

PREPARACIÓN Y REALIZACIÓN DE UN PROGRAMA DE PRÁCTICAS EXPERIMENTALES PARA ASIGNATURAS DEL ÁREA DE TOXICOLOGÍA: MOTIVACIÓN POSITIVA EN EL APRENDIZAJE TEÓRICO-PRÁCTICO DE TOXICOLOGÍA.

A.M. Cameán Fernández

I.M. Moreno Navarro

Miguel López-Artíguez

G. Repetto Kuhn

M. Repetto Jiménez

Área de Toxicología. Departamento de Bioquímica,
Bromatología, Toxicología y Medicina Legal.
Universidad de Sevilla.

RESUMEN

El presente trabajo tiene por objeto diseñar y elaborar un programa de prácticas para asignaturas del Área de Toxicología. Las etapas del proceso seguido son: selección previa de actividades prácticas que permitan la aplicación de los conceptos básicos teóricos de la asignatura; estudio del material bibliográfico suministrado a los alumnos y elaboración de los guiones y protocolos experimentales escritos; participación en la realización práctica de las actividades seleccionadas.

Los resultados obtenidos en esta actividad innovadora han permitido una participación muy activa del alumnado y una profundización de los aspectos teórico-prácticos de la asignatura. En este sentido, la experiencia revela la gran importancia de familiarizarse con diferentes técnicas instrumentales, destacando además la búsqueda, lectura y comprensión de la bibliografía relacionada con el tema.

ABSTRACT

The aim of this work is to design a practical program for subjects in Toxicology. The steps of the process followed include: a previous selection of practical experiences which permit the application of the basic theoretic concepts in Toxicology; the proposal of adequate methods of analysis according to the literature revised by the students and the elaboration of the guide and written experimental protocols. Finally, the practices were realized in the laboratory to test if they are suitable enough.

Results obtained in this innovation activity has promote a high participation of the students and a deeper teoretical-practical knowledge of the subject. In this sense, the experience has revealed the great importance of being used to different instrumental techniques. Moreover, the students learned to search, read and understand the related bibliography.

INTRODUCCIÓN

La implantación durante el próximo curso académico de la asignatura de Toxicología con materia troncal con 8 créditos en 4º curso del Nuevo Plan de Estudios de la Licenciatura de Farmacia (actualmente asignatura optativa en 5º curso), así como de la asignatura optativa de Toxicología Molecular en la recién estrenada Licenciatura de Bioquímica en nuestra Universidad, y la presencia cada vez más activa del Área de Toxicología en diferentes Programas de Doctorado Interdepartamentales, que acogen alumnos procedentes de diferentes Licenciaturas, como Químicas, Biología y Medicina, hace que los Profesores de Toxicología nos planteemos la necesidad, cada vez más imperiosa, de desarrollar un programa de prácticas básicas como parte esencial de la docencia de una materia de carácter experimental, que pueda ser aplicado en diferentes Licenciaturas.

Se pretende fundamentalmente la preparación de un programa de prácticas de Toxicología Fundamental, que abarque las distintas Áreas de la Toxicología, como Toxicología Analítica, Toxicología Experimental, Toxicología Clínica, y Ecotoxicología con el objetivo de despertar el mayor interés posible y asimilación de conceptos básicos en el alumnado, y ser aplicable en diferentes Licenciaturas. Para ello, de una forma participativa, se implicará a los alumnos de la asignatura de Toxicología de la Facultad de Farmacia, y se evaluará la motivación positiva en el aprendizaje teórico-práctico de la asignatura que supone dicha participación.

MATERIAL Y MÉTODO

Los sujetos del estudio han sido los alumnos de quinto curso de la Licenciatura de Farmacia de la Universidad de Sevilla matriculados en la asignatura optativa de Toxicología durante el curso académico 1999/2000.

Las personas que hemos participado en la dirección de esta innovación son: los dos Profesores del Área de Toxicología de la Universidad de Sevilla, Profesores A.M. Cameán y M.Repetto, y los dos Colaboradores Honorarios del Área, la Licenciada en Farmacia I. Moreno, y el Dr. G. Repetto. Además hemos contado con el asesoramiento de personal especializado en Toxicología del Instituto Nacional de Toxicología, Departamento Regional de Sevilla, como son los Dres. C. Jurado, T. Soriano, M. López-Artíguez, M.L. Soria.

Los alumnos, un total de 40, se dividieron en grupos de 5, con el objeto de facilitar la distribución de los temas prácticos a elegir, búsqueda bibliográfica y enfoque de cada práctica.

La elaboración de la guía de prácticas para los alumnos se ha diseñado y planteado de forma que podemos diferenciar dos fases fundamentales.

- En la primera parte se imparte un seminario monográfico sobre los aspectos generales que podrían tratar cada una de las prácticas, los cuales están relacionados, a su vez, con las clases magistrales de la asignatura optativa de Toxicología. Dado el momento del curso académico en que debían comenzar la elaboración de dichas prácticas (Diciembre - Enero), y no haber alcanzado aún una visión global de la asignatura ni haber tenido conocimientos teóricos del Análisis Químico Toxicológico general o de Toxicología Experimental (final del curso), resultaba de total necesidad e importancia dicho seminario.

Esta parte también incluye la entrega al alumnado de suficiente y adecuada documentación y bibliografía respecto a las posibles prácticas, con el objeto de que el alumno llegue a tener un conocimiento acerca de:

- a) Fundamentos de los métodos y técnicas más adecuadas a emplear en el Análisis químico toxicológico y en Toxicología Experimental
 - b) Problemática en la elección y preparación de las muestras
 - c) Aplicaciones reales de las prácticas
 - d) Posibilidades de realización de las prácticas, teniendo en cuenta el coste de reactivos, disponibilidades instrumentales tanto actuales como a corto plazo en el Area de Toxicología, tiempo de realización de las mismas, etc.
- En la segunda parte se desarrolla la propia elección de las citadas prácticas. En este apartado también resultó de gran interés la impartición de otro seminario que explicara en líneas generales los contenidos mínimos y puntos a tratar en cada práctica, con el objeto de una homogeneización de las mismas.

La elección de las prácticas debía hacerse también atendiendo a diversos criterios:

- a) Que abarcaran un amplio abanico de técnicas instrumentales, sencillas la mayoría pero que incluyeran algunas más especializadas.
- b) Que se permitiese la determinación de productos variados: medicamentos, contaminantes, productos químicos en general, preparaciones histológicas para su observación al microscopio
- c) Que también se incluyera la utilización de las nuevas tecnologías, como: simulaciones por ordenador, utilidad de bases de datos en Toxicología Clínica, direcciones en Internet con marcado interés docente que incluyeran simulaciones con animales de experimentación, simulaciones con técnicas costosas no disponibles en el Departamento, utilización de programas informáticos de cálculos en Toxicología Experimental, etc.

Así mismo se programó una tercera fase, de realización de las prácticas por los alumnos, en grupos reducidos. Realmente la elaboración de la guía ha sido cuidadosa, y ha requerido durante el curso la resolución de dudas y cuestiones al alumnado, que se ha esforzado y trabajado. Pero la falta de tiempo ha sido el factor que ha dificultado la realización de esta fase en su totalidad, primordial a nuestro entender, ya que por reestructuraciones docentes, el curso ha terminado un mes y medio antes de lo previsto por problemas ajenos a nuestra asignatura, como ha sido la ampliación de 200 a 800 horas de la asignatura Prácticas Tuteladas.

En concreto se han realizado un 30% de las prácticas, obteniéndose información y datos experimentales del resto por experiencias previas del Profesorado de la Facultad y del Personal especializado del INT.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de esta innovación quedan recogidos en la elaboración de una guía de prácticas en Toxicología, presentándose una copia de las mismas al Instituto de Ciencias de la Educación (ICE).

El esquema de estructuración de las diferentes prácticas ha sido:

1. *Introducción.* En este apartado se pretende que el alumno conozca en profundidad los motivos de la elección del tóxico en cuestión y todos los aspectos relacionados con él. Se recogen en este apartado los siguientes puntos:

- Usos y aplicaciones
- Fuentes de exposición
- Estructura química, propiedades físico-químicas, y relaciones Estructura-actividad en el caso de una familia de medicamentos o de compuestos químicos
- Toxicocinética
- Toxicodinamia: Efectos tóxicos, Mecanismo de acción tóxica
- Niveles normales, tóxicos y letales en diferentes tipos de muestras: aguas, alimentos, muestras biológicas.
- Métodos generales de determinación

2. *Fundamento.* Consta de una exposición breve del método escogido para su determinación.

3. *Reactivos y material.* Relación detallada de los reactivos y estándares necesarios, así como de todo el material fungible y técnicas necesarias para la realización de la práctica.

4. *Procedimiento y Cálculos.* Se realiza el protocolo experimental, construyéndose las curvas de calibrado necesarias para la determinación cuantitativa del tóxico en cuestión.

5. *Referencias.* Relación detallada de la bibliografía y procedimientos consultados.

Tras un estudio exhaustivo, se han escogido un total de 20 prácticas que se detallan en la continuación:

1. Diferenciación entre Oxihemoglobina y Carboxihemoglobina en sangre por Espectrofotometría UV-Visible, Espectroscopía de derivadas
2. Determinación de salicilatos por colorimetría
3. Cianuro en sangre mediante electrodos selectivos de iones, previa destilación ácida de la muestra
4. Tiocianato en plasma y orina de intoxicados por colorimetría
5. Valoración potenciométrica de una formulación de plaguicidas
6. Determinación de metales por Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) en sus diferentes modalidades, en orina, sangre y alimentos:

- 6.1. Zn en suero
- 6.2. Pb en sangre
- 6.3. As en alimentos
7. Seguimiento terapéutico de Li en suero mediante EAA
8. Esquema general de extracciones de medicamentos de carácter ácido y básico en muestras de orina
9. Benzodiazepinas en orina por Cromatografía en capa fina (CCF) y por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)
10. Identificación de compuestos cannábicos mediante CCF
11. Antidepresivos Tricíclicos por Cromatografía Gaseosa (CG)
12. Fenotiazinas en sangre y orina por CG
13. Determinación de alcohol mediante Cromatografía Gaseosa - Espacio de Cabeza
14. Inhibición de la enzima Acetilcolinesterasa por compuestos organofosforados
15. Detección de muerte celular por apoptosis en cultivos celulares mediante técnicas de Tunel y gel de agarosa
16. Ensayo de citotoxicidad en cultivos celulares por captación del colorante rojo neutro
17. Detección de herbicidas mediante técnica de antibiograma
18. Simulación de estudios toxicocinéticos mediante el uso del programa Dr. Toxi
19. Utilización del programa Toxinform como base de datos en Toxicología Clínica
20. Recursos en Internet de carácter didáctico en Toxicología.

Con el conjunto de estas prácticas, creemos que el alumno en cuanto a la temática escogida tienen una visión global de la asignatura, ya que se contempla la resolución de:

- Diferentes determinaciones de tóxicos orgánicos, fundamentalmente medicamentos, con su esquema previo de separación de tóxicos de carácter ácido y básico, empleando diferentes técnicas.
- Análisis y seguimiento de las intoxicaciones producidas por tóxicos inorgánicos
- Determinaciones hematológicas, como la diferenciación entre OxiHb y CbHb
- Determinaciones bioquímicas en suero y tejidos (colinesterasas)
- Experimentación con técnicas *in vitro*
- Búsqueda y aplicación de nuevas tecnologías, como son los recursos didácticos a través de Internet.

Así mismo en cuanto a las muestras escogidas, se consigue que el alumno domine manejo y preparación de muestras muy diversas: sangre, orina, tejidos, alimentos, introduciendo al alumno en las diferentes técnicas de extracción en fase sólida (SPE), mineralización por vía húmeda, destilación ácida, aplicación directa de las muestras, etc. Sería recomendable ampliar en cursos sucesivos las posibilidades de aplicación por ejemplo a muestras medioambientales.

Los tóxicos escogidos son muy diversos, siendo generalmente medicamentos, sobre todo de amplio uso (benzodiazepinas, fenotiazinas, salicilatos, etc.), así como sustancias químicas de uso variado como plaguicidas, herbicidas, o sustancias agentes de drogadicción, como alcohol o cannabis. La búsqueda y estudio del material bibliográfico sobre estos tóxicos con el objeto de conocer sus usos y aplicaciones, fuentes de exposición, toxicocinética, toxicodinamia y posterior determinación ha permitido al alumno un conocimiento de temas variados que pertenecerían a la parte del temario teórico de *Toxicología Especial*, y que por limitaciones de tiempo no llegamos a abordar en las clases magistrales.

Las técnicas a aplicar son también de complejidad diferente, de forma que incluso algunas técnicas, aunque aún no están disponibles en el laboratorio de Toxicología, como es la Espectrofotometría de Absorción Atómica en su variedad de cámara de grafito, se ha considerado adecuada su inclusión con el objeto de que el alumno conozca todas las posibilidades de la referida técnica.

La bibliografía empleada en la elaboración de esta guía de prácticas ha estado compuesta fundamentalmente por libros, unos de carácter más analítico-instrumental, y otros de tipo monográfico, más que de separatas de investigación, contando además con diversos Protocolos Normalizados de Trabajo (PNT) del INT de Sevilla. En las referencias del presente trabajo se incluye una relación de los mismos.

CONCLUSIONES

La valoración final de las experiencias tanto por parte de los alumnos como por parte de los profesores ha sido muy positiva, destacando la alta participación e interés del alumnado que creemos ha conseguido una mayor profundización en los aspectos teórico-prácticos de la Toxicología. Así mismo, no sólo se consigue un aprendizaje de los diferentes métodos y técnicas empleados sino también un acercamiento del alumno a la bibliografía teórica y práctica de la asignatura.

REFERENCIAS

- BASELT, R.C. (1987). *Analytical Procedures for Therapeutic Drug Monitoring and Emergency Toxicology*. Littenton, PSG Publishers Co.
- CHAMBERLAIN, J. (1995). *The analysis of drugs in biological fluids*. New York, CRC Press.
- CONSEJO GENERAL DE COF. (1999). *Catálogo de Especialidades Farmacéuticas*. Madrid, Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos.

- ELLENHORN, M.J., BARCELOUX, D.G. *Medical Toxicology: Diagnosis and treatment of human poisoning*. Amsterdam, Elsevier.
- MEUNIER, J. (1972). *Toxicologie D'urgence. Données générales. Méthodologie. Choix de techniques analytiques*. Paris, L'Expansion Scientifique Française.
- MOFFAT, A.C., JACKSON, J.V., MOSS, M.S., WIDDEP, B. (1986). *Clarke's Isolation and Identification of Drugs*. London, The Pharmaceutical Press.
- RANDALL, C, WILSON, I.D. (1989). *Disposition of toxic drugs and chemicals in man*. Chicago, Year Book Medical.
- REPETTO, M. (1995). *Toxicología avanzada*. Madrid, Díaz de Santos.
- ONU, United Nations International Drug Control Programme (1997). *Recommended Methods for the Detection and Assay of Barbiturates and Benzodiazepines in Biological Specimens*. Vienna, ONU.