucosa y el ácido de hígado  
de colesterol está compuesto por ácidos grasos de cadena larga poliinsaturados: el colesterol <sup>perforado</sup> ~~perforado~~  
y el colesterol heso más.

X -2 EXAMENES DE A LUMNOS DEL GRUPO TRADICIOAL 2003

GRUPO UNES B:CO N 13:CO (Graciela - Alejandra)

EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 pts) - ...

Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+n-3)? Puntaje: 2 pts

Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 pts

En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 pts

Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 pts

Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC?

① las dietas son isocalóricas. Esto refiere a que una dieta control (DC) respecto a una dieta rica en sacarosa (DRS) tienen igual cantidad de calorías. Y otra DC respecto a una dieta control a la que se le suma  $\omega_3$  (n-3) [DC+n-3], también entre ellas hay igual cantidad de calorías. Ahora bien, refiriendo a la relación DC/DRS, se observa una diferencia en cuanto al carbohidrato usado. En la DC se usa almidón (polímero de glucosa), mientras que en la DRS el hidrato de carbono es la sacarosa (disacárido compuesto por glucosa y fructosa). El resto de los ingredientes de la muestra (fibras, vitaminas, etc.) son iguales no solo en cantidades, sino también, en calorías. Sucede que en la experiencia DC/DC+n-3, el hidrato de carbono es el mismo (almidón), y lo que cambia es la parte grasa. En la DC se usa un 8% de aceite de maíz (AM) mientras que, en la DC+n-3 se usa aceite de hígado de bacalao (AHB) <sup>Este compuesto es el AG</sup> más AM en una relación 7%/1%, respectivamente. Es importante el AM, ya que este ofrece AG esenciales que son AG que el cuerpo no puede sintetizar y hay que consumirlos directamente en la dieta. También se tienen otros compuestos en la dieta que son vitaminas, fibras, etc.

9) Cuando se tiene una experiencia en la que se alimentan animales control (DC), y además animales alimentados con una dieta rica en sacarosa, se observa que si hay diferencia significativa entre ambos grupos debido a que el grupo control tiene normal tolerancia a la glucosa, mientras tanto, el grupo de la DRS tiene disminuida su tolerancia a la glucosa, debido a un aumento de la glucemia basal, lo que provoca hiperinsulinemia basal; la respuesta insulínica es a nivel tisular, debido a que hay gran cantidad de glucosa / glucógeno <sup>circulante</sup> en tejidos y la insulina no tiene acceso tisular.

10) Cuando se alimentan animales con DRS se observa un incremento de los TG plasmáticos debido a que como consecuencia de la alimentación (sacarosa: glucosa-fructosa) se producen más AG, Glicerol y TG. El tema es que los AG y el Glicerol vuelven al hígado para ser metabolizados o los AG van a tejidos extra hepáticos donde se  $\beta$ -oxidan (tejido muscular) o se acumulan (tejido adiposo), pero los TG quedan en circulación y por la acción de las LPL se desdoblan en AG y glicerol. Pero la excesiva producción de TG que quedan circulando no alcanza a desdoblarse, o secretarse o removerse, provocando así el nombrado aumento de TG en plasma.



ALUMNO: K. ...  
PUNTAJE 1.4/10

Carrera: Bioquímica  
Grupo TP: lunes 8-13

### EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 pts) -

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+n-3)? Puntaje: 2 pts
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 pts
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 pts
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 pts
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 pts.

1) Composición de las dietas:

DRS: <sup>Falta de control</sup> ~~hidratos de carbono~~ ~~(sacarosa)~~ ~~disacárido formado por~~ ~~dos monosacáridos (glucosa + fructosa).~~  
Oxido de maíz  
proteínas  
fibras  
vitaminas

DC: <sup>Falta de control</sup> ~~hidratos de carbono~~ ~~(almidón)~~ ~~polímeros de la D-glucosa~~  
Oxido de maíz  
Oxido de soya  
proteínas  
vitaminas  
fibras

Las diferencias entre las dietas se basa en la diferencia de los hidratos de carbono que conforman cada una de ellas.

En cuanto a las calorías aportadas mayor diferencias ya que las dietas son todas isocalóricas.

Se observará un crecimiento (en cuanto al peso del animal) similar, más lento un mayor crecimiento (mayor metros) en una gata que en otro. (Continúa de nuevo)

2) La tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC se encuentra aumentada. La respuesta insulínica es mayor (o sea se activada) en la DRS ~~respecto a la DC~~ respecto a la DC, ya que la [glucosa] present ~~en la DRS~~ es mayor en la DRS.

3) Prueba para evaluar la remoción de TG se usa un test de tolerancia a la insulina. En animales alimentados con DC+n-3 se esperaba encontrar disminuida la remoción, ya que la producción de TG en este animal es

disminuidas con esta dieta esto aumentada, respecto al control.

1) Los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + U<sub>3</sub> se encuentran aumentados, la dieta control <sup>tiene</sup> proporción a los animales mayor cantidad de lípidos, lo que favorecerá a una mayor producción de TG hepáticos.

### Introducción de la pregunta del 1

En los DRS como mencioné del ensayo todo de la hoja está presente el mecanismo sacrosano, que es un formado por dos monosacáridos, la glucosa y la fructosa.

Para ingresar al intestino, el disacárido debe disociarse en sus dos monosacáridos constituyentes, para este sustrato el sustrato en los peroxisomas citoplásmicos de las células del intestino, las disacáridos que disocian lo sacrosano en sus dos componentes. Luego, la glucosa ingresa por un transporte activo cuando la proteína SGLT<sub>1</sub> que tiene dos sitios de unión, uno para el sodio y otro para la glucosa. Se efectúa un transporte unidireccional por este bombeo de Na<sup>+</sup>/U, lo que luego de ingresar la glucosa se reabsorbe para tener sus glucosa más. El transporte se da desde el lumen hacia el enterocito. La fructosa ingresa más lentamente, por este transporte es más rápido que un transporte pasivo. Pero se metaboliza más rápido que la glucosa.

La glucosa sale del intestino con ayuda del GLUT<sub>2</sub> y por circulación portal llega al hígado donde es fosforilada, pasa a glucosa-6P por medio de la glucocinasa (enzima adaptativa) específica de la glucosa. La fructosa es fosforilada por la fructocinasa (enzima adaptativa) específica de la fructosa.

Luego parte es derivada al torrente sanguíneo y parte finaliza en Acetil CoA.

X – 3 EXAMENES DE ALUMNOS DEL GRUPO PILOTO 2004

EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 pts) - 19/11/04

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+ n-3)? Puntaje: 2 pts
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 pts
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 pts
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 pts
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 pts.

① La dieta experimental utilizada en uno de los casos es una dieta rica en sacarosa.

\* Similitudes con la DC = Igual proporción de clorhidrato de Colina, metionina, fibra, vitaminas, sales, proteínas

\* Diferencias: La diferencia entre ambas dietas es el H de C: la dieta experimental utiliza sacarosa (disacárido formado por Glc + Fructosa) mientras que la DC, tiene, como H de C, almidón (H de C complejo formado por Glc)

• Ambas dietas son isocalóricas (17,8 KJ/g)

• No hay hiperplasia ni hipertrofia

La otra dieta utilizada experimentalmente utiliza un aceite de lípidos de bacalao (AHB), rico en  $\omega_3$ , ácido graso n-3, por ello se denomina DC+n-3

\* Similitudes = Igual proporción de H de C (almidón), grasa, prot, vitaminas, sales y prot.

\* Diferencias: La dieta experimental cambia un 3% del <sup>en la</sup> aceite implementado en la dieta control por AHB de origen marino (Ac linoléico n-3)

• AG n-3 → EPA (20:5 n-3)  
 → DHA (22:6 n-3)

- Ambos dietas son isocalóricas (17,8 KJ/g)
- No hay hiperplasia ni hipertrofia.

② La respuesta al test de tolerancia a la Glc se encuentra disminuido debido a que los tejidos presentan Resistencia tisular insulínica.

a los 22 días de dieta → Normogluémica - <sup>bata</sup> hiperinsulinémica - hipertriglicéidica - ↑ AGNE

45 a 50 días de dieta → Normalización de parámetros

90-120 días de dieta → Hiperglucémica - Normoinsulinémica - hipertriglicéidica - ↑ AGNE

③ El aumento de TG plasmáticos? se debe a que a pesar de que la secreción de VLDL-TG es buena, no alcanza a transportar, a soportar la cont. de TG sintéticos → TG hepáticos

Esto puede ser por

↳ La ~~se~~ síntesis de la parte proteica de VLDL no es suficiente  
 ↳ falta en el ensamble de la parte lipídica con la proteica.

Además la actividad de la LPL se encuentra disminuida provocando:

- ↑ síntesis de TG
- ↑ VLDL
- ↓ Remoción periférica de TG

④ El nivel de TG hepáticos se encuentra ↓ en animales alimentados con una dieta control + n-3

Esto se debe a una disminución de la act. de la LPL que produce una menor remoción. Se pregunta ¿cómo se relaciona?  
 La VLDL-TG se encuentra disminuido, hay una ↓ secreción de Apo B produciendo el no ensamble de la parte proteica con la lipídica.

Turno TP = Lunes ehs

inhibida por AG n-3

En el Tejido adiposo se ↓ la lipogénesis espontánea, produciendo ↑ cont de AG Libres y ↓ síntesis de TG. También en este tejido ↓ la respuesta lipolítica de la insulina.

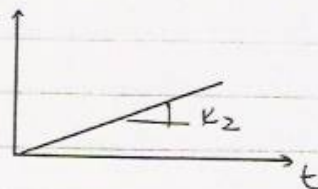
La secreción de insulina, a su vez, es menor, debido a que con este dieta se produce sensibilización tisular insulínica que hace que el nivel de Glc sea normal y se necesite ↓ cont de insulina para regular el consumo normal de Glc.

En el músculo se produce: ↑ oxidación de piruvato y ↑ oxidación de A.G (utilizados como energía), ↑ [ ] de TG en el citoplasma y mitocondrio y ↓ oxidación de Glc.

⑤ La prueba utilizada en el T.P para evaluar la remoción de TG es el test de tolerancia grasa endovenosa que se basa en el agregado de una sustancia "intralipid" que es una emulsión grasa artificial.

Al entrar en contacto con el organismo adquiere Apo C y Apo E transformándose en un sustrato adecuado para ser delipidado al = que las VLDL y Quilomicrones

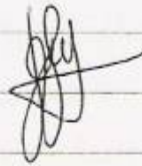
La velocidad de desaparición en función del tiempo es una medida válida de la remoción de TG; sigue una cinética de primer orden donde  $(k_2)$  la pendiente representa la velocidad fraccional de remoción ( $k_2 \% \text{ min}^{-1}$ )



En los animales alimentados con la DC+ω3, la remoción se encuentra disminuida debido a =

- ↓ actividad de la LPL
- Falta en el ensamblaje de la VLDL

• Deficiencia en Apo CII /

A handwritten signature or scribble consisting of several overlapping loops and a long horizontal stroke extending to the right.

Δ LUMINO M

Comisión = lunes de 8 a 12 hs.  
Bioquímica.

PUNTAJE 7,5/10

EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 ptos) - 19/11/04

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+n-3)? Puntaje: 2 ptos
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 ptos
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 ptos
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos.

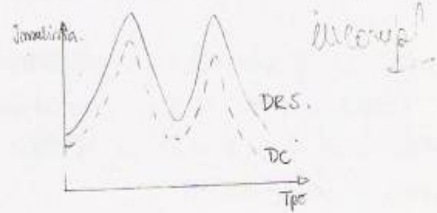
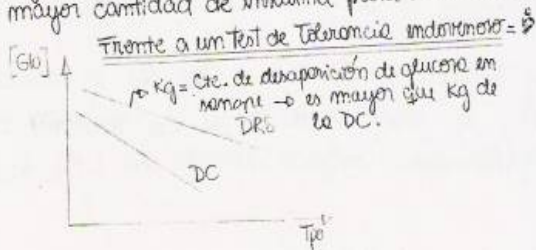
1) En calorías aportadas las 3 dietas son isocalóricas, aportan la misma cantidad de energía. Con respecto a la composición, éstas difieren en:

- DC = Hidrato de Carbono → Almidón. (Fte. de energía).  
 Aceite de maíz (aporta ácidos grasos esenciales) (proporción: 8%) (Fte. de energía).  
 Sales y Vitaminas.  
 Fibras.  
 Electrolitos de sodio → Factor de osmolaridad.  
 Proteínas → Caseína de la leche = Aporta aas. esenciales, pero pobre en Aas. azufrados.  
 - Metionina = Aporta aas. azufrados.

DRS = Igual a la dieta control. Lo que cambia es el H. de C. = en esta dieta se <sup>elim</sup> de SACAROSA (disacárido de glucosa y fructosa).

DC+n-3 = Igual a la dieta control. Lo que cambia únicamente es la composición grasa, en esta dieta se brinda AHB (aceite de hígado de Bacalao) 7% rico en ácidos grasos de cadena larga (polinsaturados) y 1% de aceite de maíz ya que aporta ácidos grasos esenciales. Aportan EPA = Eicosapentanoico (20:5 n-3) y DHA = Docosahexanoico (22:6 n-3).

2) La Tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS se encuentra disminuida (con respecto a la DC); ~~hay~~ hay respuesta hiperinsulinémica (hay > cantidad de insulina en plasma) ya que hay resistencia tisular insulínica. Entonces la insulina por estar totalmente activa y se necesita mayor cantidad de insulina para mantener el nivel normal de glucosa en sangre.



→ continúa \*  
3



3) En los animales alimentados con DRS el aumento de TG plasmáticos se debe a que hay un aumento en la síntesis de TG, aumento en la VSTG y a una disminución de la remoción lipídica de tejidos extrahepáticos. Esto está favorecido debido a que la actividad de la LPL (lipoproteína lipasa) se encuentra disminuida (por la resistencia insulínica) y ésta es la que encarga de desdoblar los VLDL-TG en ácidos grasos y glicerol. En los adipocitos actúa la (lipone hormona sensible), ésta desdobla TG a glicerol + ácidos grasos, y produce lipólisis espontánea. Es decir, envía AG a circulación.

En esta dieta aumenta la oxidación de ácidos grasos tanto en músculo cardíaco como esquelético.

4) Los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con la dieta control + m-3 se encuentran disminuidos debido a que hay una disminución de la actividad ~~enzimática~~ lipogénica (síntesis de lípidos); hay una disminución de las enzimas responsables de la esterificación de ácidos grasos (2 ácidos grasos  $\rightarrow$  TG); hay disminución de la actividad de la enz. acetil-CoA carboxilasa; hay disminución de la enz. ácido grasos sintasa; y hay menor cantidad de TG.

(En esta dieta la LPL tiene mayor actividad)  
 $\rightarrow$  depende TG en ácidos grasos y glicerol.

### 5) No es lo q' se pregunta.

5) Para evaluar la remoción de TG se puede hacer la prueba de: VSTG y remoción de TG plasmáticos. Los animales alimentados con la DRS + m-3 presentan mayor remoción de TG plasmáticos y una menor velocidad de síntesis. Hay menor síntesis de TG. La LPL está activa y no hay lipólisis espontánea. Como dije antes hay mayor remoción de TG plasmáticos por tejidos extrahepáticos. Aquí, en esta dieta no hay resistencia insulínica. La insulina estimula la actividad de la LPL. (Además los ácidos grasos m-3 aumentan la acción de la insulina). Los TG ácidos grasos de cadena corta salen a circulación unidos a la albúmina x vena porta. Los de cadena larga son reesterificados en la cél. intestinal se unen a una apoproteína Apo B48 y salen como QM. 1<sup>o</sup> se forma el QM nascente (contiene TG, Apo A y Apo B), el QM luego pasa a maduro (lo  $\alpha$ -HDL de Apo C<sub>2</sub> (CII y CIII) y Apo E). La Apo C<sub>2</sub> activa a la LPL. La LPL entonces desdobla el TG en ácidos grasos y glicerol.  $\rightarrow$  continúe leyendo

\* continuación de la pregunta 2. La insulina estimula la gluconeogénesis. Por otro lado, la fructosa  $\rightarrow$  se procesa más rápido, aumenta la conc. de sus metabolitos (citatos, piruvato, etc.) y éstos inhiben ~~la~~ la PDH por lo que se forma la oxidac' de glucosa, entonces hay gran cantidad de glucosa tanto en hígado como en tejido muscular, aumentando así la cantidad de glucógeno.

\*\* 5) el glicerol va al hígado y los ácidos grasos a los tejidos y músculo.

Luego queda el QM remanente; ~~q'~~ después de ~~q'~~ el QM nascente de varios ~~multos~~, el QM puede ir al hígado donde la LPL hepática te

EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 ptos) - 19/11/04

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+n-3)? Puntaje: 2 ptos
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 ptos
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 ptos
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos.

1). DC y DRS: Las semejanzas entre estas 2 dietas radican en que ambos son isocalóricas (es decir proporcionan la misma cantidad de calorías). Además, presentan igual proporción de proteínas, sales, fibras, vitaminas, minerales y clorhidrato de celulosa.

La diferencia es el Hidrato de Carbono que presentan ya que la dieta control presenta almidón y la DRS, sacarosa.

DC y DC+ω3: Las semejanzas radican en que ambos dietas presentan almidón como Hidrato de Carbono y la misma proporción de grasas, proteínas, minerales, sales, y fibras. Ambas son isocalóricas.

La diferencia se encuentra en que en la dieta control se usa aceite de maíz y en la DC+ω3 se reemplaza el 3% del aceite de maíz por aceite de Hígado de Bacalao (3%), +1% aceite de uca.

2). En animales alimentados con DRS, el test de tolerancia a la glucosa se encuentra disminuido. Hay mayor cantidad de glucosa circulante debido a una resistencia tisular insulínica; es decir hay menor captación de glucosa en los tejidos insulino dependientes. Se debe a una hiperinsulinemia basal, resistencia tisular insulínica, mayor secreción de Ionomina del páncreas.

(Puede haber una disminución en los receptores, o que estos no respondan a la Insulina.)  
Los niveles de colesterol se encuentran aumentados en respecto a la dieta control.

3). En los animales alimentados con DRS hay un aumento de tg plasmáticos, lo que aparece por que la actividad de la LPL se haya disminuida. La remoción de tg está disminuida y la velocidad de secreción de VLDL-tg, aumentada.

Los tg en hígado se hayan aumentados, la fructosa se fosforila más rápidamente que la glucosa, y que evita los pasos catalizados por la PFK1, enzima que regula el catabolismo de la glucosa. La fructosa inunda los más del hígado, hay mayor oxidación de AG, se esterifican, se sintetizan mayor cantidad tg en hígado.

Hay una acumulación de tg en hígado debido a que la velocidad de secreción de tg no al <sup>compensar</sup> se gana velocidad de síntesis de tg.

4). Los tg hepáticos en animales alimentados con DC + m-3 se encuentran <sup>disminuidos</sup> ~~disminuidos~~, <sup>por</sup> lo que conduce a una <sup>mayor</sup> ~~mayor~~ remoción periférica de tg y una menor velocidad de secreción de VLDL-tg. <sup>actividad de la</sup> la LPL muscular se encuentra aumentada. Los tg plasmáticos también están disminuidos,

5). ~~Para determinar la remoción de tg.~~  
Para medir los tg plasmáticos realizamos 2 pruebas importantes: el TTEV y la velocidad de secreción de VLDL-tg.

La remoción de tg en dieta control + m-3 se encuentra aumentada con respecto a la DC. La velocidad de secreción de VLDL-tg, está disminuida, debido a que la actividad de la LPL muscular está aumentada. ~~Puede disminuir por una disminución o baja concentración de Apo CII en VLDL, pueden en el momento de la parte posterior de lípidos.~~

En la DC + m-3 hay menor cantidad de insulina, es decir se necesita menor cantidad de insulina para mantener normal la utilización de glucosa, por que la insulina es más efectiva. Hay una mayor sensibilidad a la insulina.

El TTEV se encuentra normal, es decir no hay gran cantidad de glucosa en circulación y el glucógeno se encuentra normal comparándolo con la Dieta control.

Los AG m-3 disminuyen la actividad de las enzimas lipogénicas y la actividad de las enzimas que intervienen en la esterificación de los AG.

Sigundo

7/9/10

EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 pts) - 19/11/04

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+ n-3)? Puntaje: 2 pts
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 pts
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 pts
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 pts
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 pts.

1) DC y DRS → ambas dietas son isocalóricas, por lo tanto, tienen la misma cantidad de calorías se les aporta la misma cantidad de lípidos, proteínas, fibras, etc.  
→ la diferencia entre estas dietas está en el hidrato de carbono suministrado.  
DC: tiene almidón  
DRS: tiene sacarosa

DC y DC+n3 → estas dietas también son isocalóricas y se les aporta la misma cantidad de proteínas, fibras, etc. e hidratos de carbono.  
→ la diferencia entre estas dietas está en los ácidos grasos suministrados.  
DC: aceite de maíz  
DC+n3: aceite de lígodo de bacalao (AG insaturado en la posición 3) + aceite de maíz

2) En la dieta DRS, la tolerancia a la glucosa en animales está disminuida; en los tejidos insulino-dependientes aparece una resistencia insulínica. Hay grandes cantidades de insulina en circulación (superinsulinemia), pero esta no actúa de forma efectiva y por lo tanto se da la menor tolerancia a la glucosa en los tejidos. Se cree que la insulina no estimula de manera correcta a los transportadores de glucosa en los tejidos, para que ésta pueda ingresar.

3) En la DRS se produce un aumento de TG plasmáticos debido a que en el hígado se sintetizan grandes cantidades de TG que se unen a apoproteínas y son liberados a la circulación en forma de VLDL. Todo esto se debe a que la ingesta de sacarosa, la cual se desdobla en glucosa y fructosa, produce una gran cantidad de Acetil-CoA, el cual va a la mayoritariamente a la síntesis de TG. Además, al haber una resistencia insulínica en los tejidos insulino-dependientes, hay una menor remoción de TG, los cuales deberían ingresar a estos tejidos en forma de gliceral y ácidos grasos. En resumen, debido a una mayor síntesis y secreción de TG en el tejido hepático, y una menor remoción en los demás tejidos, hay un alto valor de TG circulantes en plasma.

4) Los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC+n3 se encuentran disminuidos. Esto se debe a que la mayoría de los TG que llegan al hígado son de origen dietario, como en el resto de los tejidos. Hay una disminución en la síntesis de TG, es prácticamente nula, ya que el organismo necesita energía y lo obtiene de la oxidación de estos TG en el tejido hepático y los demás tejidos. La secreción de TG en forma de VLDL también está disminuida debido a que hay poca cantidad de TG en hígado.

5) Para evaluar la remoción de TG se utiliza un lípido sintetizado químicamente, el

Imtraolipid. Este compuesto se une a las apoproteínas y sigue los mismos vías que los TG cuando entran al organismo en forma de ácidos grasos o lípidos, con la diferencia que este lípido sintetizado químicamente está marcado y por lo tanto podemos obtener una  $K_2$  o velocidad de remoción de lípidos, obtener una gráfica y con estas, comparar entre dos dietas y evaluar si hay una mayor o menor remoción, por ejemplo (de acuerdo a los pendientes)

Como la respuesta es la dieta  $C + W_3$

## EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 pts) - 19/11/04

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+ n-3)? Puntaje: 2 pts
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 pts
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 pts
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 pts
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 pts.

1) las 3 dietas son isocalóricas tienen la misma cantidad de proteínas, vitaminas, y H<sub>2</sub>O  
 → en DC hay 5,4% de aceite de maíz y 8% de almidón  
 - en DC+W<sub>3</sub> hay 5,4% de aceite de líquido de Baccharis y 8% de almidón  
 - en DRS hay 5,4% de aceite de maíz y 8% de sacarosa

2) la tolerancia a la glucosa en los animales con DRS está disminuida por la resistencia ~~muscular~~ insular a la insulina por lo que hay hiperinsulinemia y por esta razón hay mayor concentración de ácidos en plasma → se debe a que la actividad de la LPL está disminuida y se necesita mayor concentración de insulina para mantener los niveles de glucosa en sangre.

3) Hay un aumento de los TG plasmáticos porque la fructosa activa la vía de la síntesis de TG dando gliceral 3P + Acetil CoA → TG se ve más.

la fructosa se metaboliza más rápido que la glucosa, salta 2 etapas reguladas de esta última para dar primerito que es 2 a 4 veces la cantidad del dado en el metabolismo de la glucosa;

En tejido adiposo hay una mayor lipólisis y aumento de [TG] esto da también que en músculo cardíaco y esqueletico haya un aumento de [TG] ya que produce menor oxidación de glucosa (por la resistencia insulínica) y haya oxidación de Ac grasas.

Las LPL extrahepáticas tienen sus funciones disminuidas y la acción

lipolíticas? de la insulina se encuentra reducida.

En el hígado hay mayor secreción de VLDL-Tg y también hay acúmulo debido a que la velocidad de renovación no alcanza a sacar todo el VLDL-Tg que hay.

1) Los niveles de Tg hepáticos con la dieta + n3 VLDL muestra que se encuentran disminuidos por una mayor renovación periférica de Tg?

- Los n3 inhiben la lipogénesis hepática
- Una mayor actividad de la LPL
- Mayor sensibilidad de la insulina
- menor síntesis de Tg y ac. grasos  $\rightarrow$  oxid. AG

ya que los n3 van al intestino se reesterifican y salen como QM.

2) Se evalúa el  $K_2$  en qué forma?

Lo que se observa en el trabajo práctico es que la renovación de Tg en la dieta era mayor que en la dieta control, esto puede deberse a la mayor actividad y sensibilidad de las LPL extrahepáticas, a una mayor oxidación mitocondrial y al aumento de la sensibilidad de la insulina.

ALUMNO Q 6110

EVALUACIÓN TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 PTOS) 19-11-04  
Cuestionario B

- 1) ¿Cuáles son las dietas en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (D.C., D.R.S., D.C.+ n-3)? Puntaje 2 pts
- 2) ¿Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con D.C. +n-3?  
Puntaje: 2 pts.
- 3) En animales alimentados con D.C. + n-3 ¿indique a qué se debe la disminución de TG plasmático? Puntaje: 2 pts.
- 4) ¿Cómo se encuentran los TG hepáticos en animales alimentados con DRS?. Justifique la respuesta. Puntaje: 2 pts.
- 5) ¿Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de los TG? . ¿Qué respuesta esperaría en animales alimentados con DRS respecto a los animales alimentados con DC?



1. Las calorías de ambas dietas son iguales, isocalóricas.

La diferencia está en la composición:

En la DRS el H<sub>2</sub>O es la sucrosa y la control es el almidón; el resto en los componentes: crit, sales, minerales no hay diferencias.

En la DC y DC + m-3 la diferencia es en la composición lipídica.

DC: aceite de maíz y DC + m-3 aceite de linaza en báculos (4%) + 1% de aceite de maíz. El aceite de linaza de báculos aporta AG poliinsaturados. El resto es igual.

2. No hay diferencias. Falta justificación.

3. Están disminuidos porque solamente hay una menor secreción sino también una mayor reabsorción, debido a la mayor especificidad de los insulinas; por lo tanto la LDL influye por la insulina para hidrolizar los TG de las VLDL en glicérol y AG. Incompleta la justificación.

4. Si aumentan aumentados por su mayor síntesis influenciados por la metabolización de la fructosa que produce mayor síntesis de AG y glicérol y mayor esterificación, además hay mayor aporte de AG libres al plasma que proviene de la lipólisis aumentada del tej. adiposo. Incompleta.

5. Evalúa la actividad de las LPL que es la que hidroliza los TG de las VLDL. La remoción de TG en la DRS vs C está disminuida debido a la menor actividad de la LPL. Incompleta.

X -4 EXAMENES DE A LUMNOS DEL GRUPO TRADICIOAL 2004

P

Tutor: Juanes Mazona 19-11-04

ALUMNO R

PUNTAJE 6.6/10

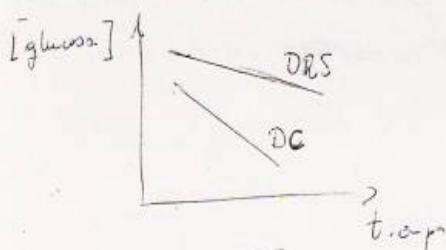
EVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 ptos) - 19/11/04

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+ n-3)? Puntaje: 2 ptos
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 ptos
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 ptos
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos.

1. Dieta control.	Dieta rica en sacarina	Dieta control + n-3
• Aceite de maiz	Aceite de maiz	Aceite de pescado de bocales (familia de maiz)
Almidon	Sacarina	Almidon

Todas las dietas son cerealarias aportan la misma cant. de calorías  $\approx 15,77 \text{ KJ/g}$ .

2. La tolerancia a la glucosa se encuentra modificada



se observa una resistencia a la recepción de glucosa por

⇒ La respuesta insulínica en este caso se presenta una resistencia insulínica que no permite la recepción de glucosa por los tejidos.

~~Algunos de los efectos de la insulina.~~

La insulina se ve a encontrar en mayor cantidad por su acción sobre la glucosa (efectividad) será menor. La metabolización más rápida de la glucosa se ve a ~~permitir~~ permitir obt. energía. La insulina se a embudo la lipólisis y la masa de la glucosa lo que no pasa con la metabolización de la glucosa. Entonces la glucosa ~~se almacena~~ se almacena. Tomará ~~una~~ una por lo general, que se ve la de su degradación.

3. El aumento de  $T_g$  plasmático se debe en primer lugar a la acción de la insulina que se a aumentar la síntesis de estos y la esterificación, además haber una mayor acción de VLDL por la acción de  $T_g$  sobre la capacidad de las VLDL que no son  $T_g$  efectivas con en el caso normal debido a que presenta una diferencia estructural: no ~~se~~ se transportará de forma efectiva todos los  $T_g$ . Esto? ~~Tras~~ tras una consecuencia en aumento de  $T_g$  plasmático. Además las lipoproteínas que se liberan de la remoción también se ve un efecto por la baja eficiencia lipolítica que no se a permitir una oxidación eficaz de los mismos.

4. La acción de  $T_g$  hepático a aumentar disminuido debido a que hay una menor síntesis de estos y una mejor remoción por parte de las VLDL. La insulina en este efecto no se a aumentar pero sí es más eficaz. ~~se~~ se a regular la eficacia de la remoción?

5. Efecto de la insulina en la grasa abdominal. Alamp?

Se puede observar una mejor remoción por que los se presionan. 3. ~~se~~ se a regular el organismo regular ~~la~~ la acción de las VLDL y la acción de estos a la  $T_g$  es más efectiva.

2 HOJAS

ALUMNOS  
78/10

**ÈVALUACION TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 ptos) – 19/11/04**

- 1) Cuáles son las diferencias en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (DC, DRS, DC+ n-3)? Puntaje: 2 ptos
- 2) Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC? Cómo es la respuesta insulínica? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos
- 3) En animales alimentados con DRS indique a que se debe el aumento de TG plasmático. Puntaje: 2 ptos
- 4) Cómo se encuentran los niveles de TG hepáticos en animales alimentados con DC + n-3? Justifique. Puntaje: 2 ptos
- 5) Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de TG? Que respuesta esperaría encontrar en animales alimentados con DC + n-3 respecto a los animales alimentados con DC? Justifique su respuesta. Puntaje: 2 ptos.

lunes 8 a 13hs

① DRS-0 es una dieta isocalórica con respecto a la DC, es decir los 2 dietas aportan la misma cantidad de calorías.

Esta dieta tiene sacarosa (fructosa + glucosa) como hidrato de carbono. La dieta control tiene almidón. ~~Con~~ los vitaminas, lípidos y sales ~~control~~ con los mismos en los 2 dietas DC y DRS.

DC + n-3 y DC +  $\omega$  son isocalóricas, es decir que aportan la misma cantidad de calorías. En la DC + n-3 se reemplaza en un 4% la cont. de aceite de maíz por aceite de linaza. No se puede reemplazar en su totalidad ya que el aceite de maíz aporta ácido linoleico y ácido linoléico que la rata no puede sintetizar por sí sola. El aceite de linaza aporta ácidos grasos insaturados tales como EPA y DHA.

② La tolerancia a la glucosa en animales alimentados con DRS vs DC se encuentra disminuida y hay una resistencia tisular a la insulina.

Se necesita mayor cantidad de insulina para metabolizar una cantidad normal de glucosa. En esta dieta experimental se observa hiperinsulinemia. Esta insulina no es efectiva en su totalidad por eso se ~~observa~~ eleva en niveles altos.

~~La~~ la tolerancia a la glucosa se ve disminuida ya que la insulina regula los transportadores de glucosa y a las enzimas (G6P) de la vía glucolítica.

③ El aumento de TG plasmáticos se debe a una mayor secreción, mayor síntesis y menor remoción

Hay una menor remoción que puede ser causada por una disminución en la actividad de los enzimas lipolíticos o ausencia o inactividad de ApoC-2 lipasa sensible a hormona no este afectado por la insulina entonces produce lipólisis de los TG ~~para~~ liberando AG y glicerol, estos <sup>algunos</sup> vuelven al hígado y se esterifican y luego se libera TG a la circulación

La vía glucolítica de la fructosa genera mucho Acetyl-CoA y este es sustrato para la síntesis de TG en el hígado

④ Los niveles de TG hepáticos se encuentran disminuidos ya que hay una menor síntesis y mayor remoción?

Hay una mayor oxidación de AG.

Los EPL funcionan bien ya que ~~no~~ hay una hipersensibilidad insulínica en los tejidos.

< acción de la E2  
lipólisis  
> oxidación

Hay una mayor remoción de lípidos que funciones bien los Apo B y hay un buen enclaje de la parte proteica y la lipídica.

⑤ la prueba que hago es  $k_2$ . Si mayor es la  $k_2$  mayor es la remoción. En animales alimentados con DC+n-3 la remoción es mayor.

Suplemento



ΔΕΛΤΑ

6/10

EVALUACIÓN TRABAJO PRACTICO GLOBALIZADOR (10 PTOS) 19-11-04  
Cuestionario B

- 1) ¿Cuáles son las dietas en cuanto a composición y calorías aportadas por cada una de las dietas (D.C., D.R.S., D.C.+ n-3)? Puntaje 2 ptos
- 2) ¿Cómo se encuentra la tolerancia a la glucosa en animales alimentados con D.C. +n-3?  
Puntaje: 2 ptos.
- 3) En animales alimentados con D.C. + n-3 ¿indique a qué se debe la disminución de TG plasmático? Puntaje: 2 ptos.
- 4) ¿Cómo se encuentran los TG hepáticos en animales alimentados con DRS?. Justifique la respuesta. Puntaje: 2 ptos.
- 5) ¿Qué prueba dinámica conoce para evaluar la remoción de los TG? . ¿Qué respuesta esperarías en animales alimentados con DRS respecto a los animales alimentados con DC?

ALUMNO J

1- Las calorías son iguales, son isocalóricas

	D R S	DC	DC + m-3
H de C	sacarosa	almidón	almidón
Lípidos	aceite de maíz (7%)	aceite de maíz (7%)	aceite de maíz (1%) + aceite de hígado de vaca

2- La tolerancia a la glucosa no es diferente en la dieta E y DC+m-3 a pesar de la cantidad de insulina es menor, lo que significa mayor efectividad por parte de la insulina. Incompleta

3- Los TG plasmáticos están disminuidos debido a la menor secreción y mayor remoción. Incompleta. Falta justificación

4- Los TG hepáticos están aumentados porque el metabolismo de la fructosa produce mayor síntesis de glicerol y AG, como consecuencia mayor esterificación. Incompleta

5- Al metabolizarse la fructosa produce mayor síntesis de AG y glicerol y mayor esterificación. Estos TG salen como VLDL al plasma. Esa secreción está aumentada a pesar de eso están aumentados y no se alcanza a secretar todo lo sintetizado.

Incompleta la justificación