



Escuela de Medicina  
Programa de Magíster en Ciencias Médicas  
Mención Biología Celular y Molecular

## **“Metodología indagatoria como estrategia de aprendizaje para el ciclo básico del área salud”**

Alejandra Sánchez Gamonal

Este trabajo fue elaborado bajo la supervisión del Director de Tesis Pablo Olivero Rebolledo en el laboratorio de Estructura y Función Celular, Universidad de Valparaíso, aprobado por los miembros de la Comisión.

Dr. Pablo Olivero R.  
Director de Tesis

Dr. (c) Paz Orellana G.  
Co-Director de Tesis

Dr. Carolina Guzmán V.  
Comisión Evaluación Tesis

Dr. Jenny Llanos V.  
Comisión Evaluación Tesis

Dr. Loretto Pantoja S.  
Comisión Evaluación Tesis

**Valparaíso, Chile  
2015**

# ÍNDICE

1. RESUMEN.....	2
2. MARCO TEÓRICO .....	3
2.1.- Médicos Investigadores; expectativa nacional? .....	3
2.2.- Integrando la Investigación Fundamental a la educación: Metodología Indagatoria .....	5
2.3.- Dominios cognitivos y Habilidades de pensamiento. Investigación desde pregrado. ...	7
2.4.- Habilidades de estudio autónomo (HEA).....	8
2.5.- Aprendizaje significativo .....	8
2.6.- Expectativa académica.....	9
3. HIPÓTESIS.....	11
4. OBJETIVOS.....	11
5. METODOLOGÍA .....	12
6. RESULTADOS .....	17
Aprendizaje Significativo .....	17
Habilidades de Estudio autónomo .....	18
Encuesta de expectativa académica y profesional .....	20
7. DISCUSIÓN.....	22
8. CONCLUSIÓN.....	25
9. REFERENCIAS .....	26
ANEXOS.....	29
ANEXO1. PLANIFICACIÓN SEMESTRAL.....	30
ANEXO 2. GUÍA: ONDA BIOELÉCTRICA: POTENCIAL DE ACCIÓN .....	36
ANEXO 3. EVALUACIÓN FINAL .....	40
ANEXO 4. RÚBRICA EVALUACIÓN FINAL .....	43
ANEXO 5: PROYECTO SIF .....	49
ANEXO 6: ENCUESTA DE EXPECTATIVA ACADÉMICA.....	54

## 1. RESUMEN

Las instituciones académicas de calidad promueven el desarrollo de la investigación, organizando experiencias educativas tempranas para aumentar las expectativas de generación de conocimiento durante la vida profesional. De este modo, desde el ciclo básico de la educación universitaria, el estudio de los fundamentos científicos puede promover la exploración de dominios cognitivos superiores, que los estudiantes podrán incorporar a contextos académicos de excelencia. En este estudio, nos enfocamos en transferir habilidades inherentes al trabajo científico a estudiantes de medicina durante el ciclo básico de ciencias, utilizando la "Metodología indagatoria", favoreciendo así el vínculo entre la investigación fundamental y la educación en salud.

**Objetivo:** Evaluar el impacto de la metodología indagatoria sobre el uso de dominios cognitivos y la expectativa, en el contexto académico del ciclo básico del área salud.

**Metodología:** Diseñamos una didáctica para una asignatura electiva experimental asociadas al currículo basal (asignatura obligatoria) de ciencias fundamentales del primer año de Medicina. Implementamos evaluaciones de procedimiento por dominio cognitivo, como herramientas de registro para tres momentos del período académico. Aplicamos una encuesta de expectativa académica- profesional al inicio y término del periodo.

**Resultados:** Nuestros resultados sugieren que el desarrollo de habilidades de estudio autónomo promueve el uso de dominios cognitivos superiores en la resolución de problemas y expone la voluntad del colectivo respecto a la expectativa de desarrollo académico y profesional.

Los resultados de las encuestas evidencian que las habilidades y la expectativa se incrementan con los procesos indagatorios.

**Conclusiones:** La didáctica implementada incrementa aprendizajes significativos en un periodo menor a un año, promoviendo el desarrollo de dominios cognitivos superiores asociados a habilidades de estudio autónomo fundamentales para la generación de conocimiento y trabajo científico desde etapas tempranas del ciclo básico. Los resultados de las encuestas sugieren que la expectativa de colectivo de los alumnos pueden orientar a los educadores respecto a su expectativa profesional y/o académica, así como inducir estrategias personalizadas en la innovación curricular.

*Palabras clave: Metodología indagatoria, Aprendizaje significativo, Dominios cognitivos, Expectativa académica.*

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1.- ¿Médicos Investigadores; expectativa nacional?

La educación de calidad debe ser capaz de ofrecer una enseñanza no solo adaptada y rica, sino también creadora, promotora del desarrollo y asociada a estrategias educativas que potencien habilidades de pensamiento superior en sus alumnos<sup>1</sup>. Específicamente, un currículum poco flexible junto a una exigua innovación académica, pueden limitar el pensamiento crítico y reducir el comportamiento indagatorio, por lo que, sugerimos implementar desde el ciclo básico de la educación superior, instancias que fomenten la creación e investigación.

En este contexto, la utilización de metodologías didácticas activas, orientadas a la resolución de problemas científicos y la generación de conocimiento en forma cooperativa, son las principales experiencias educativas contemporáneas para la incorporación eficaz de los estudiantes a contextos académicos de excelencia.

La entrega de herramientas que promuevan en los estudiantes las habilidades de pensamiento, debe ser incentivada de manera sistemática desde los inicios de la formación profesional, con el fin de lograr su aplicación no solo durante la etapa universitaria, sino a lo largo de la vida profesional, y en su práctica asociada a la investigación o la docencia<sup>2</sup>. Sin embargo, en el último tiempo en nuestro país, se ha vuelto preocupante el déficit de médicos que participan en procesos de investigación científica, debido en parte a que muchas las escuelas de Medicina, no contemplan dentro del currículum las instancias para promover en sus alumnos el interés y la participación en la generación de conocimiento. Esto se manifiesta en el bajo número de horas académicas dedicadas a actividades propias del quehacer científico, durante la extensión del pregrado en las carreras del área de las ciencias de la salud resultando en una disminución de médicos-investigadores<sup>3</sup>.

La WFME<sup>1</sup> en sus estándares globales para el mejoramiento de la calidad en la educación médica básica menciona, entre otros aspectos, los siguientes<sup>4</sup>:

- El modelo curricular y el método instruccional deben preparar y apoyar al estudiante a responsabilizarse permanentemente por su aprendizaje.
- La escuela de medicina debe enseñar los principios del método científico, incorporando el pensamiento analítico y crítico, incluyendo a los estudiantes en proyectos de investigación y la participación en el desarrollo científico de la medicina en un contexto social.

---

<sup>1</sup> *World Federation for Medical Education*

- Las ciencias biomédicas básicas deben contribuir a la comprensión del conocimiento científico al constituir un aporte al desarrollo científico, tecnológico y clínico; como también a las necesidades actuales y futuras de la sociedad y del sistema de salud.
- Los resultados del aprendizaje o competencias, referidos a conocimientos, habilidades y actitudes que los alumnos deben demostrar, se deberían especificar en los resultados de participación de los estudiantes en la investigación médica, incluyendo habilidades clínicas con respecto a procedimientos de diagnóstico y prácticos, habilidades de comunicación y resolución de problemas, y la capacidad para aprender permanentemente demostrando profesionalismo en el marco de los diferentes roles en relación con la profesión médica.

Respecto de las competencias específicas en ciencias fundamentales para la medicina, que todos los estudiantes deben demostrar antes de recibir el grado académico, la AAMC<sup>2</sup> y el HHMI<sup>3</sup>, recomiendan<sup>5</sup>:

1. Aplicar el conocimiento de los mecanismos moleculares, bioquímicos, celulares y sistémicos que mantienen la homeostasis, y de la desregulación de estos mecanismos, en la prevención, diagnóstico y manejo de la enfermedad.
2. Aplicar los principios de la física y la química para explicar la biología normal, la patología de enfermedades y el mecanismo de acción de las principales tecnologías utilizadas en la prevención, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad.
3. Utilizar los principios de la transmisión genética, la biología molecular del genoma humano y la genética de poblaciones para inferir y calcular el riesgo de una enfermedad, instituir un plan de acción para mitigar el riesgo, obtener e interpretar la historia familiar y datos de ascendencia, ordenar las pruebas genéticas para guiar la toma de decisiones terapéuticas y para evaluar el riesgo del paciente.
4. Aplicar los principios de las bases celulares y moleculares de los mecanismos de defensa del huésped inmune y no inmune para determinar la etiología de la enfermedad, identificar las medidas preventivas, y predecir la respuesta.
5. Aplicar los mecanismos de procesos patológicos generales y específicos para la prevención, diagnóstico, manejo y pronóstico de trastornos humanos críticos.
6. Aplicar principios de la microbiología en la fisiología normal y patológica para explicar la etiología de la enfermedad, identificar medidas preventivas y predecir la respuesta a los tratamientos.
7. Aplicar los principios de la farmacología para evaluar las opciones para la terapia de fármaco seguro, racional y beneficiosamente óptimo.

---

<sup>2</sup> *Association of American Medical Colleges*

<sup>3</sup> *Howard Hughes Medical Institute*

8. Aplicar el conocimiento cuantitativo y razonamiento, incluyendo integración de datos, modelado, cálculo y análisis, y herramientas informáticas para la toma de decisiones clínicas de diagnóstico y terapéutica.

Ambas instituciones consideran los conocimientos, habilidades y procesos de aprendizaje, como pilares fundamentales de los currículos de las escuelas de medicina para formar profesionales de excelencia. Las escuelas de medicina modernas valoran la importancia y utilidad que el conocimiento del método científico y la investigación en salud tienen sobre la atención médica, considerando desde la educación básica la incorporación de habilidades científicas y clínicas<sup>6</sup>.

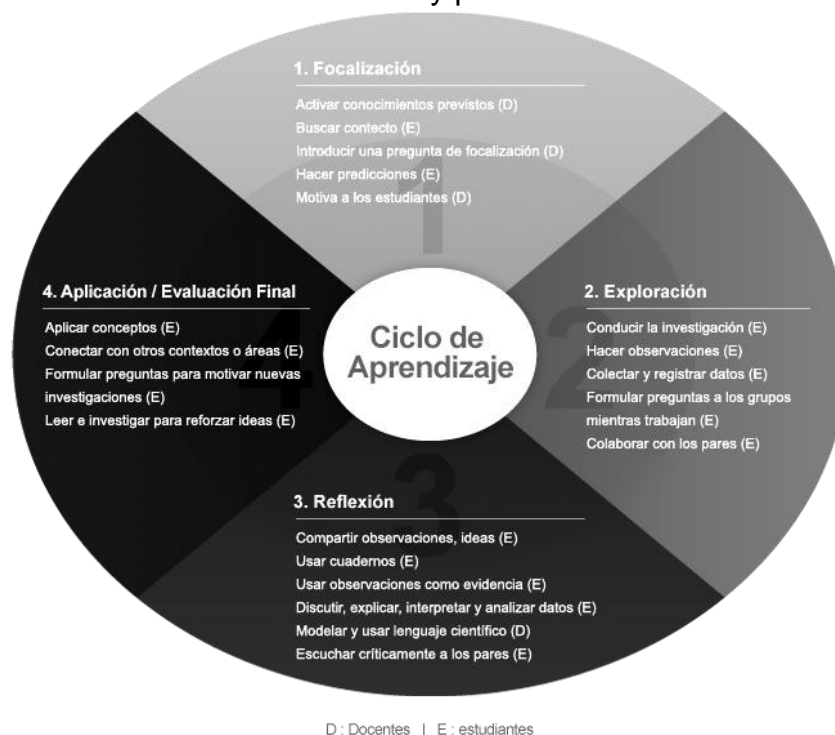
Desde esta perspectiva, es que la incorporación de la metodología indagatoria en la educación médica básica, se vuelve una herramienta útil durante la formación de los estudiantes, pues utiliza la experiencia de los investigadores locales y sus procedimientos inherentes al método científico, haciendo a los estudiantes participes activos en el proceso de generación de conocimiento local.

## **2.2.- Integrando la Investigación Fundamental a la educación: Metodología Indagatoria**

Desde hace años, las academias de ciencias se han involucrado en la generación de estrategias que constituyan directrices para los cambios en la educación científica<sup>7</sup>, siendo la propuesta más contundente, acertada y de mayor éxito, aquella que surge en el año 1996 desde la Academia de Ciencias de Francia<sup>8</sup>, que se ha conocido como Metodología Indagatoria, una metodología activa, constructivista, que se basa en el aprendizaje por descubrimiento, a través de la interacción con los problemas interesantes para los alumnos, construyendo de manera activa su aprendizaje<sup>7</sup> asimilándolo en su estructura cognitiva y pudiendo utilizarlo cuando las circunstancias lo requieran, requisitos para el aprendizaje significativo, en un proceso de aprendizaje cíclico y continuo<sup>9</sup>.

La Metodología Indagatoria se desarrolla a través de 4 etapas secuenciales asociadas al Ciclo del Aprendizaje (Fig.1). Se inicia con la *focalización*, en la cual se expone una situación problema que devela preconcepciones que se contrastarán durante la fase de *exploración*, a través de una experiencia y registro de observaciones y datos obtenidos. Posteriormente en la fase de reflexión, se analizan, comunican y discuten dichos datos y observaciones, modelando y utilizando un lenguaje científico para introducir nuevos conceptos. Finalmente, en la fase de aplicación, se generan conexiones con otros contextos, de lo cual se desprenden nuevas interrogantes dando paso a un nuevo ciclo<sup>10</sup>.

La construcción de conceptos en el modelo indagatorio se logra a través de la participación activa de los estudiantes, con monitoreo constante de parte del docente, lo que redundará en una mejora de la capacidad de auto-aprendizaje así como en las habilidades de comunicación y pensamiento crítico.



**Figura 1.** Etapas del Ciclo del aprendizaje.<sup>4</sup>

Los estudiantes que utilizan la indagación en el aprendizaje de las ciencias, realizan actividades y procesos mentales de los científicos, que tienen por objetivo ampliar el conocimiento humano del mundo natural<sup>11</sup>. Si las estrategias y técnicas en la indagación e investigación, durante la formación universitaria, son correctamente utilizados, se generará conocimiento, los resultados serán más precisos y se producirá aprendizaje significativo<sup>9</sup>. Sin embargo, este tipo de metodologías no han sido extendidas de manera transversal a la amplia gama de disciplinas que se imparten en la educación superior, lo que tiene como consecuencia el alejamiento entre las áreas de ciencias y educación<sup>12</sup>.

<sup>4</sup> Imagen obtenida de <http://www.ecbichile.cl/metodo-indagatorio/>

### 2.3.- Dominios cognitivos y habilidades de pensamiento. Investigación desde pregrado.

En nuestras actividades de aprendizaje utilizamos habilidades de pensamiento para procesar la información pertinente (*dominio cognitivo o complejidad*), implicando un nivel de esfuerzo para resolver un problema planteado (*dificultad*). Entonces, una actividad de aprendizaje puede presentar menor dificultad, pero desarrollar dominios cognitivos superiores. Los alumnos desde primer año pueden discutir artículos clásicos o presentar ideas, e incluso diseñar estrategias experimentales en los contextos disciplinares apropiados. La complejidad, según la taxonomía de Bloom (Tabla 1), está descrita por cualquiera de los seis dominios cognitivos y a su vez, cada dominio cognitivo está asociado a habilidades de pensamiento, expresado en verbos de acción tal como se muestra a continuación:

**Tabla 1. Dominios cognitivos basados en la taxonomía de Bloom (modificado por Anderson & Krathwohl)<sup>5</sup>**

Orden	Dominios	Significado	Habilidades
Inferior	<b>Recordar</b>	Recuperar, recordar o reconocer conocimiento que está en la memoria.	Reconocer, listar, describir, identificar, denominar, localizar, encontrar.
	<b>Comprender</b>	Construir significado a partir de diferentes tipos de funciones, sean estas escritas o gráficas.	Interpretar, resumir, inferir, clasificar, comparar, explicar, ejemplificar.
	<b>Aplicar</b>	Utilizar un procedimiento durante el desarrollo de una representación o de una implementación.	Implementar, desempeñar, usar, ejecutar.
Superior	<b>Analizar</b>	Descomponer en partes materiales o conceptuales y determinar como estas se relacionan entre sí y con la estructura o función general.	Comparar, organizar, atribuir, delinear, encontrar, estructurar, integrar.
	<b>Evaluar</b>	Hacer juicios en base a criterios estándares utilizando la comprobación y la crítica.	Revisar, formular hipótesis, criticar, experimentar, juzgar, detectar, monitorear.
	<b>Crear</b>	Juntar los elementos para formar un todo coherente y funcional; generar, planear o producir para reorganizar elementos en un nuevo patrón o estructura.	Diseñar, construir, planear, producir, idear, elaborar.

<sup>5</sup> Fuente: <http://www.eduteka.org/pdfdir/TaxonomiaBloomCuadro.pdf>



Estos dominios cognitivos son acumulativos, lo que significa que cada uno incluye los niveles previos de menor complejidad. Es así como los dominios de orden superior se asocian al pensamiento divergente, en el cual los procesos mentales transforman la información en nuevas percepciones y es utilizado para generar ideas nuevas y creativas<sup>13,14</sup>. La creatividad del alumno, las habilidades de orden superior, y la curiosidad natural, son factores que contribuyen a la motivación para aprender<sup>15</sup>.

#### **2.4.- Habilidades de estudio autónomo (HEA)**

El aprendizaje autónomo involucra la autorregulación del aprendizaje y la toma de conciencia del proceso cognitivo asociado a ésta. Permite potenciar altos niveles de comprensión y dirigir los propios procesos de pensamiento<sup>9</sup>, dando al estudiante la capacidad de reconstruir lo que ya sabe en una nueva forma de razonamiento, con un desarrollo cognitivo más maduro y con el compromiso efectivo en el proceso de aprendizaje<sup>16</sup>. Las habilidades ponen de manifiesto el funcionamiento del acto de conocer en la actividad mental y en la resolución de problemas que requieren de un conjunto de operaciones mentales e implican acciones que apoyan la resolución de una tarea o de un problema. Para su desarrollo es necesario usar conocimientos; pero una vez logradas, son hasta cierto punto independientes de éstos<sup>17</sup>.

Para ser capaces de dirigir su propio aprendizaje, los estudiantes deben ajustar sus estrategias de estudio y práctica, pues ningún proceso de aprendizaje estará completo si el estudiante no ha hecho suyo el hábito de aprender de manera independiente, autónoma y autodirigida<sup>9,18</sup>. Es así como la exploración temprana de dominios cognitivos superiores se transforma en una oportunidad para desarrollar en los alumnos habilidades de estudio autónomo de modo sistemático, considerando estrategias que facilitan la autonomía. Para esto, el profesor debe reactivar técnicas, normas, procedimientos, actividades y valores que los estudiantes sean capaces de aplicar en diferentes contextos que puedan evaluarse<sup>9</sup>.

#### **2.5.- Aprendizaje significativo**

La metodología Indagatoria fomenta la adquisición y desarrollo de habilidades y destrezas sobre las cuales se construye el aprendizaje significativo, que plantea un cambio en la construcción de los modelos mentales, en el cual la información previa se integra y relaciona con nueva información; fundamentándose en que el descubrimiento se realiza en función de la motivación, la experimentación y el uso

del pensamiento reflexivo, pudiendo ser utilizada para la resolución de nuevos problemas en nuevos contextos<sup>19,20</sup>. Pues el aprendizaje no es solo directo y memorístico de contenidos, sino que está referido al aprendizaje de habilidades con las cuales aprender contenidos<sup>21</sup> y que involucren la capacidad de resolver problemas y el desarrollo de la autonomía y responsabilidad en el aprendizaje<sup>22</sup>. El aprendizaje debe ser profundo, significativo y contextualizado, a modo de que la asignatura sea una instancia de entrenamiento para el desarrollo de capacidades de adquisición y construcción de conocimiento y en una vara exigente para que compare y evalúe sus logros posteriores<sup>16</sup>

Para que esto ocurra, el profesor debe establecer las conexiones y mantener las condiciones adecuadas que permitan desarrollar tanto las actividades, como cumplir con las expectativas académicas<sup>23</sup>, planeando estrategias que impulsen el trabajo autónomo, desafíen las propias habilidades y desarrollen la creatividad<sup>20</sup>, facilitando el aprendizaje significativo.

Las herramientas didácticas cumplen un rol importante en la transmisión del conocimiento, favorecen la educación continua y el desarrollo profesional<sup>24</sup>. La utilización apropiada de diversos recursos tecnológicos (TICs), constituyen un gran apoyo al favorecer la motivación a través del aprendizaje por descubrimiento y permitiendo que cada alumno logre los objetivos según su propio ritmo y estilo de aprendizaje<sup>23</sup>, estimulándolos a mantener una actitud y disposición favorable para llevar a cabo las diversas actividades propuestas de modo que el nuevo conocimiento sea incorporado adecuadamente en su estructura cognitiva<sup>25</sup>.

Es importante contar con un proceso evaluativo continuo y coherente, que permita establecer el nivel de logro de los alumnos, que permita al profesor monitorear y realizar los cambios pertinentes para favorecer tanto el aprendizaje como el pensamiento crítico y reflexivo, para desarrollar habilidades y actitudes que promuevan aprendizajes significativos a lo largo de la vida, necesarios para tomar decisiones conscientes y responsables, en especial en ambientes cambiantes e imprevisibles como el de la salud<sup>14</sup>.

## **2.6.- Expectativa académica**

El desarrollo de habilidades cognitivas superiores a lo largo del currículo, proveerá a los estudiantes de ventajas académicas tempranas a refinar durante la vida profesional. De hecho, el análisis, la síntesis y la creatividad son dominios escasamente esbozados en el ciclo básico, pero son el principal aspecto de la evaluación de los estudios de postgrado. En este contexto, las actividades electivas

de transición pueden ayudar a desarrollar las habilidades de estudio disciplinares desde el ciclo básico, en armonía curricular con cursos superiores.

Los estudiantes se involucran más en una tarea cuando se sienten capaces de utilizar más estrategias metacognitivas y cognitivas. Si la expectativa es alta, tanto el aprendizaje como el rendimiento mejoran, puesto que la motivación de los estudiantes no sólo está dada por el valor asignado a las tareas impartidas durante las asignaturas curriculares, sino también por las expectativas de éxito durante o al término de la realización de cada una de ellas y de sus proyecciones para el futuro<sup>26</sup>.

El hábito de perfeccionamiento académico propende a una innovación curricular continua a través de la reformulación y flexibilización de los programas curriculares del ciclo básico en ciencias de la salud, mediante la aplicación de metodologías de enseñanza-aprendizaje activas considerando las expectativas académicas<sup>23</sup> y planeando estrategias que impulsen el trabajo autónomo, desafíen las propias habilidades y desarrollen dominios cognitivos superiores y la creatividad<sup>20,22</sup>, facilitando el aprendizaje significativo. Un estudiante exitoso puede crear y utilizar diversas de estrategias de pensamiento y razonamiento para alcanzar las metas de aprendizaje complejas<sup>15</sup>.

La evidencia acumulativa demuestra que la indagación puede mejorar el compromiso del estudiante, el rendimiento académico y los resultados de aprendizaje de orden superior. Los beneficios también se pueden acumular para los profesores a través de la integración de la docencia y la investigación<sup>22</sup>.

Se espera que los aprendizajes, incentiven el perfeccionamiento continuo y autónomo más allá del periodo universitario; y que vayan de la mano con el cumplimiento y aumento de las expectativas con que los alumnos ingresan a la universidad, para esto es importante recoger las opiniones y expectativas de los alumnos desde el ingreso a la carrera, desarrollando contenidos y habilidades que generen motivación y responsabilidad por el aprendizaje continuo.

Ciencia y educación son disciplinas que trabajadas en conjunto potencian habilidades necesarias tanto para la actividad científica como para la vida<sup>27</sup>. Por ello con este estudio, se espera fortalecer el vínculo entre las ciencias y la pedagogía, mediante una metodología y didáctica innovadora, posible de aplicar transversalmente a nivel del pregrado en todas las carreras del área salud; potenciando la formación de calidad entregada por la Facultad de Medicina de la Universidad de Valparaíso.

### **3. HIPÓTESIS**

La aplicación de una didáctica basada en la metodología indagatoria promueve el desarrollo de habilidades de estudio autónomo, aumentando el aprendizaje significativo y la expectativa académica.

### **4. OBJETIVOS**

#### **Objetivo general**

Evaluar el impacto de la metodología indagatoria sobre el uso de dominios cognitivos y la expectativa, en el contexto académico del ciclo básico del área salud.

#### **Objetivos específicos**

- ❖ Aplicar el modelo indagatorio a los contenidos del área de las ciencias fundamentales.
- ❖ Producir material didáctico acorde al ciclo básico.
- ❖ Diseñar e implementar una encuesta de expectativa académica.
- ❖ Evaluar habilidades cognitivas superiores desde el ciclo básico.

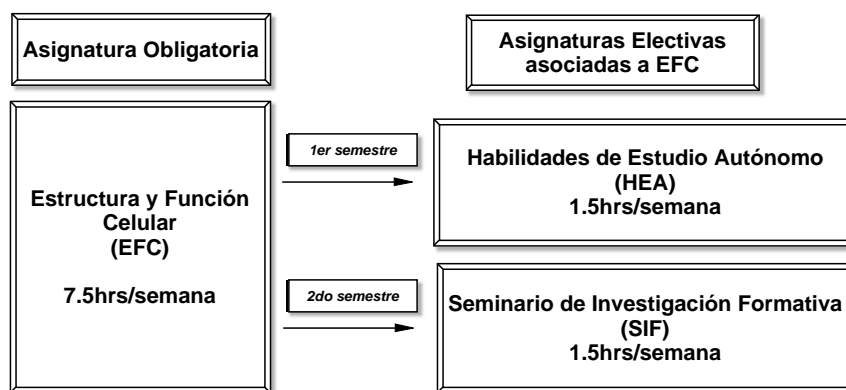
## 5. METODOLOGÍA

El proyecto se ejecutó en la Escuela de Medicina de la Universidad de Valparaíso, en el marco de dos asignaturas electivas de formación general: “*Habilidades de estudio autónomo*” (HEA) y “*Seminario de investigación formativa*” (SIF); impartidas durante el primer y segundo semestre, respectivamente. Cada asignatura contempla un total de 1,5 horas pedagógicas semanales.

El grupo a estudiar estuvo compuesto por estudiantes de primer año de la carrera de Medicina, que cursaron la asignatura obligatoria “*Estructura y función celular*” (EFC) (7,5h/semana). De este grupo, 23 alumnos no cursaron las asignaturas electivas antes señaladas y fueron designados como grupo control. El grupo experimental (n=18), estuvo constituido por aquellos alumnos que cursaron paralelamente a EFC, las asignaturas electivas HEA y SIF (Fig. 2).

La exploración de dominios cognitivos superiores se realizó por medio del diseño de una estrategia didáctica indagatoria, aplicada durante la asignatura electiva “*Habilidades de Estudio Autónomo*” que se enfoca en promover habilidades asociadas al método científico, y que pueden extenderse transversalmente a cualquier disciplina del ciclo básico en ciencias.

Las clases fueron planificadas por un investigador de la disciplina y un profesional pedagogo que ajustó las planificaciones, actividades y evaluaciones en base a la metodología indagatoria. Finalmente una tercera persona, un docente, realizó la transferencia de dicha planificación hacia los alumnos y el monitoreo constante en el aula. La metodología integra la triada funcional Investigador-pedagogo-docente.



**Figura 2.** Asignaturas de primer año de Medicina: EFC(obligatoria) HEA y SIF (electivas).

El currículo de la asignatura HEA, se planificó en base al ciclo del aprendizaje del modelo indagatorio (Fig. 1), para mantener una estructura y organización de cada clase durante el transcurso del proyecto, incluyendo objetivos, contenidos,

momentos de la clase, evaluación, intervención docente, actividades y recursos de aprendizaje (Anexo 1).

Las habilidades de estudio autónomo desarrolladas transversalmente durante la asignatura del mismo nombre, fueron:

1. Analizar poblaciones de datos y argumentar respecto a la información del conjunto.
2. Graficar y valorar criterios de ajuste a modelos matemáticos.
3. Generar bases de datos de búsquedas bibliográficas de calidad.
4. Validar los conceptos teóricos y extraer conclusiones utilizando modelos de comportamiento de fenómenos complejos.
5. Evaluar y comunicar la reflexión independiente de la información verificada.

Estas habilidades se asocian a objetivos conceptuales que aprendieron los estudiantes en cada sesión resolviendo una serie de ejercicios en forma individual o colectiva, utilizando programas, plataformas y bases de datos recomendadas para el estudio autónomo (Tabla 2). Así también para cada objetivo se asocian actividades e instrumentos de evaluación coherentes a la didáctica propuesta expresada en las planificaciones clase a clase (Anexo 1)

<b>Tabla 2. Objetivos conceptuales de HEA</b>	<b>Programa utilizado</b>
1. Análisis de Gráficos: funciones, línea de tendencias, comparación de pendientes y derivadas.	Origin Pro Excel
2. Cálculo manual y en excel de: <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Medidas de Tendencia Central (Media, Mediana, Moda).</li> <li>▪ Medidas de dispersión (Desviación estándar, Varianza, Error estándar).</li> <li>▪ Funciones de distribución: (T-student, Distribución Normal, Anova).</li> </ul>	Excel Statgraphics
3. Búsqueda Bibliográfica.	Mendeley Pubmed
4. Genómica y Proteómica.	iHOP Blast
5. Modelamiento del Impulso nervioso.	NERVE
6. Modelamiento de Proteínas.	VMD

Paralelamente se elaboraron guías de aprendizaje estructuradas en base al Ciclo del aprendizaje, algunas de las cuales fueron utilizadas en clases (Anexo 2) y otras con la finalidad de contar con herramientas a utilizar en asignaturas posteriores para favorecer la integración horizontal del currículo de la carrera de medicina.

Para comparar los grupos control y experimental determinando el aprendizaje significativo, a través del nivel de dominios cognitivos se utilizaron instrumentos de registro que consistieron en una Evaluación Diagnóstica, de tipo formativa, aplicada al inicio de la asignatura, una Evaluación Intermedia, correspondiente a una prueba sumativa de síntesis, aplicada al término del primer semestre (coincidente con el término de la asignatura electiva HEA) y finalmente una Evaluación Final sumativa al término del año académico (Anexo 3).

Con el objetivo de registrar cambios en el aprendizaje significativo, en cada instancia evaluativa se fue aumentando el grado de dificultad dentro de cada nivel de complejidad (dominio cognitivo), siendo la evaluación formativa la que presentó menor grado de dificultad.

Para evaluar aprendizaje significativo, es necesario no solo considerar el rendimiento de los alumnos, sino las habilidades desarrolladas en el proceso indagatorio, pues la utilización de una mayor variedad de dominios cognitivos permiten resolver problemas de manera más eficiente y creativa, al desarrollar el pensamiento divergente. Sobre esta base, se estableció un factor para el cálculo de la eficiencia, considerando el nivel de logro obtenido y el grado de dificultad aplicado de forma gradual en cada evaluación, de la siguiente manera:

$$\text{Eficiencia} = \text{Nivel de logro} \times \text{Grado de dificultad}$$

Los niveles de logro corresponden a valores que van desde 1 como mínimo a 4 como máximo (Tabla 3). Se determinó un grado de dificultad que aumenta con cada evaluación siendo 1, 2 y 3 para el diagnóstico, intermedia y final respectivamente, por lo tanto, al calcular el nivel de logro máximo (4) por el grado de dificultad máximo (3), el nivel de eficiencia tiene un valor igual a 12, como valor máximo.

Para cada evaluación se estableció la rúbrica respectiva, a la cual además de los indicadores de logro, se anexó las habilidades de estudio autónomo y los dominios cognitivos a los cuales apuntaba el planteamiento de cada pregunta, para poder medir estas variables, lo que se puede observar en la rúbrica de la evaluación final (Anexo 4).

**Tabla 3. Indicadores del Nivel de Logro**

<b>(1) Insuficiente</b>	<b>(2) Básico</b>	<b>(3) Satisfactorio</b>	<b>(4) Avanzado</b>
<p>Los estudiantes que se encuentran en este nivel dominan sólo las habilidades básicas como recordar información, comprender, resumir o ejemplificar, no pudiendo interrelacionar conceptos o datos necesarios para poder aplicar la información y herramientas otorgadas para generar elementos gráficos o la producción de textos que incorporen reflexiones propias.</p>	<p>Los estudiantes demuestran ser capaces de cumplir con parte de las tareas planteadas, pero con un nivel muy bajo de desempeño y de manera poco coherente, además de no aplicar las herramientas entregadas durante el curso para la resolución eficaz de las problemáticas expuestas.</p> <p>Los estudiantes que alcanzan este nivel son capaces de realizar las siguientes habilidades de estudio autónomo:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>♦ Graficar modelos matemáticos.</li> <li>♦ Generar bases de datos de búsquedas bibliográficas.</li> </ul>	<p>Los estudiantes son capaces de relacionar conceptos y emitir juicios de valor para explicar fenómenos biológicos o plantear y ejecutar un procedimiento científico, aplicando las estrategias aprendidas.</p> <p>Los estudiantes logran el desarrollo de dominios cognitivos superiores, sin embargo, al integrar los conceptos, presentan mayor dificultad en la argumentación de sus respuestas, observado en tareas como el diseño de un experimento o en la formulación de una hipótesis.</p> <p>Los estudiantes que alcanzan este nivel son capaces de realizar las siguientes habilidades de estudio autónomo:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>♦ Analizar poblaciones de datos.</li> <li>♦ Graficar modelos matemáticos.</li> <li>♦ Generar bases de datos de búsquedas bibliográficas.</li> <li>♦ Extraer conclusiones utilizando modelos de comportamiento de fenómenos biológicos.</li> <li>♦ Comunicar información verificada.</li> </ul>	<p>Los estudiantes demuestran desarrollo de los dominios de orden superior al ser capaces de plantear, analizar un problema y resolverlo utilizando herramientas y habilidades adquiridas, generando conclusiones, críticas y reflexiones en torno a dicha problemática. Así como también de diseñar un experimento o modelo que permita explicar fenómenos biológicos complejos.</p> <p>Los estudiantes que alcanzan este nivel son capaces de realizar las siguientes habilidades de estudio autónomo:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>♦ Analizar poblaciones de datos y argumentar respecto a la información del conjunto.</li> <li>♦ Graficar y valorar criterios de ajuste a modelos matemáticos.</li> <li>♦ Generar bases de datos de búsquedas bibliográficas de calidad.</li> <li>♦ Extraer conclusiones utilizando modelos de comportamiento de fenómenos biológicos.</li> <li>♦ Comunicar la reflexión independiente de la información verificada.</li> </ul>

La asignatura electiva SIF, tuvo como finalidad lograr la participación del alumno en la creación de un proyecto de investigación, a través del desarrollo previo de las capacidades de expresión oral y escrita, así como también de análisis y síntesis de artículos científicos. Los artículos correspondían a trabajos elaborados por investigadores pertenecientes a la universidad, los cuales presentaron los avances de sus proyectos a los estudiantes, quienes previamente habían sido preparados para la discusión crítica en el contexto disciplinar, a través de la lectura previa de la



publicación de investigador. Se invitó a los alumnos a participar con los investigadores, para que conocieran su trabajo en terreno y en conjunto con ellos, lograran generar un proyecto que contemple las etapas del método científico, potenciándolos como agentes investigadores desde los inicios del ciclo básico. El proyecto de investigación generado por los alumnos en SIF propendió principalmente al desarrollo del dominio superior Crear (Anexo 5).

El registro de la expectativa académica, se realizó a través de una encuesta *on-line* centrada principalmente en las áreas académicas y profesional. La encuesta diseñada, fue aplicada en dos instancias: al inicio y al final del período académico, a modo de contar con un seguimiento temporal respecto de los cambios que pudieran producirse en estas variables y establecer una posible relación entre el desarrollo de dominios cognitivos y el aumento de la expectativa que manifestaban los alumnos, proyectada a 10 años posterior al término de su carrera (Anexo 6). Se consideraron los resultados del grupo experimental que fue sometido a la metodología.

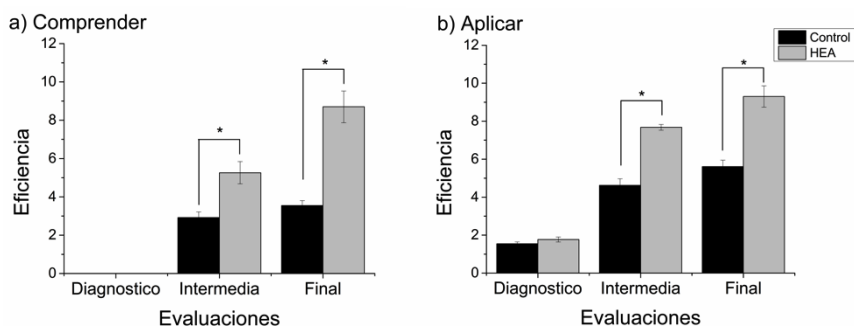
Para todos los resultados se utilizó el análisis de comparación múltiple LSD (least significant difference), Fisher 95% conf. \* $p < 0.05$

## 6. RESULTADOS

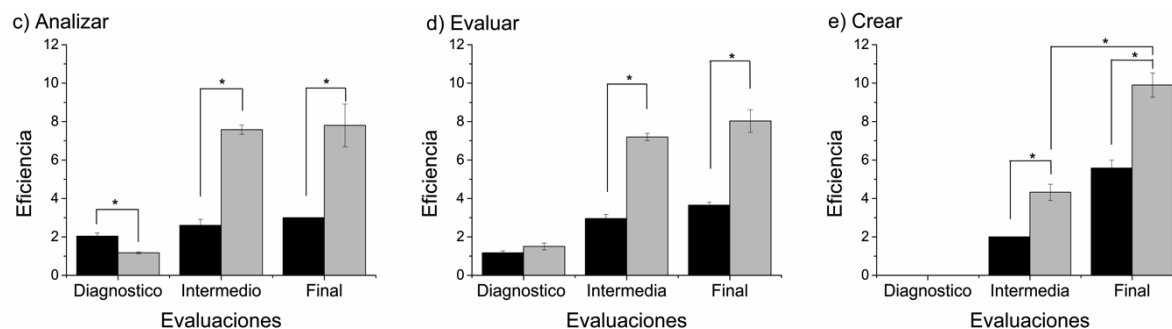
### Aprendizaje Significativo

Al comparar los resultados se observó que el grupo control no sobrepasó el 50% del nivel de eficiencia en la resolución de problemas, generándose diferencias significativas respecto del grupo HEA en la evaluación final (Fig. 3). Esta situación ocurrió también en la evaluación intermedia, pero no en el diagnóstico, lo que da cuenta del desarrollo de dominios superiores a través de la didáctica indagatoria.

### Dominios Cognitivos Inferiores:



### Dominios Cognitivos Superiores:

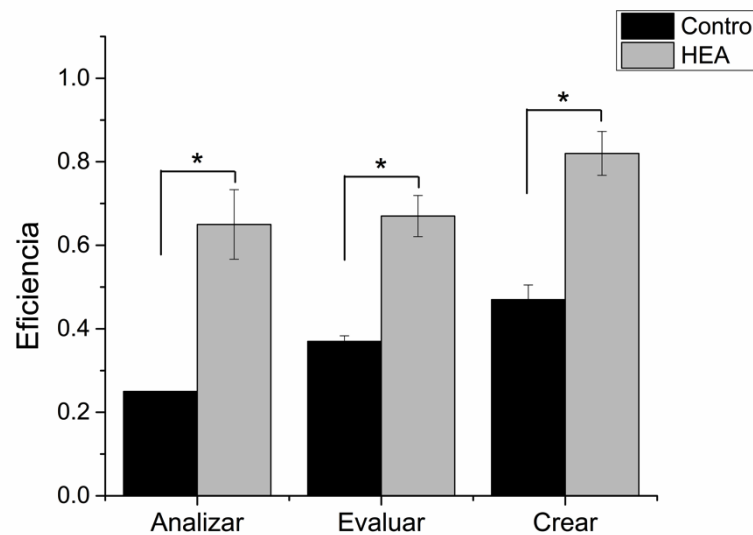


**Figura 3.** Nivel de eficiencia según el grado de dificultad aplicado a cada evaluación para cada dominio cognitivo. a) Comprender, b) Aplicar, c) Analizar, d) Evaluar, e) Crear.

Si bien Comprender y Crear no fueron registradas en la evaluación diagnóstica, los resultados dan cuenta del evidente aumento en el nivel de logro del grupo HEA respecto al control en las evaluaciones intermedia y final respecto del diagnóstico durante el curso temporal del año académico.

Los dominios cognitivos en la evaluación diagnóstica, presentaron bajos niveles de eficiencia tanto en el grupo control como en el grupo experimental HEA, situación que contrasta con lo ocurrido en las evaluaciones intermedia y final en las cuales el grupo HEA obtuvo niveles de eficiencia más elevados para cada uno de los cinco dominios cognitivos (Fig. 3), destacándose que el dominio más elevado de todos, Crear, pasó de tener el nivel más bajo para el grupo HEA en la evaluación intermedia a ser el mayor en la final (Fig. 3e).

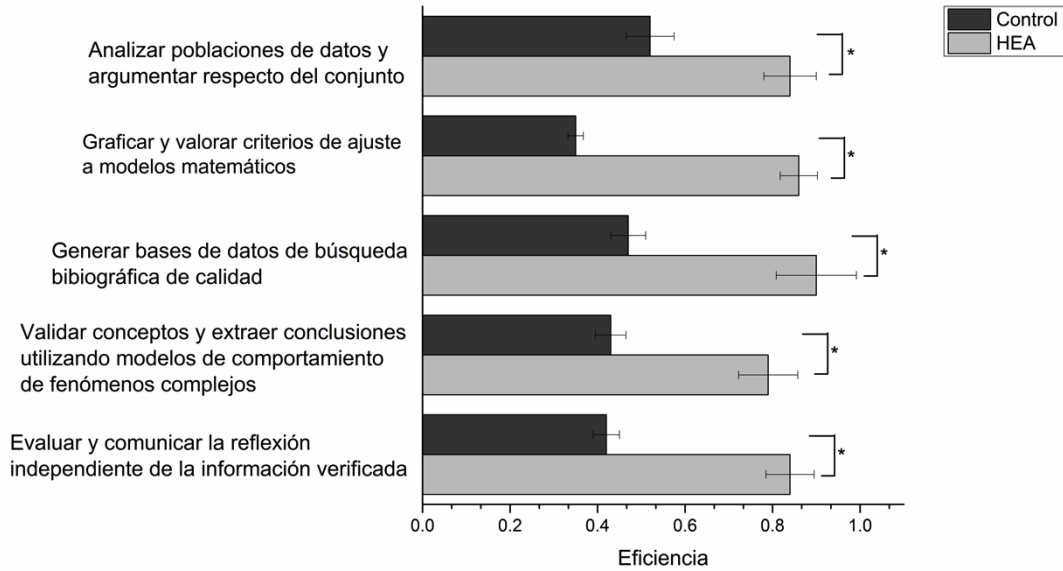
En la evaluación final se aprecian diferencias significativas entre los grupos, para cada uno de los dominios cognitivos superiores (Fig. 3.1)



**Figura 3.1** Comparación de la eficiencia en ambos grupos en la evaluación final respecto de los dominios cognitivos superiores.

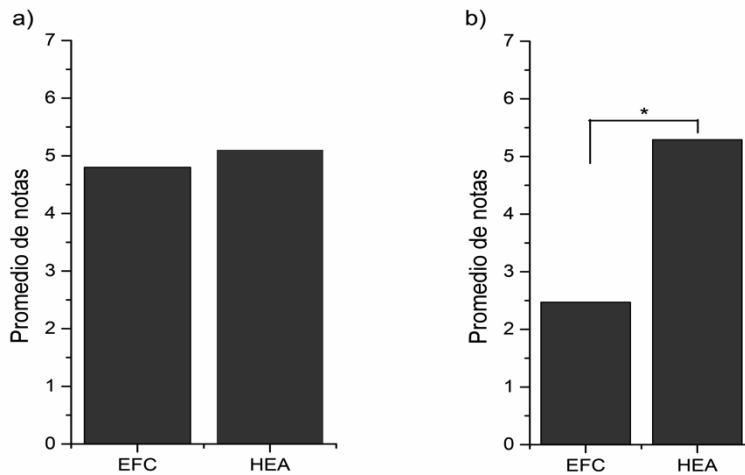
### Habilidades de Estudio autónomo

Los resultados de las evaluaciones para cada objetivo asociados a habilidades de estudio autónomo, evidencian que el grupo HEA superó significativamente al grupo control (Fig. 4).



**Figura 4.** Eficiencia por habilidad de estudio autónomo, obtenidos en la evaluación final en cada grupo.

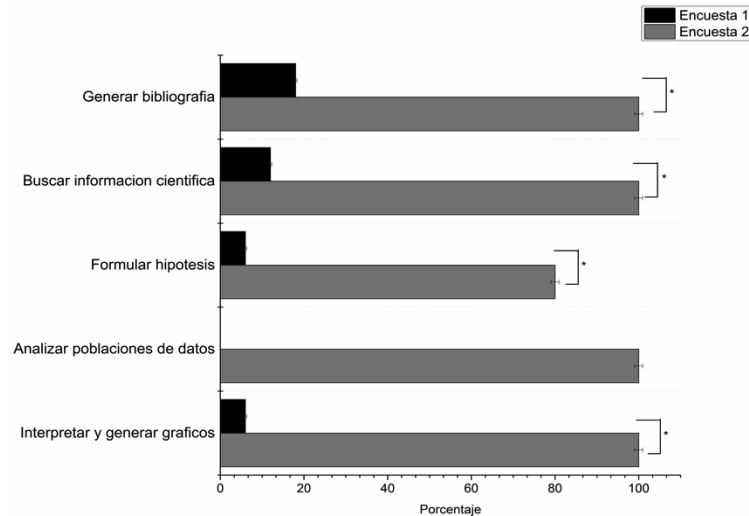
Al término del período académico, se realizó un examen acumulativo de contenidos, al comparar los grupos control y experimental, no se observaron diferencias significativas, siendo el promedio de notas del grupo control en la asignatura EFC 4,8 y de HEA 5,1 (Fig. 5a). Sin embargo, al comparar la prueba de habilidades se observa que los alumnos que habían cursado HEA obtuvieron resultados significativamente superiores en relación al grupo que solo había cursado la asignatura obligatoria (Fig. 5b).



**Figura 5.** Comparación entre los promedios de notas obtenidas por alumnos que solo cursaron EFC versus aquellos que cursaron además HEA. a) Examen de contenidos. b) Examen de habilidades.

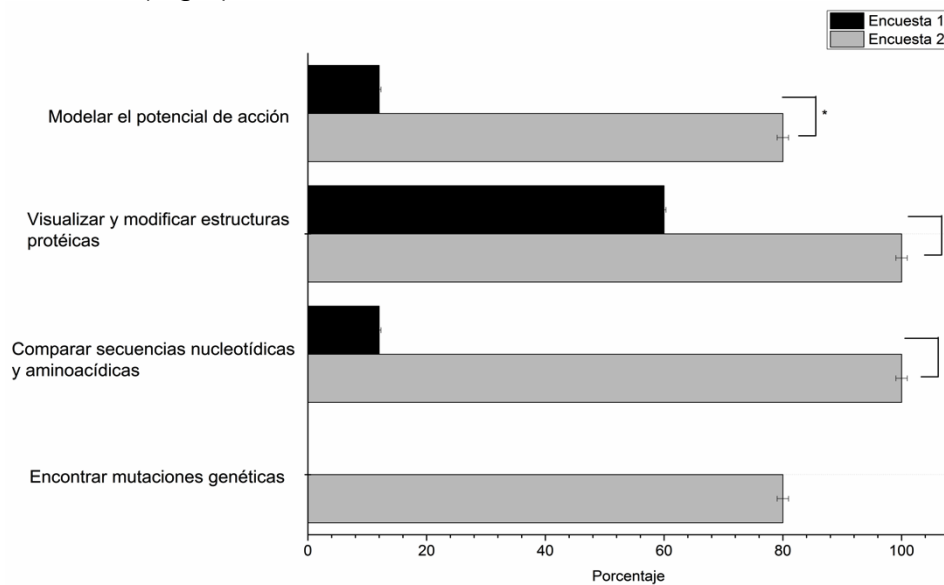
## Encuesta de expectativa académica y profesional

Al comparar las encuestas aplicadas al grupo experimental, se obtiene que en el caso de las habilidades asociadas al desarrollo científico, hay una diferencia significativa en el porcentaje de alumnos que manifiestan adquisición de habilidades posteriormente de aplicada la metodología.



**Figura 6.** Porcentaje de alumnos que manifiestan haber adquirido habilidades científicas.

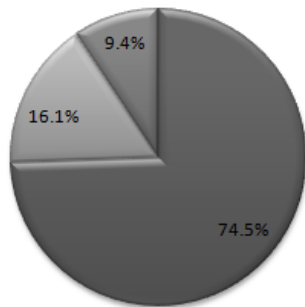
Se aprecia que un alto porcentaje de alumnos, pertenecientes al grupo experimental, manifiesta haber adquirido las habilidades que les permiten analizar y resolver problemas asociados a fenómenos biológicos planteados durante la asignatura HEA. (Fig.7)



**Figura 7.** Porcentaje de alumnos del grupo experimental que manifiestan haber adquirido la capacidad de analizar fenómenos biológicos.

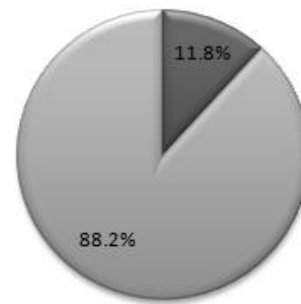
En relación a la proyección laboral y académica, podríamos contar a futuro con médicos en el sistema público con grados académicos superiores, pues los resultados indican que el 90,6% de los alumnos desean ser médicos especialistas, de los cuales el 74,5% quisiera tener estudios de postgrado (magister o doctorado, Fig. 8a) y el 88,2% señala que se proyecta desempeñándose en el sistema de salud público nacional. (Fig. 8b).

a)



- Especialista con postgrado
- Especialista sin postgrado
- Indecisos

b)



- Sistema salud en el extranjero
- Sistema salud público institución nacional

**Figura 8.** Nivel de expectativa académica y profesional. a) Nivel de grado académico.  
b) Área de desarrollo profesional.

## 7. DISCUSIÓN

El aprendizaje basado en la indagación es una pedagogía que permite a los estudiantes experimentar los procesos de creación de conocimiento, aprendiendo estimulados por la investigación, con un enfoque centrado en el estudiante, dispuesto para el aprendizaje autodirigido<sup>22</sup>. Permite el desarrollo del pensamiento y de habilidades de razonamiento de alto nivel, con un enfoque activo para el aprendizaje, que aumenta el interés y la motivación por aprender<sup>28,29</sup>.

Los alumnos que han aprendido a través de procesos de indagación, son propensos a ganar mayor beneficio en términos de profundidad y significancia del aprendizaje, pues las buenas prácticas utilizan metodologías activas de aprendizaje<sup>30</sup> y currículos que apoyan el pensamiento integrador y creativo a través del desarrollo de habilidades<sup>31</sup>.

Bajo esta premisa, los resultados obtenidos permiten sustentar que la didáctica aplicada, basada en la Metodología Indagatoria, desarrolla dominios cognitivos superiores que permiten incrementar el aprendizaje significativo, a través de habilidades de estudio autónomo. Estas habilidades, se asocian a la resolución de problemas y al desarrollo del pensamiento creativo. También aumenta la expectativa académica de los estudiantes en un periodo de un año académico.

Healey y Jenkyns plantean que “todos los estudiantes de pregrado en las instituciones de educación superior deben experimentar el aprendizaje a través y alrededor de la investigación y la indagación”<sup>30</sup>, desde esta perspectiva, la metodología indagatoria incorporada al currículo desde el primer año, puede constituir un punto de partida favorable para el aprendizaje y el desarrollo de las ciencias. Existe un fuerte apoyo teórico educativo para el uso de la investigación y la indagación que manifiesta que deberían ser incorporadas en todo el espectro de disciplinas en todos los niveles de las actividades dentro de la clase, a través de cursos de investigación e incluso programas de grado de investigación<sup>22</sup>, en este sentido, la metodología indagatoria se puede aplicar en los ciclos básicos de las carreras del área salud y potenciarlos de manera conjunta.

En el ámbito particular de la medicina, se podrían incorporar a futuro nuevos y mejores métodos de diagnóstico para la medicina de precisión y personalizada si contamos con profesionales (especialistas e investigadores), capaces de formular y resolver problemas que surjan durante su práctica clínica, agilizando la formulación de nuevos y más eficientes tratamientos con una mirada innovadora.

Los datos entregados por las encuestas evidencian que en una primera instancia los alumnos se sentían capaces en un muy bajo porcentaje de realizar las actividades planteadas, pero posterior a la metodología su percepción aumentó

considerablemente por sobre el 80% en cada habilidad, expresado en la encuesta 2. Se destaca que ningún alumno al inicio de la asignatura electiva y por tanto, de la aplicación de la metodología, se sentía capaz de analizar una población de datos, situación que fue revertida en su totalidad (Fig.6). Al relevar la información entregada por los alumnos, resulta interesante el hecho de que existe un alto porcentaje de alumnos que desde primer año se proyectan académicamente con una especialidad y estudios de postgrado, y a futuro trabajando en hospitales públicos, lo que para el sistema de salud nacional podría significar una mejora sustancial no sólo en el número de médicos, sino más relevante aún, en la calidad profesional de estos en el sistema de salud pública.

Los alumnos de la Facultad de Medicina podrían cumplir con un perfil de egreso más integral y sólido que el actual, que les permita desempeñarse con altos estándares tanto dentro como fuera del país, si implementamos mejoras didácticas que promuevan la evolución de la educación médica, acorde con las recomendaciones establecidas en otras instituciones internacionales para su reforma, dentro de las cuales se destacan la promoción de hábitos de indagación, aprendizaje individual y el apoyo al desarrollo progresivo de la identidad profesional<sup>32</sup>.

El aprendizaje basado en indagación promueve la búsqueda de los mejores enfoques para la enseñanza, sobre la base de los intereses e ideas de los estudiantes, dirigiéndose y guiando sus caminos intelectuales, de curiosidad y comprensión<sup>33</sup>.

Resulta interesante evidenciar que en el curso temporal de un año la metodología aplicada no aumenta las calificaciones de manera significativa, pero sí los dominios cognitivos superiores y habilidades de estudio autónomo, fundamentales para desenvolverse en el ámbito investigativo y laboral, ya que mejoran la creatividad, innovación y resolución de problemas (Fig.5).

Entonces, es esencial considerar dentro del currículo, estrategias con actividades que realicen activamente los estudiantes, y considerar que el rol docente mantiene su relevancia, mas no su protagonismo, por lo cual es prioritario que la preparación para el desarrollo adecuado de la metodología, cuente con el apoyo de un pedagogo con capacidad de orientar al científico en la planificación de las clases y el diseño de los diversos instrumentos coherentes a la estrategia a utilizar<sup>22</sup>. Esto se debe a que los modelos de indagación, se potencian cuando son aplicados por equipos multidisciplinarios en los que se involucran pedagogos e investigadores que cumplan y redirijan el rol docente durante el ciclo básico, integrando la investigación cuantitativa y cualitativa, y sus aplicaciones en el área salud, obteniendo como resultados la comprensión conceptual de principios científicos, de la naturaleza de la investigación científica y aplicaciones del conocimiento científico a problemas sociales y personales, creatividad e inteligencia, que constituirán una



base sólida de conocimientos y habilidades para enfrentar el ciclo profesionalizante, fundado mayoritariamente en el aprendizaje basado en problemas<sup>34</sup>.

El docente más idóneo para la ejecución de la indagación en el aula debe ser entonces, un científico, pues es quien mejor conoce las actividades y procesos mentales asociados a las ciencias, capacitándose adecuadamente en este tipo de metodologías y así pueda facilitar la investigación eficiente de fenómenos científicos, lo cual puede construir un reto al no tener una formación básica pedagógica<sup>21</sup>. Uno de las ventajas para el docente en la indagación se relaciona con la capacidad de integrar en su práctica la docencia y la investigación<sup>22</sup> dando cabida al desarrollo del nuevo perfil docente que pueda fomentar en el alumnado aprendizajes significativos, habilidades de pensamiento superior, el aprender a aprender, mediante la revisión del ejercicio profesional y la habilidad del pensamiento reflexivo<sup>35</sup>.

Será necesario entonces, la asociación con educadores que conozcan y comprendan profundamente las ideas que sustentan los currículos, pudiendo detectar, en conjunto, las señales y necesidades de los estudiantes<sup>31</sup>.

Los resultados de las encuestas sugieren que el aumento de la expectativa de los alumnos, puede orientar a los educadores a inducir estrategias personalizadas en los procesos de innovación curricular. Procesos en los cuales se estructuren los planes de estudios, permitiendo incorporar oportunidades de aprendizajes para que las actividades de mayor impacto estén disponibles para todos los estudiantes cada año, desde el ciclo básico<sup>36</sup>. Es importante considerar las expectativas de los alumnos al inicio de la carrera, para promover los intereses manifestados por los alumnos y satisfacer las expectativas, de modo que a futuro en el sistema de salud pública podamos contar con médicos que además de su especialidad profesional, cuenten con grados académicos superiores que les otorguen mayores y mejores herramientas para su desempeño profesional, transformándose en investigadores-docentes y las puedan transferir a la formación de médicos a través del ejercicio de la docencia universitaria, tanto en el ciclo básico como en postgrados.

Al incrementar la participación directa en proyectos de investigación, el aprendizaje será más motivador, productivo y beneficioso, por lo cual es necesario considerar disminuir las horas destinadas a la enseñanza directa en el aula<sup>23,37</sup>, pues se puede promover en breves períodos de tiempo, las habilidades cognitivas y el trabajo científico desde etapas tempranas del ciclo básico, dejando atrás los currículos extensos y descontextualizados, que sólo favorecen el aprendizaje memorístico<sup>23</sup> y dejan poco espacio a la comprensión y creatividad. Los estudiantes tienen que hablar y reflexionar acerca de sus aprendizajes, relacionarlo con experiencias pasadas y aplicarlo a su vida cotidiana. Deben hacer lo que aprenden parte de sí

mismos<sup>36</sup> y en los procesos de indagación los estudiantes son responsables de procesar información y obtener sus propias conclusiones<sup>29</sup>.

Debido que el modelo indagatorio enfrenta a los alumnos con problemas de las ciencias fundamentales y de la salud, es necesario incorporar tempranamente a los estudiantes en actividades científicas y en proyectos de investigación, desarrollando habilidades de modo gradual, sistemático y transversal, que los preparen de mejor manera para enfrentarse a problemas y situaciones en su vida laboral.

Al desarrollar conjuntamente dominios cognitivos y habilidades de estudio autónomo, se podrían producir alumnos con un rol activo en su formación, de espíritu crítico, capaces de cuestionarse, que cuenten con herramientas y habilidades que podrán aplicar para la resolución de sus planteamientos, por lo que se debe aprovechar y potenciar la motivación y expectativa de pertenecer a equipos de investigación e integrarlos a grupos humanos en los cuales puedan aprender, compartir, colaborar y desenvolverse en un ambiente multidisciplinario y transversal, potenciando habilidades sociales y una visión holística del trabajo científico y de su profesión.

Al complementar el currículo con estrategias de indagación, volviéndolo más flexible y propicio para el aprendizaje significativo, se pretende favorecer a la mejora de la salud, a través del desarrollo académico/profesional de los médicos contribuyendo a reducir a futuro la carencia de médicos-investigadores en nuestro país.

## **8. CONCLUSIÓN**

Los estudiantes expuestos a la metodología indagatoria durante un periodo de un año académico, mejoraron la resolución de problemas y la expectativa académica, a través de la aplicación de diversas actividades que promovieron el desarrollo de habilidades de estudio autónomo.

La incorporación de conocimientos no puede desligarse del desarrollo de habilidades.

Los alumnos son capaces de utilizar las habilidades de aprendizaje autónomo en un proceso continuo que permite seguir aprendiendo como un hábito. Así el aprendizaje se vuelve personalizado, atendiendo a las necesidades y estilos que cada estudiante posee, lo que a su vez enriquece las instancias de los trabajos colaborativos.

## 9. REFERENCIAS

1. Diaz-Barriga, F. in *Estrategias docentes para un aprendizaje significativo* 13–19 (McGraw-Hill, 1999).
2. Vergara, G. & Ibarra, H. Intención y desarrollo de competencias en investigación clínica en programas de postítulo de médico especialista en Chile. 326–333 (2012).
3. Salas, S. P. & Attilio, I. Médicos-Científicos en Chile: ¿Una especie en extinción? *Rev. Med. Chil.* **133**, 121–128 (2005).
4. Education, W. F. for M. Basic Medical Education WFME Global Standards for Quality improvement. (2012).
5. AAMC-HHMI Scientific Foundation for Future Physicians Committee. *Scientific foundations for future physicians.* (2009).
6. Cabrera-Samith, I., Oróstegui-Pinilla, D., Ángulo-Bazán, Y., Mayta-Tristán, P. & Rodríguez-Morales, A. J. Revistas científicas de estudiantes de medicina en Latinoamérica. *Rev. Med. Chil.* **138**, 1451–1455 (2010).
7. González, K. Percepción sobre la metodología indagatoria y sus estrategias de implementación en la enseñanza de las ciencias naturales en el liceo experimental Manuel de Salas. (Universidad de Chile, 2013).
8. Uzcátegui, Y. & Betancourt, C. La metodología indagatoria en la enseñanza de las ciencias: una revisión de su creciente implementación a nivel de Educación Básica y Media. *Rev. Investig. Scielo* **37**, 109–127 (2013).
9. Crispin Bernardo, M. L., Esquivel Peña, M., Loyola Hermosilla, M. & Fregoso Infante, A. *Aprendizaje autónomo. Orientaciones para la docencia. Aprendizaje Autónomo. Orientaciones para la docencia.* (2011).
10. Devés, R. Principios y Estrategias del Programa de Educación en Ciencias basada en la Indagación (ECBI). *Rev. Pensam. Educ.* **41**, 115–131 (2007).
11. Olson, S. & Loucks-Horsley, S. *Inquiry and the National Science Education Standards: A Guide for Teaching and Learning.* (2000).
12. Harlen, W. Aprendizaje y enseñanza de ciencias basados en la indagación. <http://www.ecbichile.cl/wp-content/uploads/2012/05>

13. Sousa, D. A. *How the brain learns*. (Thousand oaks: Sage, 2011).
14. Umpiérrez, M. inés & Piovesan, S. L. PENSAMIENTO CRÍTICO Y LA FORMACIÓN DE PROFESIONALES DE LA SALUD. REFLEXIONES DOCENTES. *Rev. Uruguaya Enfermería*, **5**, 58–64 (2010).
15. McCombs, B. L. What do we know about learners and learning? The learner-centered framework: bringing the educational system into balance. *Educ. Horizons* **79**, 182–193 (2001).
16. Macdougall, M. Diez consejos para promover el aprendizaje autónomo y el compromiso efectivo al enseñar contenidos complejos. **7**, 50–56 (2010).
17. Hernandez, S. Evaluación de habilidades cognitivas. (2001).
18. Ambrose, S. A., Bridges, M. W., Dipietro, M., Lovett, M. & Norman, M. *How learning works. Seven Research-Based Principles for Smart Teaching*. (Jossey-Bass, 2010).
19. González, H. L., Palencia, A. P., Umaña, L. A., Galindo, L. & Villafrade M, L. A. Mediated learning experience and concept maps: a pedagogical tool for achieving meaningful learning in medical physiology students. *Adv. Physiol. Educ.* **32**, 312–6 (2008).
20. Rivera, J. El aprendizaje significativo y la evaluación de los aprendizajes. *Rev. Investig. Educ.* **1**, 10 (2004).
21. Amezola, H., Susana, I. & Carrillo, G. G. Referentes conceptuales para la enseñanza centrada en el aprendizaje. *Rev. Educ. y Desarro.* (2000).
22. Spronken-Smith, R. Experiencing the Process of Knowledge Creation: The Nature and Use of Inquiry-Based Learning in Higher Education. *J. Geogr. High. Educ.* **2**, 183–201 (2008).
23. DiCarlo, S. E. Cell biology should be taught as science is practised. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 290–95 (2006).
24. Profesional, D. *et al.* Estándares globales de la WFME para la mejora de calidad. *Educ. Médica* **7**, (2004).
25. Méndez, Z. *Aprendizaje y cognición*. (EUNED, 2003).
26. Roces Montero, C., González, M. C. & Tourón Figueroa, J. Expectativas de aprendizaje y de rendimiento de los alumnos universitarios. *Rev. Psicol. la Educ.* 99–123 (1997).

27. Tanner, K. D. & L.C.a.D.A. Approaches to Biology Teaching and Learning: Science Teaching and Learning Across the School–University Divide—Cultivating Conversations through Scientist–Teacher Partnerships. *Cell Biol. Educ.* 195–201 (2003).
28. Avsec, S. & Kocijancic, S. Effectiveness of inquiry-based learning : How do middle school students learn to maximise efficacy of water turbine ? **30**, 1436–1449 (1970).
29. UNESCO. Module 23: Enquiry Learning. (2010).
30. Healey, M., Pawson, E. & Solem, M. *Active Learning and Student Engagement: International Perspectives and Practices in Geography in Higher Education.* (2010).
31. Suzuki, D. *Natural Curiosity: Building children’s understanding of the world through environmental inquiry/A resource for teachers.* (2011).
32. Mann, K. V. Theoretical perspectives in medical education: past experience and future possibilities. *Med. Educ.* **45**, 60–8 (2011).
33. Division, S. A. Capacity Building Series. 1–8 (2013).
34. Oguz-unver, A. & Arabacioglu, S. Overviews on inquiry based and problem based learning. *West. anatolia J. Educ. Sci.* 303–310 (2011).
35. Medina, J., Jarauta, B. & Imbernon, F. *La enseña reflexiva en la educacion superior.* (Octaedro, 2010).
36. Healey, M. Linking research and teaching exploring disciplinary spaces and the role of inquiry-based learning. ... *Between Res. Scholarsh. Teach.* 67–78 (2005). at <<http://www.delta.wisc.edu/Events/BBB Balance Healey.pdf>>
37. Luckie, D. B. *et al.* Less teaching, more learning: 10-yr study supports increasing student learning through less coverage and more inquiry. *Adv. Physiol. Educ.* **36**, 325–35 (2012).

## **ANEXOS**

## ANEXO1. PLANIFICACIÓN SEMESTRAL

“Habilidades de Estudio Autónomo”

Tiempo estimado: 10 sesiones (2 hrs pedagógicas c/u)

Sesión	Contenidos	Objetivos	Momentos de la clase	Intervención docente	Actividades de aprendizaje	Recursos de aprendizaje
1	Análisis de Gráfico.  Funciones, línea de tendencias, comparación de pendientes y derivadas.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aprender a graficar tabla de datos</li> <li>• Obtener línea de tendencia</li> <li>• Discutir R</li> <li>• Aprender a graficar a partir de una función.</li> <li>• Comparar una derivada con las pendientes obtenidas a partir de los <math>\Delta</math>s</li> </ul>	<p>Focalización: ¿Qué tipo de información podemos obtener a partir de una gráfica?</p> <p>Exploración: Evaluamos a partir de una gráfica, el efecto de un fármaco en los latidos cardiacos por minuto en adultos.</p> <p>Reflexión: Basándose en la observación y medición de los datos discutimos los resultados, ¿son acorde con los resultados esperados?, ¿Cuál es la importancia de un buen R?, ¿Qué información nos da la línea de tendencia?</p> <p>Aplicación: El estudiante se enfrenta a 2 ejercicios más donde puede aplicar los conceptos aprendidos</p> <p>Evaluación: Basada en 2 ejercicios de tarea</p>	El docente interviene en responder primero, como vamos a informarnos a partir de una gráfica. Luego muestra una manera de tabular datos y obtener valores que proporcionan información Contribuye a discutir la interpretación de los datos	El desarrollo de 3 ejercicios distintos, permite aplicar los conocimientos adquiridos	Programa Excel  Presentación Power point
2	Análisis de Gráfico.  Funciones, línea de tendencias, comparación de pendientes y derivadas.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aprender a graficar en otra hoja de cálculo (origin).</li> <li>• Conocer las diferencias entre las 2 hojas de cálculo utilizadas</li> </ul>	<p>Focalización: ¿Qué ventajas podemos obtener al usar una hoja de cálculo por sobre otra?</p> <p>Exploración: Evaluamos una gráfica obtenida en Excel, discutimos su ajuste. Buscamos posibles soluciones.</p> <p>Reflexión: Analizando los resultados planteamos otro modo de graficar los mismos datos, ¿se ajustan a una nueva línea de tendencia?, ¿Cuáles son los datos obtenidos para R? ¿Qué hoja de cálculo nos sirvió más al momento de interpretar nuestros resultados?</p> <p>Aplicación: Se plantea un nuevo ejercicio, para que el estudiante aplique lo aprendido anteriormente</p> <p>Evaluación: Desarrollan un ejercicio de tarea</p>	El docente Grafica una función en la hoja de cálculo Origin y muestra algunas características de esta, como por ejemplo, permitir más versatilidad en el tratamiento de gráficos.	Grafican 2 ejercicios, donde practican lo aprendido	Programas Excel y Origin Pro 8  Presentación Power point

3	<p>Calculo manual y en Excel de: Medidas de Tendencia Central:Media, Mediana, Moda Medidas de dispersión: Desviación estándar Varianza, Error Estándar Funciones de distribución: T-student , Distribución Normal</p>	<p>Comprender de manera científica como operar datos e interpretarlos a través de la estadística</p>	<p>Focalización: Antes de que los estudiantes expongan sus ideas respecto a la temática de la clase, se hace un control, sin aviso, para evaluar el aprendizaje de la clase anterior.</p> <p>Se realizan una serie de preguntas abiertas a los estudiantes: ¿Qué criterio estadístico empleamos para el tratamiento de datos?¿qué nos dicen las medidas de tendencia central(MTC)?¿Cómo las medidas de dispersión nos muestran la variabilidad de una distribución?</p> <p>Exploración: Se dan datos de edades de personas y se determina MTC. Se discuten resultados Vemos un ejemplo gráfico de exactitud y precisión Se propone un ejercicio para calcular medidas de dispersión. Se discuten resultados, enfocados en el uso de una medida por sobre otra Vemos un ejemplo para calcular manualmente una función de distribución T-student, y Normal Reflexión: Establecemos un criterio para hacer el mejor análisis estadístico, dependiendo del tipo de datos Aplicación: se propone un ejercicio donde calculan MTC, y otro para medidas de dispersión.</p> <p>Evaluación : Se proponen 3 ejercicios donde se evalúa medidas de dispersión</p>	<p>El docente define conceptos estadísticos, plantea ejemplos. Da a conocer los ejercicios a realizar</p>	<p>Aplican lo aprendido en el desarrollo de diferentes ejercicios</p>	<p>Programa Excel  Presentación Power point</p>
4	<p>T Student Distribución Normal Anova</p>	<p>Comprender de manera científica como operar datos e interpretarlos a través de la estadística</p>	<p>Focalización: Se plantean una serie de preguntas como: ¿qué análisis estadístico podemos usar frente a variables independientes?, ¿O cuando la cantidad de datos es pequeña?, ¿ qué método estadístico podemos usar para grandes cantidades de datos?</p> <p>Exploración: Vemos un ejemplo para calcular manualmente una función de distribución Normal, a través de un ejemplo con el sueldo promedio mensual de un grupo de médicos. T-student: Se dan datos de crecimiento en cm de 2 tipos de plantas: maíz y trigo y se calcula diferencias significativas.</p> <p>Reflexión: Establecemos un criterio para elegir un método estadístico dependiendo de la población de datos a</p>	<p>El docente muestra la forma manual de hacer cálculos para obtener medidas de tendencia central. Posteriormente muestra el uso del programa stat, para obtener los mismos resultados que anteriormente se obtuvieron de forma manual</p>	<p>Se enfrentan a un problema que resuelven a través del programa mostrado en la clase</p>	<p>Programa Stat Graphics  Power Point</p>



			<p>analizar</p> <p>Aplicación: Se plantea un problema, donde se otorga una tabla de datos y los alumnos usan Stat graphics para obtener medidas de distribución, y otros análisis cuantitativos con diferentes métodos estadísticos.</p> <p>Evaluación: Se plantea un ejercicio con datos tabulados, lo resuelven usando el programa</p>			
5	Búsqueda Bibliográfica	Conocer y manejar herramientas de base de datos y de búsqueda bibliográfica (Pubmed y Mendeley)	<p>Focalización: Se pone de manifiesto algunas preguntas como: ¿Dónde busco información relevante asociada a medicina?, ¿Conocen métodos de búsqueda de información bibliográfica?, ¿podemos gestionar y compartir documentos de investigación?</p> <p>Exploración: Se muestra Pubmed como base de datos indicando características de como funciona, consejos para la búsqueda, y anatomía de resultados del resumen. Se muestra como ingresar, y se dan herramientas básicas para el uso de Mendeley</p> <p>Reflexión: Se plantea una patología, fibrosis quística. Se muestra como buscar información respecto a la enfermedad. Se escogen diversas publicaciones asociadas, y se ordena su bibliografía usando Mendeley</p> <p>Aplicación: Cada estudiante elige una patología de interés, debe averiguar antecedentes como: su causa, síntomas y signos, promedio de vida (si es el caso)población más afectada, posible terapias, etc.</p> <p>Evaluación: Tarea: escoger una enfermedad, seleccionan al menos 3 publicaciones relevantes para describir la patología, y mostrar al menos un avance científico actual. Deben usar mendeley para presentar y ordenar la bibliografía</p>	El docente interviene mostrando características de Pubmed. Y usando como ejemplo, Fibrosis Quística, muestra el uso de Mendeley	Deben aplicar lo aprendido, cuando elijan su patología y desarrollen la tarea pedida.	Pubmed Mendeley Power Point
6	Genómica y Proteómica.	Aprender el uso de una red, de libre acceso, de genes y proteínas, iHOP. Comprender como se transcribe y se	<p>Focalización: Se hace a través de una ronda de preguntas: ¿Qué es un gen, y cuál es su función?, ¿conocen enfermedades asociadas a una mutación genética?, ¿saben de alguna herramienta para determinar el RNAm, o RNA t de un gen?</p> <p>Exploración: Se muestra iHOP como un acceso a redes de genes proteínas y sus funciones,</p>	El docente interviene mostrando, en base a un ejemplo de un gen, los distintos tipos de información que se pueden obtener desde	Aplican lo aprendido escogiendo una enfermedad causada por la mutación de un gen, y	iHOP Power Point Blast

		traduce un gen	<p>fenotipos y patologías. Reflexión: Se plantea una patología, fibrosis quística, sabiendo el nombre del gen determinante de esta enfermedad(CFTR), buscamos en iHOP: información general del gen, frases encontradas en la literatura asociada al gen, y el gen asociado a términos biomédicos relevantes</p> <p>Aplicación: Para el gen (CFTR)cuya mutación causa fibrosis quística, buscaremos en iHOP su secuencia nucleotídica, aminoacídica, y su RNA mensajero, y haremos un archivo FASTA con la mutación que genera la patología.</p> <p>Evaluación: Cada estudiante debe encontrar una enfermedad cuya causa se explique por una mutación, y bajar la secuencia del gen, mRNA y proteína en formato FASTA, Luego deben alinear las secuencias genómica y del mensajero para ubicar los regiones de intrones y exones. Por último deben generar un archivo FASTA que contenga la mutación que genera la patología.</p>	iHOP	contestando las preguntas de la tarea planteada en la evaluación	
7	<p>Modelamiento del impulso nervioso Parte I</p> <p>Conceptos de conductancia, corriente, potencial de membrana.</p>	<p>Describir y analizar las propiedades del potencial de acción (PA)</p> <p>Reconocer fases del PA en un grafico.</p> <p>Reconocer y analizar los factores que alteran el PA.</p>	<p>Focalización:Exponemos el tema en base a preguntas como: ¿Qué es y cómo se genera un PA?, ¿ En qué tipos celulares, y en qué lugar ocurre este tipo de transmisión?, ¿Cuáles son las fases que componen un PA?</p> <p>Exploración: Se muestra de manera gráfica un PA, y las fases que lo componen. Se definen algunos conceptos: conductancia y corriente, potencial de membrana</p> <p>Reflexión: Se plantea el uso de un programa on-line (Nerve) para el estudio del PA. Se dan a conocer algunos ajustes para el correcto desarrollo del trabajo práctico</p> <p>Aplicación: -Los estudiantes describen el PA, en las condiciones iniciales entregadas por el programa, tanto para la despolarización, repolarización y la hiperpolarización. -Definen y ubican en el gráfico potencial de reposo y potencial umbral. -Determinan el efecto en el PA al variar la concentración iónica extracelular</p>	<p>El docente interviene al acotar una definición para PA, conductancia, corriente, y potencial de membrana. Muestra el programa nerve y los ajustes necesarios para su óptimo uso Entrega las indicaciones para el modelamiento del PA en nerve</p>	<p>Esta sesión se realiza en base a una actividad práctica, donde los estudiantes modelan un potencial de acción, ajustando parámetros y evaluando su comportamiento</p>	Nerve Power Point

			<p>Evaluación: los estudiantes deben responder algunas preguntas, tales como: ¿Cuál es el cambio de potencial que tiene asociada a la fase de despolarización y repolarización? ¿Cuál es la conductancia que esta asociada a la fase de despolarización y repolarización? ¿Qué entidades moleculares son responsables de estas fases?</p> <p>Y para cuando varían las concentraciones iónicas: ¿Qué ocurre con el potencial de acción?, ¿Cómo puede explicar estos resultados?, ¿Qué conclusiones puede obtener de este experimento?</p>			
8	<p>Modelamiento del impulso nervioso Parte II</p> <p>Período refractario (concepto y factores que lo afectan)</p>	<p>Describir y analizar el PA con toxinas, y con diferentes temperaturas, estimar variaciones en el período refractario</p>	<p>Focalización: se hace en torno a diferentes preguntas, tales como: ¿saben de alguna droga que actúe bloqueando el PA? ¿conocen el mecanismo en cuestión? ¿de qué manera creen que la temperatura puede afectar el PA? ¿Qué sucede en el período refractario?</p> <p>Exploración: Se muestra de manera gráfica el efecto de TTX en el PA (despolarización), y variaciones extremas de temperatura en el PA De acuerdo a un ejemplo definimos período refractario</p> <p>Reflexión: Seguimos utilizando el programa nerve para el modelamiento del PA, en distintas condiciones</p> <p>Aplicación: Los estudiantes analizan el PA usando diferentes concentraciones de TTX, distintos grados de temperatura, y el efecto de 2 pulsos pareados con distintos tiempos</p> <p>Evaluación: Respecto a la TTX deben responder las siguientes preguntas, ¿Qué ocurre con el potencial de acción?, ¿Cómo puede explicar estos resultados?, ¿Qué conclusiones puede obtener de este experimento? Respecto a la T° ¿Qué ocurre con el potencial de acción?, ¿Qué conclusiones puede obtener de este experimento? ¿Qué ocurre con las conductancias de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>?, ¿Qué consecuencias tendrá la variación de la temperatura en las propiedades del potencial de acción</p>	<p>El docente muestra en base a un ejemplo drogas que alteran el PA, poniendo énfasis en TTX, y se muestra un ejemplo de seres vivos cuya sinapsis se ve afectada dependiendo de la temperatura. Ayuda a construir una definición, en base a los mecanismos que ocurren en el período refractario</p>	<p>Realizan una actividad práctica, en donde los estudiantes modelan un potencial de acción, ajustando parámetros y evaluando su comportamiento</p>	<p>Nerve Power Point</p>

			normal? Respecto al período refractario ¿Qué ocurrió con el primer y segundo potencial de acción generados ¿Cómo se llama esta condición?, ¿Cómo se puede explicar en términos moleculares?			
9	Modelamiento de Proteínas	Analizar y visualizar moléculas en 3 dimensiones	<p>Focalización: Exponemos el tema en base a preguntas: ¿cómo imaginan poder modelar una proteína? ¿Cuáles son los sitios de interés cuando exploramos una proteína?, ¿podríamos marcar átomos de interés específicos para una proteína?</p> <p>Exploración: El docente muestra características del programa VMD para modelar proteínas como por ejemplo: rotación, traslación y escala Reflexión: Utilizamos la proteína ubiquitina como ejemplo para marcar tipos de aminoácidos y estructuras secundarias alfa hélice y hoja beta. Aplicación: A partir del tutorial de VMD los estudiantes realizan su propio ensayo Evaluación: Se hace en base a una tarea. A partir de la proteína Mioglobina, deben obtener las siguientes imágenes -Estructura cuaternaria de la proteína, diferenciando las subunidades alfa con un color - Grupo HEM con el O<sub>2</sub> y el Fe</p>	El docente familiariza el programa con los estudiantes mostrando aplicaciones generales de este. Y luego los orienta en el desarrollo del tutorial	Se hace en base a una tarea, donde los estudiantes deben modelar y obtener algunas imágenes usando la proteína mioglobina, como ejemplo	VMD Power point
10	Ensayo Evaluación final					
11	Revisión ensayo evaluación final. Entrega de notas.					
12	Evaluación final acumulativa.					

## ANEXO 2. GUÍA: ONDA BIOELÉCTRICA: POTENCIAL DE ACCIÓN

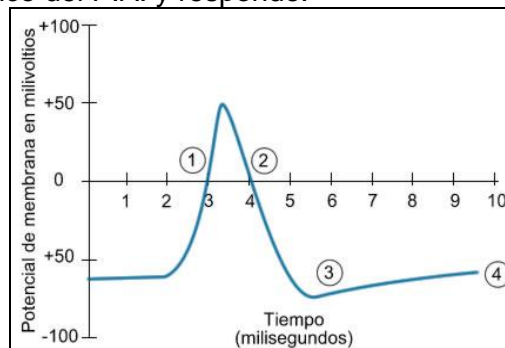
### Objetivos:

1. Describir y caracterizar el potencial de acción.
2. Observar y analizar diversos factores que inciden sobre el potencial de acción del axón.
3. Modelar el impulso nervioso.
4. Aplicar las alteraciones del potencial de acción en un contexto clínico.

### FOCALIZACIÓN

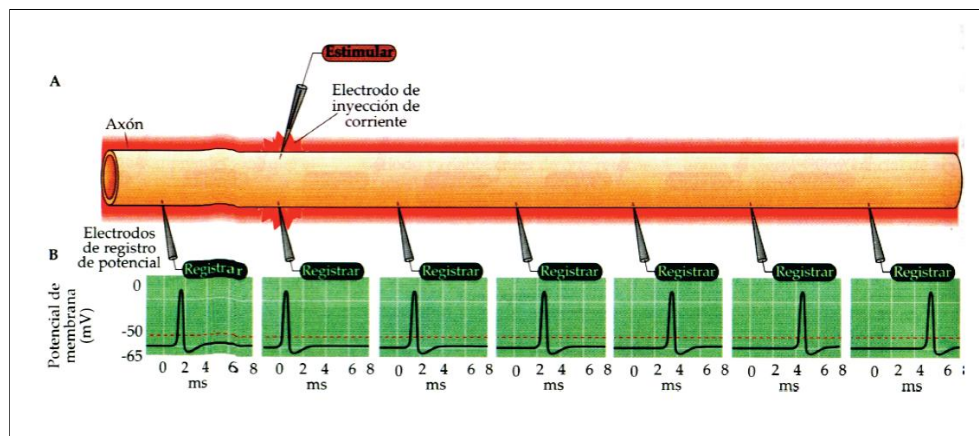
El potencial de acción (P.A.) es una onda de descarga que se transmite desde el cuello axonal hasta los terminales sinápticos a través del axón de una neurona.

Observa el siguiente gráfico del P.A. y responde:



- ¿A qué etapa del P.A. corresponde cada número?
- ¿Qué entidades moleculares son responsables de las fases 1, 2 y 3?

Observa la figura que aparece a continuación, y responde:



- ¿Qué características debe tener una onda despolarizante para ser considerado un P.A.?
- ¿Cómo se explica que un potencial de acción se propague de manera anterógrada y no retrógrada?

## EXPLORACIÓN

El programa NERVE, desarrollado en la Universidad de Chicago por F. Bezanilla, permite simular el comportamiento de un axón de calamar, análogo al potencial de acción en mamíferos.

Para un correcto desarrollo del trabajo práctico accede a la siguiente dirección:

<http://nerve.bsd.uchicago.edu/nerve1.html>

Una vez allí, ejecuta los siguientes pasos:

- Seleccionar “Membrana AP” para abrir la ventana “Membrane Action Potential”
- Presionar “RESET parameters” el cual revierte cualquier parámetro que se haya modificado para así asegurarnos de que el programa se encuentre en las condiciones predefinidas (default).
- En el comando “Axon” ubicado en la parte superior de la ventana “Membrane Action Potential” colocar Temperature (C): 18°
- En el comando “Var Plot” ubicado en la parte superior de la ventana “Membrane Action Potential” activar  $\alpha K$  v  $\alpha Na$  solamente

### ♦ Ejercicio 1: Efecto de la variación en la concentración iónica extracelular.

**a) Efecto de la variación en la concentración de  $Na^+$  extracelular:**

A partir de las condiciones iniciales, para estudiar el efecto de la variación de la concentración de  $Na^+$  se deben realizar las siguientes modificaciones:

En el comando Conc-F8: [Na] o (mM)= desde el valor default, disminuir progresivamente a:

400, 300, 250, 240, 230

Responde:

- Mencione las variaciones en la amplitud de la onda de despolarización.
- ¿Qué cambios se observan en el potencial de reposo?
- ¿Qué ocurre con la rapidez de despolarización y repolarización?

Continúa disminuyendo progresivamente a:

220, 210, 200, 100.

Responde:

- Explique las variaciones en la amplitud de la onda de despolarización.
- ¿Qué cambios se observan en el potencial de reposo?

**b) Efecto de la variación en la concentración de  $K^+$  extracelular:**

A partir de las condiciones iniciales, para estudiar el efecto de la variación de la concentración de  $K^+$  se deben realizar las siguientes modificaciones:

En el comando Conc-F8: [K] o (mM) = desde el valor default, aumentar progresivamente en: 20, 30, 40, 50.

Responde:

- ¿Qué parámetros cambian en el potencial de acción?
- ¿Cuál es el efecto sobre el potencial de reposo?
- Describe los cambios en la rapidez de despolarización y repolarización.

Concluye respecto al efecto de la variación de ambos iones ( $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ ) sobre el potencial de acción.

◆ **Ejercicio 2: Efecto de toxinas.**

La tetrodoxina (TTX) es una toxina que tiene la capacidad de bloquear los canales de  $\text{Na}^+$  sensibles a potencial con un efecto del orden de los nanomolar (nM).

A partir de las condiciones iniciales, para estudiar el efecto de la adición extracelular de TTX se debe realizar las siguientes modificaciones:

En el comando Conc-F8:[TTX]o=desde el valor default aumentar progresivamente en: 1, 2, 3, 4, 5.

Responde:

- ¿Qué cambios experimenta el potencial de acción? ¿Cómo puede explicar estos resultados?
- Describe las modificaciones en la conductancia al  $\text{Na}^+$ .
- ¿Qué ocurre con el potencial de reposo? ¿Cómo se puede explicar esta situación?
- ¿Qué conclusiones puede obtener de este experimento?

◆ **Ejercicio 3: Efecto de la variación de la temperatura.**

A partir de las condiciones iniciales para estudiar el efecto de la variación de la temperatura se debe realizar las siguientes modificaciones:

En el comando Axon-F6: Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )= desde el valor asignado en las condiciones iniciales ( $18^{\circ}\text{C}$ ) disminuir progresivamente a: 12, 8, 4, 0, - 4.

Responde:

- ¿Qué ocurre con el potencial de acción?, ¿Cómo puede explicar estos resultados?
- ¿Qué diferencias se observan en la conductancia para cada ión? ¿Cómo se puede explicar este resultado?
- ¿Qué consecuencias tendrá la variación de la temperatura en las propiedades del potencial de acción?

◆ **Ejercicio 4: Periodo Refractario.**

A partir de las condiciones iniciales, para estudiar el periodo refractario en axones, se debe realizar la siguiente modificación a las condiciones fijadas del programa: En el comando pulses-F7:

	DELAY	PULSE 1	PULSE 2	PULSE 3
Amplitude ( $\mu\text{A}$ )		10.0	0.0	10.0
Duración (ms)	0.25	0.25	2	0.25

En estas condiciones se están generando dos pulsos umbrales de igual amplitud y separados por 2 ms.

a) Efecto de dos pulsos separados por 2 ms.

¿Qué ocurre entre el primer y segundo potencial de acción generados? ¿Cómo se llama esta condición? ¿Cómo se puede explicar en términos moleculares?

**b)** Efecto de dos pulsos separados por 3.6 ms.

Aumente la duración de PULSE 2 en 3.6 ms

¿Qué ocurre entre el primer y segundo potencial de acción generados por los pulsos separados por 3.6 ms? ¿Cómo se puede explicar en términos moleculares?

**c)** Efecto de dos pulsos separados por 5.0 ms.

Aumente la duración de PULSE 2 en 5.0 ms.

¿Qué ocurre entre el primer y segundo potencial de acción generados por los pulsos separados por 5.0 ms? ¿Cómo se puede explicar este fenómeno en términos moleculares?

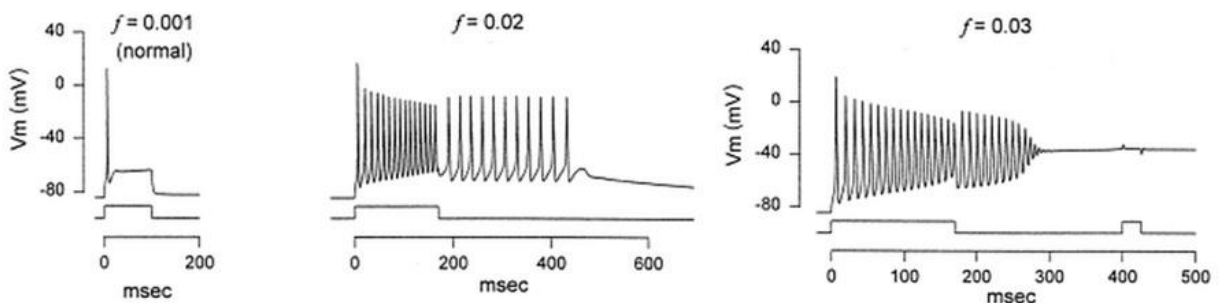
## REFLEXIÓN

- Explica las diferencias entre: potencial de acción, potencial de reposo y potencial umbral.
- ¿Qué factores pueden alterar el potencial de acción?
- ¿Qué significa que el potencial de acción responda a la ley del Todo o Nada?
- ¿De qué depende la capacidad de generar varios potenciales de acción seguidos?

## APLICACIÓN

- La Ouabaína es una molécula capaz de inhibir la acción de la bomba  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ , disminuyendo la concentración citosólica de  $\text{K}^+$ , e incrementando el  $\text{Na}^+$  citosólico, y el tetraetilamonio (TEA) es una sustancia capaz de bloquear canales de  $\text{K}^+$ .
  - Averigua por qué la ouabaína puede ser utilizada en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca congestiva.

- Observa la siguiente figura y responde:



- ¿Qué canales iónicos están siendo afectados?
- ¿Qué puedes predecir respecto de la actividad muscular del paciente?
- ¿Qué posible solución propondrías para revertir la situación?
- Averigua acerca de alguna enfermedad asociada a los canales iónicos dependientes de potencial.



## ANEXO 3. EVALUACIÓN FINAL

### Juego De Habilidad

Nombre:

**Antes de comenzar este juego....**

**Copie el link en el navegador, conteste y envíe  
(máx. 10 min)**

[https://docs.google.com/a/uv.cl/forms/d/16HriMtAncWTC0K87cHggxN\\_YkTMrStjRAj1pWFUre9M/viewform](https://docs.google.com/a/uv.cl/forms/d/16HriMtAncWTC0K87cHggxN_YkTMrStjRAj1pWFUre9M/viewform)

#### **Instrucciones:**

- 1.- Tiempo: 1:40 hrs
- 2.- Conteste en este archivo y guardelo **con su nombre al inicio**.
- 3.- Adjunte los archivos generados para contestar las preguntas **con su nombre (Tablas. gráficos. etc)**

#### **Ejercicio 1**

El virus EFC modifica la estructura y función del hipocampo primate, dependiendo del número de copias del gen, hasta 10 años después de la inoculación. Incluso el DNA del virus se puede medir en la orina. La técnica qPCR permite medir el cambio en el número de copias de un gen en tiempo real, a través de la emisión de fluorescencia (medida en unidades arbitrarias). Para evaluar la expresión del gen EFC, utilizó un antiguo termociclador con detector fluorescente con 5 concentraciones de DNA estandar más el control negativo ( $0\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ), durante 40 ciclos de amplificación.

**P1:** A partir del enunciado plantee una pregunta.

Instrucciones:

- a) A partir de los [datos](#), grafique la fluorescencia en función del ciclo para cada concentración de DNA.
- b) Obtenga el Ct (Cycle threshold) para cada concentración de DNA a partir del ajuste a una curva sigmoide del tipo logística, según:

$$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + \left(\frac{X}{X_0}\right)^p} \quad \text{donde, } X_0 = \text{Ct}$$

- c) Genere una tabla de logaritmo de la concentración de DNA ( $\log[\text{DNA}]$ ) vs Ct. Grafique y ajuste a la ecuación lineal.

d) Obtenga la eficiencia de amplificación de la reacción a partir de:

$$E = \left( 1 - 10^{-\frac{1}{\text{slope}}} \right) \times 100 \quad \text{donde slope es la pendiente de la ecuación de}$$

log 

slope=	E=
--------	----

 [DNA]

**P2:** ¿Qué resultado ofrece la prueba diagnóstica?

## Ejercicio 2

Las siguientes secuencias en formato FASTA corresponden a la proteína OmpC (outer membrane porin protein C), una porina presente en la membrana externa de Enterobacterias, como *Salmonella* y *Escherichia coli*, patógenos causantes de cuadros diarreicos. Diversos estudios indican que esta proteína presenta diferencias de secuencia en zonas expuestas en la superficie, siendo éstas el principal foco en las afecciones que causan la enfermedad.

```
>gi|260844818|ref|YP_003222596.1 OmpC Escherichia coli O103:H2 (Cepa bacteriana patógena)
MKVKVLSLLVLPALLVAGAANAAEVYNKDGKLDLYGKVDGLHYFSDNKDVGDDQTYMRLGFKGETQVTDQ
LTGYGQWEYQIQGNSAENENNSWTRVAFAGLKFQDVGSFDYGRNYGVVYDVTSWTDVLPFEGGDTYGSDN
FMQQRGNGFATYRNTDFGFLVDGLNFAVQYQGKNGSVSSEGEMTNNGRGALRQNGDGVGGSITYDYEGFGI
GGAISSSKRTDDQNSPLYIGNGDRAETYTGGLKYDANNIYLAAQYTQTYNATRVGSLGWANKAQNFEAVA
QYQDFDFGLRPSVAYLQSKGKNLGTIAGRNYDDEDILKYVDVGATYYFNKNMSTYVDYKINLLDDNQFTRD
AGINTDNIVALGLVYQF
```

```
>gi|157161697|ref|YP_001459015.1 OmpC Escherichia coli HS (Cepa bacteriana comensal)
MKVKVLSLLVLPALLVAGAANAAEVYNKDGKLDLYGKVDGLHYFSDNKSEDGDQTYVRLGFKGETQVTDQ
LTGYGQWEYQIQGNTSEDNKENSWTRVAFAGLKFQDVGSFDYGRNYGVVYDVTSWTDVLPFEGGDTYGSD
NFMQQRGNGFATYRNTDFGFLVDGLNFAVQYQGKNGSVSSEGEMTNNGRGALRQNGDGVGGSITYDYEGFG
IGA AVSSSKRTDAQNTAAAYIGNGDRAETYTGGLKYDANNIYLAAQYTQTYNATRVGSLGWANKAQNFEAV
AQYQDFDFGLRPSVAYLQSKGKNLGVVAGRNYDDEDILKYVDVGATYYFNKNMSTYVDYKINLLDDNQFTR
DAGINTDNIVALGLVYQF
```

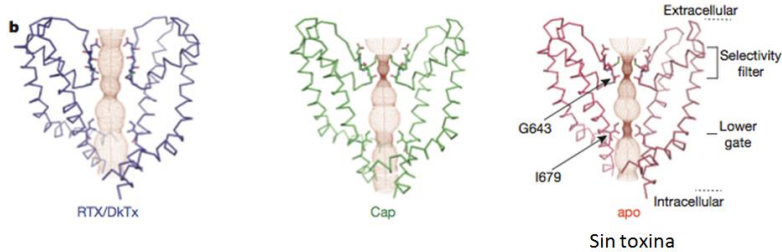
a) En relación a las secuencias de OmpC, indique (destaque, subraye, etc,) los aminoácidos donde existen diferencias entre la secuencia de la cepa patógena y la cepa comensal.

b) Argumente cómo este cambio podría explicar las diferencias entre las relaciones simbiotas con el humano (comensalismo y parasitismo).

### Ejercicio 3

## TRPV1 structures in distinct conformations reveal activation mechanisms

Erhu Cao<sup>1\*</sup>, Maofu Liao<sup>2\*</sup>, Yifan Cheng<sup>2</sup> & David Julius<sup>1</sup>  
05 DECEMBER 2013 | VOL 504 | NATURE |



La figura en estado estacionario muestra un estado cerrado (apo) y dos estados abiertos distintos del canal TRPV1.

$$I = n\gamma P_o V$$

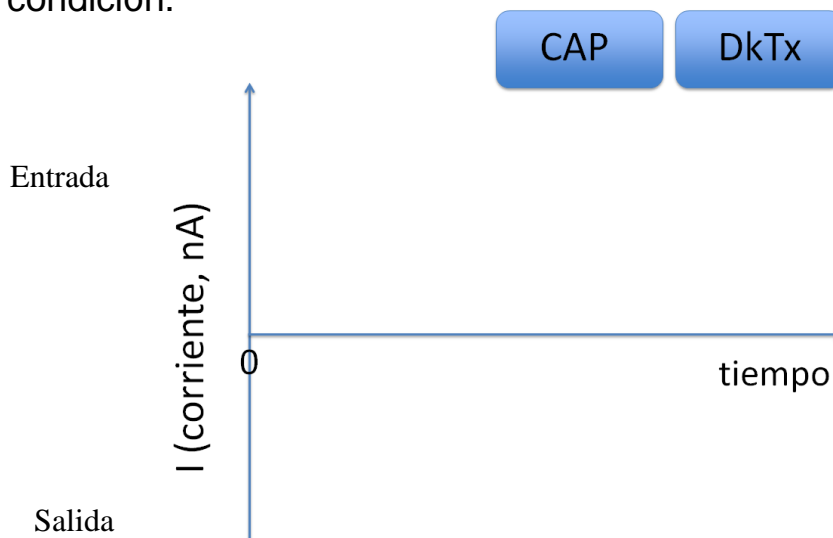
I= Intensidad de corriente, nA  
n= número de canales  
gamma= conductancia unitaria, ps  
P<sub>o</sub>= probabilidad de apertura  
V= potencial, V.

TRPV1: Canal catiónico no selectivo (Na<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup>)

Respecto a la figura responde las preguntas a y b.

a) ¿Cuál de las variables que definen la intensidad de corriente puede ser afectada por el uso de las toxinas? Fundamente.

b) Dibuje con una flecha la dirección del flujo de iones y el efecto de las toxinas sobre el curso temporal de la intensidad de corriente en cada condición.



c) Resume en 100 palabras como se relaciona la actividad TRPV1 con el dolor, citando 5 fuentes bibliográficas que incluyan el origen molecular de capsaicina y de DkTx.

## ANEXO 4. RÚBRICA EVALUACIÓN FINAL

Ejercicio 1				
<p>El virus EFC modifica la estructura y función del hipocampo primate, dependiendo del número de copias del gen, hasta 10 años después de la inoculación. Incluso el DNA del virus se puede medir en la orina. La técnica qPCR permite medir el cambio en el número de copias de un gen en tiempo real, a través de la emisión de fluorescencia (medida en unidades arbitrarias). Para evaluar la expresión del gen EFC, utilizó un antiguo termociclador con detector fluorescente con 5 concentraciones de DNA estandar más el control negativo (0<math>\mu</math>g/<math>\mu</math>l), durante 40 ciclos de amplificación.</p>				
<b>P1:</b>	A partir del enunciado plantee una pregunta.			
	<b>Dominio</b>	Comprender		
	<b>Habilidades de estudio autónomo</b>	Analizar poblaciones de datos y argumentar respecto a la información del conjunto		
	<b>Rúbrica</b>			
	1	2	3	4
	No plantea una pregunta, o bien, no se relaciona con el enunciado.	Pregunta respecto a la identidad del virus	Pregunta respecto a la concentración del DNA	Plantea una correcta relación entre concentración del DNA y la carga viral.
<b>Preg. 1a)</b>	A partir de los datos, grafique fluorescencia en función del ciclo para cada concentración de DNA.			
	<b>Dominio</b>	Aplicar		
	<b>Habilidades de estudio autónomo</b>	Graficar y valorar criterios de ajuste a modelos matemáticos		
	<b>Rúbrica</b>			
	1	2	3	4
	No grafica	Solo grafica en excel	Grafica en origen (Sin ejes concentraciones,	Obtiene el gráfico correctamente

			etc)	editado en origen
<b>Preg. 1b)</b>	Obtenga el Ct (Cycle threshold) para cada concentración de DNA a partir del ajuste a una curva sigmoide del tipo logística, según:			
	$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + \left(\frac{X}{X_0}\right)^p}$		donde, $X_0 = Ct$	
	<b>Dominio</b>	Evaluar		
	<b>Habilidades de estudio autónomo</b>	Graficar y valorar criterios de ajuste a modelos matemáticos		
	<b>Rúbrica</b>			
	1	2	3	4
	No obtiene valores Ct.	Ajusta ecuaciones en excel	Ajusta en origen (cualquier sigmoide)	Obtiene los valores Ct para cada concentración. Sigmoide logística
<b>Preg. 1c)</b>	Genere una tabla de logaritmo de la concentración de DNA (log [DNA]) versus el Ct. Grafique y ajuste a la ecuación lineal.			
	<b>Dominio</b>	Analizar		
	<b>Habilidades de estudio autónomo</b>	Graficar y valorar criterios de ajuste a modelos matemáticos		
	<b>Rúbrica</b>			
	1	2	3	4
	No genera tabla, ni gráfico.	Obtiene la tabla y gráfico, pero no ajusta a la ecuación.	Obtiene tabla y gráfico, pero no se ajusta correctamente a la ecuación.	Realiza la tabla, grafica y ajusta adecuadamente a la ecuación.
<b>Preg.1d)</b>	Obtenga la eficiencia de amplificación de la reacción a partir de:			
	$E = \left(1 - 10^{-\frac{1}{slope}}\right) \times 100$			
	donde slope es la pendiente de la ecuación de log [DNA]			

slope=		E=	
<b>Dominio</b>		Aplicar	
<b>Habilidades de estudio autónomo</b>		Graficar y valorar criterios de ajuste a modelos matemáticos	
<b>Rúbrica</b>			
1	2	3	4
No obtiene la eficiencia.	Grafica Ct vs log DNA.	Grafica Ct vs Log DNA y Obtiene la pendiente	Grafica, obtiene la pendiente e Informa la eficiencia de la amplificación

<b>P2:</b>	¿Qué resultado ofrece la prueba diagnóstica?			
	<b>Dominio</b>		Evaluar	
	<b>Habilidades de estudio autónomo</b>		Analizar poblaciones de datos y argumentar respecto a la información del conjunto. Validar los conceptos teóricos y extraer conclusiones utilizando modelos de comportamiento de fenómenos complejos	
	<b>Rúbrica</b>			
	1	2	3	4
No responde.	Argumenta respecto al algún mecanismo	Argumenta respecto al diagnóstico de una enfermedad	Relaciona el tiempo de infección con la carga viral	

## Ejercicio 2

Las siguientes secuencias en formato FASTA corresponden a la proteína OmpC (outer membrane porin protein C), una porina presente en la membrana externa de Enterobacterias, como Salmonella y Escherichia coli, patógenos causantes de cuadros diarreicos. Diversos estudios indican que esta proteína presenta diferencias de secuencia en zonas expuestas en la superficie, siendo estas el principal foco en funciones inmunológicas.

>gi|260844818|ref|YP\_003222596.1 OmpC Escherichia coli O103:H2 (Cepa bacteriana patógena)

```
MKVKVLSELLVPALLVAGAANAEEVYNKDGKLDLYGKVDGLHYFSDNKDVGDDQTYMRLGFKGETQVTDQ
LTGYGQWEYQIQGNSAENENNSWTRVAFAGLKFQDVGSFDYGRNYGVVYDVTSWTDVLPFEGGDTYGSND
FMQQRGNGFATYRNTDFGLVDGLNFAVQYQKNGSVSSEGEMTNNGRGLRQNGDGVGGSITYDYEGFGI
GGAISSKRTDDQNSPLYIGNGDRAETGTGGLKYDANNIYLAAQYTQTYNATRVGSLGWANKAQNFEAVA
QYQDFGLRPSVAYLQSKGNLGTIAGRNYDDEDILKYVDVGATYYFNKNMSTYVDYKINLLDDNQFTRD
AGINTDNIVALGLVYQF
```

>gi|157161697|ref|YP\_001459015.1 OmpC Escherichia coli HS (Cepa bacteriana comensal)

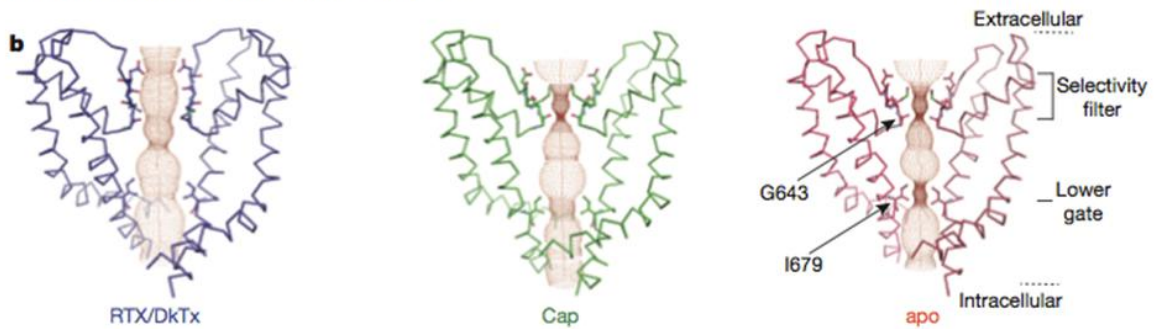
MKVKVLSLLVPALLVAGAANA AEVYNKDG NKLDLYGKVDGLHYFSDNKSE DGDQTYVRLGFKGETQVTDQ  
 LTGYGQWEYQIQGNTSE DNKENS WTRVAFAGLKFQDVGSFDYGRNYGVVYDVTSWTDVLP EFGGDTYGS D  
 NFMQQRGN GFATYRNTDFFGLVDGLNF AVQYQGKNGSVS GEGMTNNGRGALRQNGDGVGGSITYDYEGFG  
 IGA AVSSKRTDAQNTAAAYI GNGDRAETYTGG LKYDANNIYLAAQYTQTYNATRVGSLGWANKAQNF EAV  
 AQYQFDFGLRPSVAYLQSKGKNLGVVAGRNYDDEDILKYVDVGATYYFNKNMSTYVDYKINLLDDNQFTR  
 DAGINTDNIVALGLVYQF

<b>Preg. 2a)</b>	En relación a las secuencias de OmpC, indique (destaque, subraye, etc.) los aminoácidos donde existen diferencias entre la secuencia de la cepa patógena y la cepa comensal.			
	<b>Dominio</b>		Aplicar	
	<b>Habilidades de estudio autónomo</b>		Analizar poblaciones de datos y argumentar respecto a la información del conjunto	
	<b>Rúbrica</b>			
	1	2	3	4
No señala las diferencias	Señala parcialmente las diferencias	Señala diferencias pero no indica como las obtuvo.	Señala las diferencias y demuestra la utilización de Blastp	
<b>Preg. 2b)</b>	Argumente cómo este cambio podría explicar las diferencias entre las relaciones simbióticas con el humano (comensalismo y parasitismo).			
	<b>Dominio</b>		Crear	
	<b>Habilidades de estudio autónomo</b>		Validar los conceptos teóricos y extraer conclusiones utilizando modelos de comportamiento de fenómenos complejos.	
	<b>Rúbrica</b>			
	1	2	3	4
No establece que la mutación induce el cambio de comportamiento		Se refiere algún mecanismo específico	Las mutaciones inducen cambio de función en la proteína que genera el parasitismo o daño al comensal	

### Ejercicio 3

# TRPV1 structures in distinct conformations reveal activation mechanisms

Erhu Cao<sup>1\*</sup>, Maofu Liao<sup>2\*</sup>, Yifan Cheng<sup>2</sup> & David Julius<sup>1</sup>  
05 DECEMBER 2013 | VOL 504 | NATURE |



La figura en estado estacionario muestra un estado cerrado (apo) y dos estados abiertos distintos del canal TRPV1.

$$I = n\gamma P_o V$$

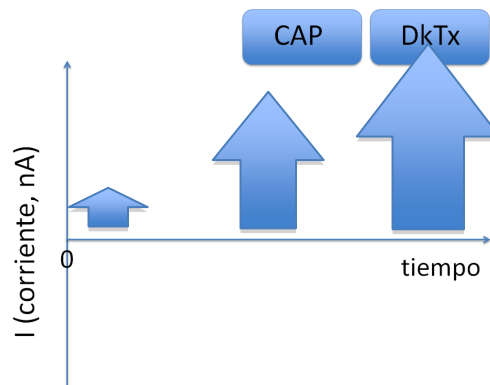
I= Intensidad de corriente, nA  
n= número de canales  
gamma= conductancia unitaria, ps  
Po= probabilidad de apertura  
V= potencial, V.

TRPV1 : Canal catiónico no selectivo (Na<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup>)

<b>Preg. 3a)</b>	¿Cuál de las variables que constituyen la intensidad de corriente es afectada por el uso de las toxinas? Fundamente			
	<b>Dominio</b>	Evaluar		
	<b>Habilidades de estudio autónomo</b>	Evaluar y comunicar la reflexión independiente de la información verificada		
	<b>Rúbrica</b>			
	1	2	3	4
	No responde.	No reconoce la conductancia como variable afectada.	Reconoce la conductancia como variable afectada pero no argumenta adecuadamente.	Reconoce que la conductancia puede variar si cambia la vía de conducción



<b>Preg. 3b)</b>	Dibuje el efecto de las toxinas sobre el curso temporal de la intensidad de corriente.		
<b>Dominio</b>	Evaluar		
<b>Habilidades de estudio autónomo</b>	Validar los conceptos teóricos y extraer conclusiones utilizando modelos de comportamiento de fenómenos complejos Evaluar y comunicar la reflexión independiente de la información verificada		
<b>Rúbrica</b>			
	1	2	3
	Curva sin sentido Ej. Lineal	Aumento de corriente (bifasica)	Aumento mayor con DkTx
			Aumento doble continuo hasta el estado estacionario



<b>Pregunta</b>	Resume en 100 palabras como se relaciona la actividad TRPV1 con el dolor, citando 5 fuentes bibliográficas que incluyan el origen molecular de capsaicina y de DkTx.		
<b>Dominio</b>	Crear		
<b>Habilidades de estudio autónomo</b>	Generar bases de datos de búsquedas bibliográficas de calidad		
<b>Rúbrica</b>			
	1	2	3
	Se basa solo en algun texto original	Se basa en un Texto original + ref (no pubmed o sin formato)	Texto original + ref con formato pubmed
			Genera un resumen coherente utilizando mas Textos originales (100 palabras) + ref con formato

## ANEXO 5: PROYECTO SIF

**El rol de la regulación del pH, a través de Hv1, como factor preponderante en la diferenciación de monocito a macrófago y/o DC.**

**Palabras clave:** RAW 264.7, modelo, diferenciación, activación, fagocitosis, monocito, macrófago, célula dendrítica, pH, NADPH oxidasa, ROS.

### Resumen

El LPS (lipopolisacárido), sustancia presente en la pared celular de microbios patógenos, puede inducir la diferenciación de monocitos a macrófago y/o célula dendrítica; de manera que por acción de la enzima NADPH oxidasa –que transloca electrones desde el NADPH citoplasmático al O<sub>2</sub> extracelular o intrafagosomal que se reduce a O<sup>-2</sup> – hay generación de ROS en el medio extracelular o fagosomal, y simultáneo a esto, se suma un exceso de protones en el medio intracelular por la oxidación de NADPH citoplasmático, bajando de manera abrupta el pH<sub>i</sub>. Lo anterior, puede ser regulado por la acción de Hv1, que extruye la acidez al medio extracelular, de manera que también se hace de este bajo pH, un elemento bactericida y ponderador de ROS. De lo anterior, surge la pregunta sobre si la regulación del pH intracelular es un determinante preponderante en la actividad fagocitaria. Y si la estimulación por LPS, que induce la actividad de NADPH oxidasa y Hv1, sugiere una etapa crítica en la activación de éstas células fagocitadoras, o sea, si induce la diferenciación o no. Preguntas que son motivo de este trabajo de investigación.

### Introducción

Una parte importante del sistema inmunitario innato adulto está constituida por las células del sistema fagocítico mononuclear. Entre estas están los monocitos circulantes, que en su diferenciación, dan lugar a diversos tipos celulares. Los monocitos son conocidos por originarse en la médula ósea, particularmente, de un progenitor mielóide, común con los neutrófilos<sup>1,2</sup>. Se ha descrito que cuando los monocitos emigran de los vasos sanguíneos hacia la diversidad de tejidos conectivos del cuerpo, estos se pueden diferenciar –según los estímulos moleculares, químicos y físicos involucrados en dicho proceso- en macrófagos (MΦ), células dendríticas (DC) u osteoclastos<sup>3</sup>. Cabe mencionar que para términos de este proyecto, se prestará especial atención a los tipos celulares MΦ y DC.

Los macrófagos son fagocitadores de todo cuerpo extraño que se introduce en el cuerpo, como las bacterias y sustancias de desecho de los tejidos. Por otro lado, las DC son las principales células presentadoras de antígenos. Tienen la capacidad de capturar, procesar y presentar antígenos de forma óptima a linfocitos T, y generar respuestas inmunes específicas<sup>4</sup>.

Según lo descrito anteriormente, al igual que los macrófagos, las DC pueden reaccionar ante diversos estímulos, y entre estos está el LPS (lipopolisacárido), que es una molécula presente en la pared celular de varios agentes patógenos procariontes. Estudios sugieren que LPS puede inducir la diferenciación *in vitro* –en células RAW 264.7- tanto a DC<sup>5</sup>, como a MΦ<sup>6</sup>. De igual forma, la maduración de DC<sup>7</sup> y MΦ<sup>8</sup>; por medio de procesos como la generación de corrientes de protones a través de canales Hv1, por acción concomitante de la enzima NADPH oxidasa<sup>9</sup> -enzima que está encargada de la generación de ROS durante la fagocitosis<sup>10,7</sup> y en el procesamiento del material del patógeno en el fagosoma para la posterior presentación de antígeno<sup>11</sup>-; también es inducida por LPS. Además, se ha evidenciado un cambio morfológico y en la expresión de proteínas de membrana, durante la diferenciación *in vitro* de RAW 264.7<sup>5</sup>; en donde se puede ver cómo hay un gran aumento de CD40 y MHC clase II en células activadas/diferenciadas<sup>12 13</sup>.

A modo de expansión de la idea anterior, cuando las células fagocitadoras se activan y envuelven a los microbios, la enzima NADPH oxidasa –en su función electrogénica- transloca electrones desde el NADPH citoplasmático al O<sub>2</sub> extracelular o intrafagosomal que se reduce a O<sup>-2</sup>, que es un precursor de una gran cantidad de especies reactivas de oxígeno (ROS), cuya función en esta instancia es bactericida. Al mismo tiempo, los canales Hv1 pasan a un estadio denominado *enhanced gating mode*, en el cual, algunas de sus características son modificadas: se abren más rápido a un menor voltaje positivo y se cierran más lentamente, incrementando así sustancialmente

la corriente de protones<sup>13</sup>. De esta manera, el trabajo de los canales Hv1 en los fagocitos activados, se vuelca a optimizar la actividad de la enzima NADPH oxidasa<sup>15</sup>. Por una parte, el canal provee aproximadamente el 95% de las cargas de compensación 16–18 necesarias para prevenir la despolarización extrema de la membrana, lo que podría detener la función de la enzima 19. Y por otra parte; los canales Hv1 minimizan el desequilibrio osmótico, y los cambios en el pH citoplasmático y fagosomal; producidos por la utilización de NADPH y su reconstitución a través de la vía hexosa monofosfato 21. Esto último es especialmente importante, dado que para una óptima actividad de NADPH oxidasa se requiere que el pH<sub>i</sub> sea de 7,5 20. Además, el canal provee –al fagosoma o medio extracelular- de una gran cantidad de protones que sirven de sustrato para la producción de varios ROS (con función bactericida) 21–23.

De lo anterior, surge la pregunta sobre si la regulación del pH intracelular es un determinante preponderante en la actividad fagocitaria. Y si la estimulación por LPS, que induce la actividad de NADPH oxidasa y Hv1, sugiere una etapa crítica en la activación de éstas células fagocitadoras, o sea, si induce la diferenciación o no. Preguntas que son motivo de este trabajo de investigación.

El presente trabajo se fundará en metodologías basadas en el cultivo de células RAW 264.7 *in vitro*. Las células RAW 264.7 son del tipo monocito/macrófago, derivadas de un tumor inducido por la infección del virus *abelson murine leukemia* en ratón *mus musculus*, y son extremadamente sensibles a LPS<sup>24</sup>. Y ya han sido utilizadas en diversos trabajos para la obtención de DC5, macrófagos y osteoclastos<sup>25–27</sup>, a partir de su diferenciación inducida por estímulos como el LPS; lo que sugiere su funcionalidad como modelo *in vitro* de la línea celular que se desprende a partir de los monocitos *in vivo*.

### **Hipótesis**

La diferenciación de monocitos a macrófago y/o célula dendrítica, aumenta la capacidad de regulación del pH modulando la actividad de Hv1.

### **Objetivo general**

Relacionar la regulación de pH dependiente de Hv1 con la diferenciación de monocito a macrófago y/o célula dendrítica.

### **Objetivos específicos**

1. Caracterizar la diferenciación inducida por LPS de monocitos a macrófagos y/o célula dendrítica a través de:
  - a. Cambios morfológicos
  - b. Cambios en la cantidad de proteínas de membrana CD40 y MHC clase II.
2. Medir la regulación del pH antes y después del estímulo de diferenciación.
3. Evaluar la actividad de macrófagos y/o células dendríticas en presencia y ausencia de un buffer de pH e inhibidor de Hv1
4. Medir la producción de especies reactivas del oxígeno a nivel fagosomal y citoplasmático.

### **Método**

1. Citometría de flujo: En una población celular de RAW 264.7, a través de esta técnica, antes y después del estímulo por LPS, se determinará de manera simultánea:

Cambios en la morfología.

Cuantificación, a través de sondas fluorescentes distintas para CD40 y MHC clase II, la expresión de dichas proteínas de membrana.

Medición de pH a través de la sonda fluorescente SNARF-1

De manera que se pueda comparar cuáles son los cambios en los parámetros medidos, antes y después del estímulo de LPS, y así caracterizar la diferenciación de monocito a macrófago y/o DC; a través de la cualificación –cuantificación poblacional- de cambios morfológicos, y de la distribución de la población celular según la cuantificación de expresión enaltecida de proteínas CD40 y clase MHC II, propias de células fagocitadoras activadas. Y al mismo tiempo, medir cómo la célula diferenciada, en contraste con la no diferenciada, regulan las corrientes de pH según su actividad.

2. Microscopía de fluorescencia: En un cultivo celular de RAW 264.7; cuantificación, por medio de SNARF-1, el pH en función del tiempo antes y después del estímulo por LPS, y en presencia y ausencia de un inhibidor de Hv1. De esta forma, se puede precisar: las diferencias en la regulación

del pH antes y después de un estímulo de LPS y si Hv1 es un agente importante en la regulación del pH intracelular.

3. Ensayo de actividad fagocitaria: En un cultivo celular de RAW 264.7; precisión de la actividad fagocitaria a través de la medición de la producción de ROS por medio de la sonda fluorescente DCF –en microscopía de fluorescencia-, antes y después del estímulo por LPS. Ya que –según la discusión bibliográfica de la introducción- la producción de ROS, por parte de una célula fagocitadora, es un parámetro que precisa su actividad fagocitaria, porque ésta se produce cuando la enzima NADPH oxidasa está translocando electrones desde el NADPH intracelular, al oxígeno extracelular, provocando así la producción de ROS bactericidas a nivel fagosomal o extracelular.

### **Discusión**

Si bien, según la evidencia científica (y la discusión bibliográfica del presente proyecto), la metodología debería abarcar el fenómeno de manera aislada para observarlo, medirlo y evaluarlo. No obstante, a medida que se vayan obteniendo resultados se dilucidará si efectivamente la hipótesis es comprobable o refutable. En cualquiera de los casos, la formulación de nuevas preguntas acerca de la diferenciación de ésta línea celular, y qué lo determina, es inmanente, y abrirá posibilidades para nuevos trabajos e investigaciones.

Respecto a las proyecciones; se sabe que, para prevenir infecciones, la vía aérea está dotada de mecanismos para inactivar y remover a los patógenos inhalados desde el aire<sup>28</sup>. Y justamente, es la secreción de protones desde los canales Hv1 -ubicados en el epitelio de la vía aérea y en las células fagocitadoras (macrófagos y células dendríticas<sup>29,30</sup> que reaccionan en la respuesta alérgica-, la que actúa como un mecanismo de defensa innata en aquel proceso. La mucosa del epitelio de la vía aérea está cubierta por un fluido de carácter antimicrobiano llamado *airway surface liquid* (ASL)<sup>31</sup>, que actúa removiendo las partículas infecciosas del aire inhalado. Pero además, se sabe que en los procesos inflamatorios, el epitelio y las células fagocitadoras de la vía aérea secretan ácido hacia el ASL debido a la activación de los canales Hv1 anteriormente mencionados<sup>32</sup>. Sin embargo, hay datos que sugieren que un excesivo aumento del pH en el lumen de la vía aérea dificulta las respuestas de este mecanismo de defensa innato, suprimiendo su potencia de combatir a los diversos microbios que permean en la vía aérea, impidiendo el funcionamiento del barrido mucociliar, e inclusive limitando la actividad fagocítica. Cabe destacar que hay estudios que datan que en pacientes que presentan asma, hay un incremento en la secreción de protones al lumen de la vía respiratoria –incluso captable en el aire exhalado<sup>33</sup>-; en contraste de pacientes que no padecen asma<sup>34</sup>. Desacoplando las ideas anteriores, se desprende que el daño epitelial –que es característica basal de la patofisiología del asma- se ve ponderado tanto por el daño que ejerce el pH bajo (< 6.5)<sup>35</sup> y la disfunción de algunos mecanismos de defensa.

Para concluir, se puede contemplar que, la influencia que pueden tener las variables que ejercen cambios en la estructura y/o función de los canales iónicos como el Hv1, pueden divergir en una serie de efectos colaterales, que afectan o no a más de un solo proceso fisiológico; de manera que, en una sucesión de consecuencias concomitantes sobre un determinado organismo, se puede ir desencadenando la patofisiología de una canalopatía. Debido a lo anteriormente mencionado, y a causa de las implicancias que surgen a partir de las diversas posibilidades de cómo actúa y se presenta un canal iónico –como el Hv1- según diversos parámetros circunstanciales; éstos se han convertido en un importante foco de atención para la invención de nuevas drogas y herramientas farmacológicas para la obtención de tratamientos novedosos y mejorados; poniendo especial atención en el asma, que a medida que se han ido obteniendo datos sobre su patofisiología, ya se especula sobre la posibilidad de terapias directas, en Hv1, que normalicen los niveles de acidez respectivos para ayudar a prevenir las reacciones que desencadenan a esta canalopatía.

### **Bibliografía**

1. Gordon, S. & Taylor, P. R. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat. Rev. Immunol.* **5**, 953–64 (2005).
2. Volkman, A. & Gowans, J. L. The Origin Of Macrophages From Bone Marrow In The Rat. *Br. J. Exp. Pathol.* **46**, 62–70 (1965).

3. Auffray, C., Sieweke, M. H. & Geissmann, F. Blood monocytes: development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* **27**, 669–92 (2009).
4. Vázquez, M. B., Sureda, M. & Rebollo, J. Células dendríticas I: aspectos básicos de su biología y funciones. *Inmunología* **31**, 21–30 (2012).
5. Saxena, R. K., Vallyathan, V. & Lewis, D. M. Evidence for lipopolysaccharide-induced differentiation of RAW264.7 murine macrophage cell line into dendritic like cells. *J. Biosci.* **28**, 129–34 (2003).
6. He, Z. *et al.* The interaction between different types of activated RAW 264.7 cells and macrophage inflammatory protein-1 alpha. *Radiat. Oncol.* **6**, 86 (2011).
7. Sztejn, K., Yang, W., Schmid, E., Lang, F. & Shumilina, E. Lipopolysaccharide-sensitive H<sup>+</sup> current in dendritic cells. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **303**, C204–12 (2012).
8. Check, J., Byrd, C., Menio, J. & Rippe, R. Src kinase participates in LPS-induced activation of NADPH oxidase. *Mol. ...* **47**, 1–14 (2010).
9. Kim, S.-Y. *et al.* Role of NADPH oxidase-2 in lipopolysaccharide-induced matrix metalloproteinase expression and cell migration. *Immunol. Cell Biol.* **88**, 197–204 (2010).
10. Decoursey, T. E. Voltage-gated proton channels and other proton transfer pathways. *Physiol. Rev.* **83**, 475–579 (2003).
11. Gardiner, G. J. *et al.* A Role for NADPH Oxidase in Antigen Presentation. *Front. Immunol.* **4**, 295 (2013).
12. Becker, L. *et al.* Unique proteomic signatures distinguish macrophages and dendritic cells. *PLoS One* **7**, e33297 (2012).
13. Banchereau, J. & Briere, F. Immunobiology of dendritic cells. *Annu. Rev. ...* **21**, 20–28 (2000).
14. Henderson, L. M., Chappell, J. B. & Jones, O. T. The superoxide-generating NADPH oxidase of human neutrophils is electrogenic and associated with an H<sup>+</sup> channel. *Biochem. J.* **246**, 325–9 (1987).
15. DeCoursey, T. Voltage-gated proton channels find their dream job managing the respiratory burst in phagocytes. *Physiology* **25**, 27–40 (2010).
16. Henderson, L. M., Chappell, J. B. & Jones, O. T. G. Internal pH changes associated with the activity of NADPH oxidase of human neutrophils. **251**, 563–567 (1988).
17. Henderson, L. M., Chappell, J. B. & Jones, O. T. Superoxide generation by the electrogenic NADPH oxidase of human neutrophils is limited by the movement of a compensating charge. *Biochem. J.* **255**, 285–90 (1988).
18. Murphy, R. & DeCoursey, T. E. Charge compensation during the phagocyte respiratory burst. *Biochim. Biophys. Acta* **1757**, 996–1011 (2006).
19. DeCoursey, T., Morgan, D. & Cherny, V. The voltage dependence of NADPH oxidase reveals why phagocytes need proton channels. *Nature* **422**, 531–534 (2003).
20. Morgan, D., Cherny, V. V., Murphy, R., Katz, B. Z. & DeCoursey, T. E. The pH dependence of NADPH oxidase in human eosinophils. *J. Physiol.* **569**, 419–31 (2005).
21. Klebanoff, S. J. Myeloperoxidase: friend and foe. *J. Leukoc. Biol.* **77**, 598–625 (2005).
22. Nauseef, W. M. How human neutrophils kill and degrade microbes: an integrated view. *Immunol. Rev.* **219**, 88–102 (2007).
23. Rada, B. *et al.* Role of Nox2 in elimination of microorganisms. *Semin. Immunopathol.* **30**, 237–53 (2008).
24. Raschke, W. C., Baird, S., Ralph, P. & Nakoinz, I. Functional macrophage cell lines transformed by Abelson leukemia virus. *Cell* **15**, 261–7 (1978).
25. Ito, M., Matsuka, N. & Izuka, M. Characterization of inorganic phosphate transport in osteoclast-like cells. *... Physiol. ...* 921–931 (2005). doi:10.1152/ajpcell.00412.2004.
26. Shibata, K. *et al.* Effect of the release from mechanical stress on osteoclastogenesis in RAW264.7 cells. *Int. J. Mol. Med.* **28**, 73–9 (2011).
27. Hu, Y., Ek-Rylander, B., Wendel, M. & Andersson, G. Reciprocal effects of Interferon-γ and IL-4 on differentiation to osteoclast-like cells by RANKL or LPS. *Oral Dis.* (2013). doi:10.1111/odi.12189
28. Knowles, M. R. & Boucher, R. C. Mucus clearance as a primary innate defense mechanism for mammalian airways. *J. Clin. Invest.* **109**, 571–7 (2002).
29. Balhara, J. & Gounni, A. S. The alveolar macrophages in asthma: a double-edged sword. *Mucosal Immunol.* **5**, 605–9 (2012).

30. Moreira, A. P. & Hogaboam, C. M. Macrophages in allergic asthma: fine-tuning their pro- and anti-inflammatory actions for disease resolution. *J. Interferon Cytokine Res.* **31**, 485–91 (2011).
31. Fischer, H., Widdicombe, J. H. & Illek, B. Acid secretion and proton conductance in human airway epithelium. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **282**, C736–43 (2002).
32. Hunt, J. F. *et al.* Endogenous airway acidification. Implications for asthma pathophysiology. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **161**, 694–9 (2000).
33. Kostikas, K. *et al.* pH in expired breath condensate of patients with inflammatory airway diseases. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **165**, 1364–70 (2002).
34. Cho, D.-Y., Hajighasemi, M., Hwang, P. H., Illek, B. & Fischer, H. Proton secretion in freshly excised sinonasal mucosa from asthma and sinusitis patients. *Am. J. Rhinol. Allergy* **23**, e10–3 (2009).
35. Holma, B., Lindegren, M. & Andersen, J. M. pH effects on ciliomotility and morphology of respiratory mucosa. *Arch. Environ. Health* **32**, 216–26

# ANEXO 6: ENCUESTA DE EXPECTATIVA ACADÉMICA

Bloque Estructura y Función Celular  
Escuela de Medicina  
Universidad de Valparaíso

Mes ▼ Día ▼ 2014 ▼ 

## Nombre y Apellidos\*

Nuestro objetivo es favorecer la educación personalizada registrando el cambio de la expectativa académica durante el pregrado

## Año de ingreso a la Universidad\*

## ¿Desarrolla algún trabajo sistemático o proyecto dirigido por un académico?\*

- Proyecto de investigación experimental: El estudiante ejecuta un proyecto de investigación o desarrollo experimental en un laboratorio
- Proyecto de investigación bioinformático: Aplicación y uso de las herramientas informáticas para el estudio de un problema científico
- Proyecto de investigación bibliográfico: Lectura crítica de una serie de trabajos científicos publicados recientes sobre un tema específico
- Proyecto de innovación docente: El estudiante desarrolla y evalúa una metodología docente de innovación para el bloque curricular en un tema específico.
- Deseo participar en un proyecto dirigido por un académico
- No deseo participar de un proyecto dirigido por un académico

## Imagine que viaja al futuro.....\*

¿En cuál de las siguientes áreas se proyecta estar trabajando después de 10 años terminada su carrera?

- Hospital Público
- Clínica
- Centro de Salud, CESFAM, Consultorio, Puesto de Salud (Primer Nivel de Atención)
- Universidad o Centro de Investigación
- Organismos vinculados a salud no asistenciales (Ministerio de Salud, OPS, ONG, etc.)
- En el extranjero
- Otro:

\*

¿Qué especialidad se visualiza ejerciendo en el área elegida?

- |   |   |
|---|---|
| <input type="radio"/> Anatomía Patológica             | <input type="radio"/> Neurología                  |
| <input type="radio"/> Anestesiología y Reanimación    | <input type="radio"/> Neuropediatría              |
| <input type="radio"/> Cardiología                     | <input type="radio"/> Obstetricia y Ginecología   |
| <input type="radio"/> Cirugía Cardiovascular          | <input type="radio"/> Oftalmología                |
| <input type="radio"/> Cirugía General                 | <input type="radio"/> Oncología y Radioterapia    |
| <input type="radio"/> Cirugía Pediátrica              | <input type="radio"/> Otorrinolaringología        |
| <input type="radio"/> Cuidados Intensivos Adultos     | <input type="radio"/> Pediatría                   |
| <input type="radio"/> Cuidados Intensivos Pediátricos | <input type="radio"/> Psiquiatría Adulto          |
| <input type="radio"/> Hematología y Oncoterapia       | <input type="radio"/> Psiquiatría Infante Juvenil |
| <input type="radio"/> Medicina General Familiar       | <input type="radio"/> Radiología e Imagenología   |
| <input type="radio"/> Medicina Interna                | <input type="radio"/> Traumatología y Ortopedia   |
| <input type="radio"/> Neurocirugía                    | <input type="radio"/> Urología                    |
|   | <input type="radio"/> Ninguna                     |

\*

¿Qué Magíster desearía realizar para complementar su especialidad elegida?

- Magíster en Ciencias Médicas, Mención Radicales Libres en Biomedicina
- Magíster en Ciencias Médicas, Mención Infecciones Intrahospitalarias y Epidemiológicas
- Magíster en Ciencias Médicas, Mención Biología Celular y Molecular
- Magíster en Salud Pública
- Deseo realizar un Magíster en el extranjero
- Deseo realizar un Magíster en una institución nacional
- No deseo realizar un Magíster
- Otro:

\*

¿Qué Doctorado desearía realizar para complementar su especialidad elegida?

- Doctorado en Ciencias, Mención Neurociencia
- Deseo realizar un Doctorado en otra institución en Chile
- Deseo realizar un Doctorado en una institución internacional
- No deseo realizar un Doctorado
- Otro:

Después de 10 años de haber terminado la carrera usted planea desarrollarse profesionalmente en\*

	Totalmente en desacuerdo	En desacuerdo	Indeciso	De acuerdo	Totalmente de acuerdo
Labor asistencial en un hospital	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Labor asistencial en un Centro de Salud	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Investigación y Desarrollo	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Salud Pública y Epidemiología	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Docencia universitaria	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Gerencia de servicios de salud	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Observaciones o comentarios

Ha desarrollado alguna de estas actividades específicas durante el año?\*

- Generar un proyecto de investigación
- Interpretar y generar gráficos
- Analizar poblaciones de datos
- Formular hipótesis
- Buscar información científica
- Generar una bibliografía
- Encontrar una mutación genética específica
- Comparar secuencias nucleotídicas y aminoácidas
- Visualizar y modificar la estructura de proteínas
- Modelar el potencial de acción
- No he desarrollado nada de lo anteriormente nombrado