

Memoria de actividades del proyecto de innovación docente

LABORATORIO VIRTUAL DE HISTOLOGÍA

Salamanca 29 de mayo de 2009

Juan M. Lara

Realizado por:

Juan M. Lara (IP)

José Aijón

Rosario Arévalo

Almudena Velasco

Eduardo Weruaga

Ángel Porteros

Concepción Lillo

Ángel Poveda

M^a Teresa Sánchez

Departamento de Biología Celular y Patología
Facultad de Biología

Resumen:

Hasta la fecha hemos documentado en vídeo y editado los protocolos básicos de utilidad en un laboratorio de Biología Celular e Histología, que comprenden: perfusión y disección de animales; obtención y procesado de embriones; fijación, inclusión y corte de muestras de tejidos; tinciones morfológicas básicas, histoquímica, inmunohistoquímica e hibridación in situ sobre secciones histológica. Además se han seleccionado, digitalizado e integrado en una base de datos, imágenes de microscopía óptica y electrónica descritas acorde con los objetivos de las distintas asignaturas a las que está orientado el laboratorio virtual.

Parte de este material básico, junto con una selección de documentos externos (páginas web, revistas electrónicas, histotecas virtuales, animaciones, videos técnicos y conferencias) se ha utilizado en el presente curso en distintas asignaturas de las licenciaturas de Biología, Bioquímica y Biotecnología y en una asignatura del Grado en Farmacia. El conjunto de los recursos está siendo adaptado a formatos de aprendizaje secuencial tutelado y evaluable que se integrará en la plataforma **Stadium** de la Universidad de Salamanca y estará plenamente operativo en el segundo cuatrimestre del curso académico 2009-2010.

Justificación

Cada año, al menos 700 alumnos de la Universidad de Salamanca cursan asignaturas del área de conocimiento de Biología Celular en las que se requieren distintos niveles de conocimiento de la estructura de células, tejidos y órganos. Los sistemas docentes tradicionales permiten al alumno un somero conocimiento teórico de las técnicas histológicas básicas y un manejo práctico de las mismas casi testimonial, mientras que el acceso a las histotecas, en la programación docente, es muy limitado. Por otra parte, las limitaciones legales para la experimentación animal dificultan el aprendizaje del proceder histológico.

Por lo anterior, y basándonos en nuestra experiencia previa con una herramienta docente generada por este equipo, una introducción guiada a la estructura celular (<http://web.usal.es/~rororo/practicas.htm>), y sus excelentes resultados en el aprendizaje, nos llevaron a diseñar un laboratorio virtual de Histología, donde nuestros estudiantes puedan aprender a obtener y procesar adecuadamente muestras de tejido, elegir la(s) técnica(s) más adecuada(s) para un objetivo concreto y aplicar de forma correcta el protocolo correspondiente, para, una vez obtenida la muestra histológica teñida, ejercitarse en el diagnóstico histológico, completando éste con muestras de una histoteca virtual propia con enlaces a reconocidas bases de imágenes de diversas Universidades. En consecuencia, nos propusimos construir una herramienta informática que al tiempo cumpla las funciones de simulador de procesamiento histológico, desde la obtención de muestras de tejido hasta secciones histológicas adecuadamente teñidas, de histoteca virtual y guía de diagnóstico histológico. El diseño de la aplicación ha de estar asociado a la demostración de conocimientos y destrezas que permitan al profesorado un seguimiento pormenorizado de los progresos y de las dificultades en el aprendizaje de cada estudiante y de cada grupo o curso en conjunto.

Actividades realizadas

Las actividades desarrolladas en relación a este proyecto se considerarán en distintos apartados:

- 1) Documentación gráfica de protocolos experimentales
- 2) Digitalización de la Histoteca
- 3) Selección de material externo
- 4) Ensayos docentes en la plataforma **Studium**
- 5) Montaje del laboratorio virtual.

1) Documentación gráfica de protocolos experimentales.

Hemos realizado grabaciones en vídeo digital de los protocolos habituales en nuestro laboratorio, realizando al menos tres grabaciones de cada procedimiento experimental. Hasta el momento disponemos de videos editados de:

- Obtención de muestras de tejido a partir de animales vivos. Estos videos son de particular importancia por solventar la incapacidad legal del estudiante para manejar y sacrificar animales de laboratorio. Al mismo tiempo, este tipo de documentos reduce al mínimo el sacrificio de animales.

Se han realizado grabaciones de perfusión y disección de:



Fotograma de la perfusión de una *C. auratus*

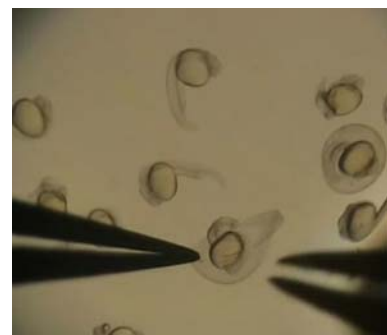
Rata
Ratón
Carpín
Dorado
Pez cebra



Fotograma de la perfusión de una rata

Además, hemos documentado protocolos de obtención de embriones de pollo y de pez cebra (incluidos protocolos de fecundación, puesta y recolección).

Tanto en este apartado como en los siguientes que incluyen documentación con video digital, en el montaje y edición de cada procedimiento



Fotograma de manipulación de embriones de *D. rerio*

experimental se ha incorporado una descripción oral del proceso, subtítulos guía y protocolos pormenorizados de cada paso del protocolo.

- Inclusión y corte. Se han documentado los protocolos habituales utilizados en microscopía óptica y electrónica:

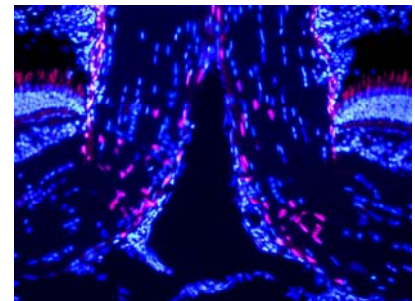
- Encastrado en agar
- Inclusión en parafina
- Inclusión en resina
- Obtención de secciones de parafina
- Corte de resinas para microscopía óptica
- Ultramicrotomía
- Uso del criostato
- Protocolo de corte en vibrotomo



Fotograma de manipulación de secciones

- Tinciones y marcados para microscopía óptica. Se han documentado protocolos básicos morfológicos, histoquímicos, inmunohistoquímicos y de hibridación in situ.

- Hematoxilina-Eosina sobre secciones de parafina y criostato.
- Tricrómico de Masson sobre secciones de parafina
- Cresil-Violeta sobre secciones de criostato
- Pas-Azul Alcian sobre secciones de parafina
- NADPH-diaforasa sobre secciones de criostato
- Técnica inmunohistoquímica PAP con Dab como cromógeno



Micrografía de inmunofluorescencia

Técnica inmunohistoquímica ABC con doble marcaje fluorescente

Hibridación in situ con marcaje mediante digoxigenina

- Preparación de muestras para microscopía electrónica.

Contrastado de rejillas y manejo básico del microscopio electrónico de transmisión

Marcado inmunohistoquímico post-inclusión para microscopía electrónica

- Protocolos básicos de Biología Molecular. En el diseño experimental de Biología Celular e histología se han hecho habituales algunas técnicas de Biología Molecular, cuya documentación y guía de procedimiento consideramos de utilidad en algunas de las asignaturas para las que se ha diseñado este laboratorio virtual. Hasta el momento disponemos de videos editados sobre:

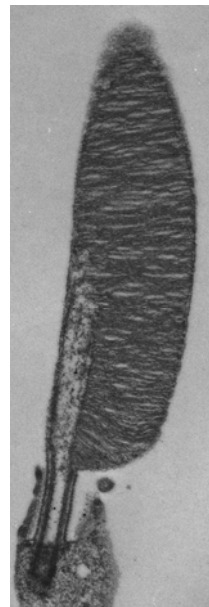
PCR

RT-PCR

Western blot

2) Digitalización de la Histoteca.

El departamento de Biología Celular y Patología dispone de una adecuada histoteca docente elaborada, mantenida y completada durante más de 20 años, de la que los alumnos sólo tienen acceso a una parte muy reducida. Esta herramienta pone a disposición de los alumnos imágenes seleccionadas acordes con su nivel de formación y con los objetivos didácticos de cada asignatura. Hasta la fecha, para este proyecto hemos digitalizado y catalogado 2.240 imágenes de microscopía óptica segregadas en cinco niveles según las asignaturas a las que estén destinadas y el nivel de análisis requerido al estudiante. Esta histoteca se completa con 1.210 micrografías de microscopía electrónica digitalizadas hasta el momento.



Micrografía electrónica de el segmento externo de un fotorreceptor humano

3) Selección de material externo.

Si bien la base de la herramienta didáctica que estamos construyendo ha de ser material propio, creemos necesario utilizar material complementario externo procedente de diversas fuentes con objetivos comunes a los de este proyecto. En este sentido, hemos realizado una primera selección de material externo que será utilizado como material complementario. En este apartado destacamos histotecas vituales de calidad contrastada (ej.: <http://casweb.ou.edu/pbell/histology/Outline/contents.html>; <http://www.path.uiowa.edu/virtualslidebox/> <http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/default.htm>;

<http://www.immunoport.com/modules.php?name=G>

[allery](#)), páginas web de Biología Celular de reconocido prestigio (ej:

<http://bcs.whfreeman.com/lodish5e/default.asp?s=&n>

[=&i=&v=&o=&ns=0&t=&uid=0&rau=0](#)), el archivo de

videoconferencias del NIH (<http://videocast.nih.gov/>) y la

revista electrónica Journal of Visualized Experiments (<http://www.jove.com/>).

Algunos de estos contenidos externos son de acceso público, otros de uso restringido, por lo que, por el momento, consideramos conveniente limitar el acceso a esta herramienta a los alumnos con acceso a **Studium**.

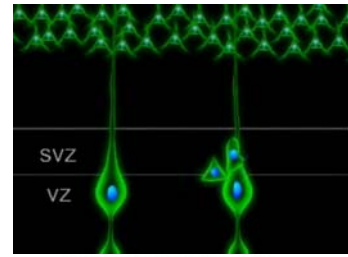


Imagen de animación JoVE

4) Ensayos docentes en la plataforma **Studium**

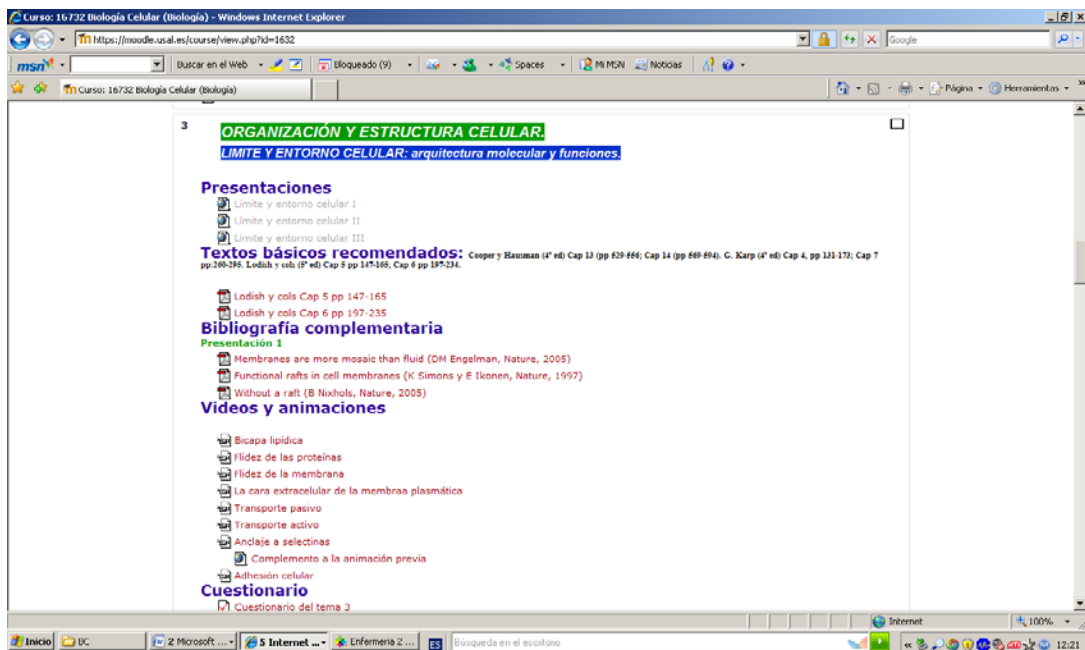
Durante el curso académico que ahora concluye hemos utilizado la plataforma Studium en las asignaturas Biología Celular (Licenciaturas de Biología y Bioquímica), Neurobiología (Licenciatura de Biotecnología) y Biología (Grado en Farmacia) y una página web en la asignatura Citología (Licenciatura de Bioquímica), para la puesta a punto de los materiales que íbamos elaborando.

Utilizamos la actualización de la página web <http://web.usal.es/~rororo/practicas.htm> como medio para testar la potencialidad didáctica de imágenes y esquemas básicos (revisión de la estructura básica de las células eucariotas mediante 100 esquemas, 150 imágenes de microscopía óptica y 100 de microscopía electrónica).

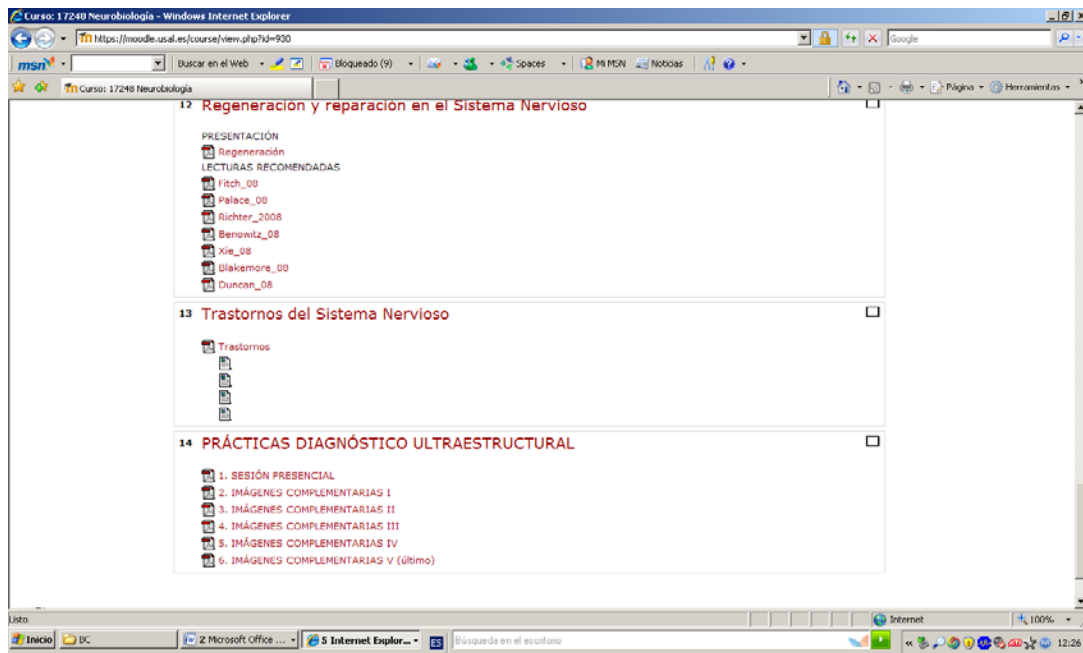


Portada de la página web de introducción a la ultraestructura celular, actualizada con recursos de este proyecto

En las distintas asignaturas integradas en la plataforma Studium hemos testado materiales más complejos, de elaboración propia y externa, ajustados a los distintos niveles de conocimiento programados en cada asignatura y tema. De esta forma hemos seleccionado y evaluado la eficiencia didáctica de vídeos y animaciones así como de micrografías electrónicas dirigidas al diagnóstico ultraestructural.



Aspecto parcial de la asignatura Biología Celular en Studium con acceso a animaciones y vídeos



Aspecto parcial de la asignatura Neurobiología en Studium con acceso a sesiones guiadas de diagnóstico ultraestructural.

5) Montaje del laboratorio virtual.

Las pruebas con parte del material elaborado demuestran que incluso en herramientas no específicas para su uso, como la simple integración de documentos aislados, simplifica y mejora notablemente el aprendizaje de los alumnos en todos y cada uno de los niveles y asignaturas. Esto sugiere que la programada integración en una herramienta única puede ser muy eficiente para la docencia y más *amigable* para el aprendizaje. Con este objetivo, desde enero de este año, estamos montando un programa específico, que será el resultado final de este proyecto, que, aún integrado en un servidor externo (Facultad de Biología) será accesible y estará integrado en la plataforma **Studium**.

Durante el montaje del programa hemos detectado que los vídeos sobre protocolos son demasiado extensos y limitan la agilidad del programa, por ello estamos modificando el diseño inicial utilizando como guión de cada protocolo una animación en la que se integran en el momento oportuno un test de evaluación y la correspondiente secuencia de vídeo (máximo 3 minutos).

Los montajes más simples, adecuados a la asignaturas Biología (Grado en Farmacia) y Citología (Licenciatura en Bioquímica), ambas de primer cuatrimestre, estarán operativos desde el comienzo del curso 2009-2010 y El programa completo será utilizable en enero de 2010, por lo que formará parte

de la docencia práctica de las asignaturas de Biología Celular (Licenciaturas de Biología, Bioquímica y Biotecnología) del curso 2009-2010.

Consideramos relevante hacer notar que este proyecto de **Laboratorio Virtual de Histología** ha sobrepasado las expectativas iniciales y en la actualidad participan en su elaboración todos los miembros del área de Biología Celar, incluido PAS y becarios. Por otra parte, recursos no programadas inicialmente, como conferencias internas del INCyL y demostraciones técnicas, estarán disponibles en el producto operativo el curso 2009-2010. Concluimos este informe con el compromiso de actualizar, ampliar y modificar, si fuera necesario, los contenidos del **Laboratorio Virtual de Histología**.

Salamanca, 29 de mayo de 2009.