

CONTROL ENDOCRINO DEL CICLO REPRODUCTOR EN LA RATA: UNA EXPERIENCIA DOCENTE UTILIZANDO UN MÉTODO DE CARACTERIZACIÓN CITOLÓGICO

*Rosa R. de la Cruz
Rosario Pásaro*

Departamento de Fisiología y Biología Animal
Universidad de Sevilla

RESUMEN

Se presenta el desarrollo de una actividad práctica recientemente incorporada al programa de Fisiología Animal en la Facultad de Biología, consistente en caracterizar el ciclo estral en la rata mediante tinción histológica de frotis vaginal. Además de ampliar los conocimientos teóricos, la práctica cumple varios objetivos, como el manejo y cuidado de animales de laboratorio, el uso de técnicas de tinción histológica y el desarrollo de un protocolo experimental. Así, tras una introducción teórica y una demostración práctica, los alumnos determinan las fases del ciclo estral en un grupo de animales mediante muestreo, tinción, observación y análisis de los datos. Detallamos los aspectos fundamentales de este proyecto docente, que incluyen los principios fisiológicos subyacentes, diseño experimental, materiales, organización temporal, métodos de evaluación y la experiencia docente adquirida.

ABSTRACT

The fundamentals of a teaching laboratory project in Physiology recently introduced in the Faculty of Biology are presented. The laboratory project consists in the characterization of the estrous cycle in the rat by the histological staining of vaginal smears. In addition to extend theoretical aspects, this activity covers several objectives, such as the handling and care of a laboratory animal, the use of histological staining techniques and the performance of an experimental protocol. Thus, after a theoretical introduction and a practical demonstration, the students determine the phases of the estrous cycle in a group of animals by sampling, staining and analysing the data. This work summarizes the main aspects of this teaching project that include the underlying physiological principles, experimental design, materials, temporal organization, evaluation methods, and the results of the teaching experience.

1. INTRODUCCIÓN

En este artículo se presenta la memoria de una actividad docente que ha sido recientemente incorporada como trabajo práctico de la asignatura de Fisiología Animal de la Licenciatura de Biología. El trabajo de laboratorio supone una participación más directa de los alumnos en el proceso de aprendizaje. En los tratados clásicos de didáctica de las ciencias se considera este tipo de trabajo práctico como laboratorio de comprobación, en el que los alumnos se enfrentan con trabajos dirigidos y orientados por el guión de la práctica y que conduce a la observación de un fenómeno concreto (Schwab, 1962). Sin embargo, es al profesor a quien compete sacar el máximo provecho formativo del laboratorio de prácticas, promoviendo la participación activa del alumno en el proceso de aprendizaje (Fernández Uria, 1979). El objetivo final básico es el de que el alumno aprenda a desenvolverse por sí mismo en el laboratorio y en el manejo de animales, aspecto este último muy controvertido. En la mayoría de las prácticas con animales de los manuales actuales (Segura Cardena, 1987) se procede a anestésiar al animal

y a continuación someterlo a diversos procedimientos, cuando no, directamente se realiza un análisis postmortem de su anatomía. Estas prácticas están hoy en desuso y se utilizan fundamentalmente los métodos alternativos de modelos y simulaciones por ordenador (Wester y McMullen, 1997). Sin embargo, desde el punto de vista de la experimentación en Fisiología Animal, se pierde el contacto con el animal y con los procedimientos llevados a cabo en el laboratorio. Por todo ello, nos propusimos plantear una experiencia de laboratorio que tuviera como sujeto la rata (animal de experimentación en Fisiología por excelencia), que el animal no sufriese daño, es decir, sin anestesia previa ni intervención cruenta, únicamente su manipulación. Por otro lado, no se olvida la finalidad de los trabajos prácticos en general, es decir, la de facilitar por medio de una serie de operaciones y actividades la adquisición de una experiencia de gran valor y utilidad en el contexto de la formación del alumno en Fisiología Animal (Fernández Uria, 1979; Segura Cardena, 1987).

La práctica desarrolla aspectos relacionados con la regulación endocrina de la función reproductora, tomando como modelo experimental el ciclo reproductor de la rata hembra, también llamado ciclo estral. El ciclo estral está constituido por varias fases y los alumnos deben caracterizar, durante aproximadamente 2 ciclos estrales, las diferentes fases en las que se encuentra cada rata individualmente identificada en un grupo de animales experimentales. La determinación de la fase del ciclo se lleva a cabo mediante la tinción histológica de un frotis vaginal, muestra que debe hacerse diariamente a la misma hora.

Con la puesta en marcha de esta actividad práctica se pretende cumplir varios propósitos. Por un lado, ofrecer a los alumnos de Biología matriculados en Fisiología Animal (asignatura troncal de 4º curso en los actuales Planes de Estudio) la oportunidad de aprender el manejo y manipulación de un animal de laboratorio, en este caso, la rata. Por otro lado, preparar al alumno para el desarrollo de un protocolo experimental, en sus distintas fases (i.e., diseño experimental, muestreo, análisis, presentación, discusión), que él mismo deberá ejecutar bajo la supervisión del profesor. Por último, la práctica aquí descrita amplía y consolida los conocimientos teóricos que el alumno recibe en las clases teóricas de Endocrinología dentro del programa de la asignatura de Fisiología Animal.

2. OBJETIVOS

Los objetivos que la práctica pretende cubrir, respecto a la formación del alumno, son los siguientes:

- a) conocer el ciclo reproductor de la rata y distinguir entre sus distintas fases.
- b) relacionar las fases del ciclo estral con las variaciones hormonales subyacentes
- c) dominar el manejo y cuidado de un animal de laboratorio.
- d) utilizar técnicas de preparación y tinción de muestras para la observación al microscopio de un frotis vaginal y posterior reconocimiento de los elementos celulares.
- e) desarrollar un protocolo experimental completo.

3. PRINCIPIOS FISIOLÓGICOS

3.1. CONTROL ENDOCRINO DEL CICLO REPRODUCTOR EN LAS HEMBRAS DE MAMÍFEROS

Las alteraciones cíclicas de la función reproductora están reguladas por varias hormonas del eje hipotálamo-adenohipofisario y de las gónadas. El hipotálamo (estructura nerviosa

diencefálica) es la fuente de factores que pasan a través de las venas portales a la adenohipófisis (estructura endocrina situada en la base del diencéfalo), donde actúan regulando la liberación de las hormonas adenohipofisarias, incluidas las gonadotropinas (Krieger, 1989; McCann y Ojeda, 1992). La hormona hipotalámica liberadora de gonadotropinas (GnRH) estimula la secreción en la adenohipófisis de la hormona luteinizante (LH) y de la hormona estimulante de los folículos (FSH). Estas hormonas son de naturaleza peptídica. LH y FSH van a actuar sobre las gónadas, que en el caso de las hembras son los ovarios. A su vez, los ovarios son glándulas endocrinas que secretan estrógenos y progesterona, hormonas de naturaleza esteroidea. Por último, los niveles circulantes de estrógenos y progesterona, mediante retroalimentación, regulan la liberación de las gonadotropinas adenohipofisarias LH y FSH. Esta compleja interacción hormonal va a ser la responsable de la sucesión de los ciclos reproductores en las hembras.

En general, el ciclo reproductor de las hembras de mamíferos se puede caracterizar por una fase preovulatoria y una fase postovulatoria, entre ambas fases ocurre la ovulación. A su vez, en cada fase se suceden cambios a nivel del ovario y del útero que se resumen a continuación.

Respecto a los cambios en el ovario, en la fase preovulatoria, bajo la influencia de la FSH, empieza la maduración de un conjunto de folículos ováricos, que culmina con la extrusión de uno o varios óvulos (según la especie) a la cavidad abdominal, donde son recogidos por las fimbrias de los oviductos y canalizados hacia el útero. El folículo ovárico es una estructura multicelular que tras la extrusión del óvulo se transforma en el cuerpo lúteo. Hacia el final de la fase postovulatoria, el cuerpo lúteo finalmente degenera en cuerpo albicans, estructura atrofiada que se reconoce en los cortes histológicos de ovario como una masa pálida (Genuth, 1992; Guyton, 1991; Peluso, 1996). Desde el punto de vista de los cambios ováricos, la fase preovulatoria también se llama fase folicular y la postovulatoria, fase lútea.

Respecto a los cambios en el útero, durante la fase preovulatoria, los estrógenos estimulan la hiperplasia del endometrio uterino mediante divisiones celulares que aumentan el espesor del epitelio. Es por ello que a esta fase se la llame también fase proliferativa. Por el contrario, durante la fase postovulatoria, también llamada fase secretora, el aumento de espesor del epitelio uterino se produce fundamentalmente por acumulación de sustancias nutritivas y agua, bajo la influencia de la progesterona (Genuth, 1992; Guyton, 1991).

La regulación hormonal del ciclo reproductor en las hembras de mamíferos es, pues, como sigue. Bajo la estimulación de la FSH madura un grupo de folículos ováricos, que secretan estrógenos en mayor proporción. Los estrógenos en alta concentración actúan mediante un lazo de retroalimentación positiva sobre la adenohipófisis, produciendo así un aumento en los niveles de FSH y sobre todo de LH. Este máximo en los niveles de LH y FSH induce la ovulación y a continuación el folículo se transforma en cuerpo lúteo. Éste secreta fundamentalmente progesterona que junto con los estrógenos, secretados ahora a baja concentración, y con otra hormona llamada inhibina actúan como un lazo de retroalimentación negativo sobre las hormonas adenohipofisarias, disminuyendo sus niveles. La degeneración del cuerpo lúteo al final de la fase postovulatoria libera este lazo de retroalimentación negativa sobre la adenohipófisis, con lo que bajo la influencia de la FSH se inicia la maduración de un nuevo grupo de folículos ováricos y por tanto de un nuevo ciclo (Guyton, 1991; Ojeda, 1992; Yen, 1980).

3.2. DIFERENCIAS ENTRE EL CICLO MENSTRUAL Y CICLO ESTRAL

Si bien las características descritas anteriormente son generales, en las hembras de mamíferos se distingue entre el ciclo menstrual de los primates y el ciclo estral de los mamíferos no-primates (Eckert y otros, 1988). En la Tabla 1 se resumen las principales similitudes y diferencias entre ambos tipos de ciclo reproductor. Una de las diferencias principales consiste en que en el ciclo menstrual los cambios uterinos son más notorios, el endometrio uterino depende en mayor grado de las hormonas ováricas y la necrosis que sufre cuando los niveles de estas hormonas bajan al final de la fase postovulatoria produce la degeneración del epitelio uterino acompañada de hemorragia, proceso que se conoce como menstruación (Guyton, 1991; Yen, 1980). Dicha menstruación está ausente en las hembras de mamíferos no-primates donde los cambios en el endometrio uterino son menos notorios, dado que la fase lútea del ciclo está atenuada. Sin embargo, hay grandes cambios morfológicos en el epitelio vaginal que pueden usarse para caracterizar el ciclo estral (Gorbman y otros, 1983; Martin, 1979). A su vez, dependiendo del número de ciclos estrales por año se distinguen entre especies monoestrales, en las que el único ciclo estral anual generalmente coincide con la estación favorable para la reproducción y/o el cuidado de las crías, y especies poliestrales con varios ciclos al año. En las especies poliestrales los ciclos pueden presentarse agrupados de forma estacional (e.g., en primavera y otoño) o de forma continua durante todo el año, como es el caso de la rata de laboratorio (Eckert y otros, 1988; Gorbman y otros, 1983).

SIMILITUDES Y DIFERENCIAS ENTRE CICLO MENSTRUAL Y CICLO ESTRAL	
A) similitudes:	
Pico de LH induce la ovulación	
	OVARIO UTERO
Fase pre-ovulatoria	= folicular = proliferativa
Fase post-ovulatoria	= lútea = secretoria
Niveles de estrógeno superiores a los de progesterona en la fase pre-ovulatoria	
Niveles de progesterona superiores a los de estrógeno en la fase post-ovulatoria	
B) diferencias:	
<u>Ciclo menstrual</u>	<u>Ciclo estral</u>
Fase lútea prominente	Fase lútea atenuada
Cambios cíclicos notables en el endometrio uterino	Cambios uterinos menos evidentes
Menstruación cíclica	No hay menstruación
Cambios cíclicos poco notables en el epitelio vaginal	Cambios prominentes en la morfología del epitelio vaginal

Tabla 1. Comparación de los ciclos menstrual y estral de las hembras de los mamíferos

3.3. EL CICLO ESTRAL DE LA RATA

El ciclo estral de la rata dura de 4 a 5 días, por lo que es bastante corto si se compara con el ciclo menstrual de la mujer, aproximadamente de 28 días. La ovulación se produce espontáneamente. Las fases del ciclo son: proestro, estro (al final de la cual ocurre la ovulación), metaestro y diestro (Gorbman y otros, 1983; Hebel y Stromberg, 1986; Martin, 1979). Los principales cambios que ocurren en las distintas fases del ciclo estral a nivel de ovario, útero, vagina y conducta se presentan resumidos en la Tabla 2.

FASE	OVARIO	ÚTERO	VAGINA	CONDUCTA
Proestro	Crecimiento rápido de folículos. Degeneración de los cuerpos lúteos del ciclo previo.	Útero distendido con fluido aumentando su tamaño.	Epitelio grueso. Células epiteliales superficiales. Frotis vaginal con abundancia de células epiteliales.	Estado receptivo a la copulación hacia el final de proestro
Estro	Maduración de folículos. Ovulación.	Máxima distensión. Inicio de degeneración vacuolar del epitelio uterino.	Epitelio grueso. Capa de células cornificadas en superficie. Frotis vaginal con abundancia de células escamosas.	Receptividad máxima. Lordosis. Copulación. Máxima probabilidad de fertilización.
Metaestro	Formación de cuerpos lúteos.	Alguna degeneración vacuolar, pero también regeneración.	Descamación del epitelio cornificado. Epitelio delgado. Invasión de leucocitos. Frotis vaginal con abundancia de células escamosas y	No hay receptividad.
Diestro	Crecimiento de los cuerpos lúteos. Folículos de varios tamaños.	Regeneración del epitelio uterino.	Epitelio delgado. Regeneración del epitelio. Frotis vaginal con abundancia de leucocitos y células epiteliales.	No hay receptividad.

Tabla 2. Resumen de los cambios a nivel de ovario, útero, epitelio vaginal y conducta en las distintas fases del ciclo estral de la rata.

Los folículos ováricos tienen un tamaño medio de 300 a 500 μm y se encuentran presentes en cualquier fase del ciclo estral. En general, un grupo de folículos comienza la fase de maduración, pero sólo una parte de este grupo termina ovulando, el resto, por contra, sufre atrofia. El cuerpo lúteo de los folículos rotos crece durante dos o tres días y luego decrece lentamente (de este modo tres o cuatro generaciones de cuerpos lúteos se pueden encontrar en cualquier momento del ciclo). Hay que destacar que el ciclo estral se caracteriza por una fase lútea reducida (secreción escasa de progesterona y cambios en el epitelio uterino menos evidentes), en contraste con la prominencia de esta fase en el ciclo menstrual de primates. Si la fecundación no ocurre, el cuerpo lúteo degenera y un nuevo grupo de folículos ováricos maduran.

Por el contrario, el cuerpo lúteo se mantiene tras la fertilización del óvulo, y parece depender de señales nerviosas procedentes de la estimulación mecánica del cuello uterino durante la ovulación (Eckert y otros, 1988). Tal estimulación normalmente está asociada al coito, pero se puede imitar en condiciones de laboratorio mediante la estimulación mecánica del cérvix, resultando en una condición hormonal y fisiológica conocida como pseudogestación. Esta condición exhibe los mismos mecanismos endocrinos que la fase inicial de la gestación normal. La pseudogestación dura aproximadamente 12 días, retardando el siguiente ciclo estral en ese mismo tiempo. Tanto la pseudogestación como la gestación verdadera se caracterizan por incrementos repetitivos de los niveles de la hormona adenohipofisaria prolactina, que contribuye al mantenimiento del cuerpo lúteo secretor de progesterona. En el caso de una verdadera fecundación e implantación de los óvulos en la

pared uterina, el cuerpo lúteo se mantiene principalmente por la llamada gonadotropina coriónica.

Los cambios en el ovario vienen acompañados por cambios en el útero (hiperemia, aumento del contenido hídrico, hiperplasia e hipertrofia del endometrio) y aumento espontáneo de la contracción de la musculatura uterina y vaginal. Durante el estro, la rata está sexualmente receptiva y realiza una conducta llamada lordosis, que es el conjunto de cambios posturales que indican su receptividad y facilitan la copulación (Gorbman y otros, 1983).

El ciclo estral está bajo el control hipotálamo-hipofisario. En la figura 1 se ilustra, de modo esquemático, los cambios temporales en los niveles plasmáticos de las principales hormonas implicadas en la regulación del ciclo estral. El crecimiento folicular ocurre fundamentalmente por estimulación mediada por la hormona adenohipofisaria FSH. Los folículos ováricos a su vez secretan estrógenos que tienen efecto de retroalimentación positiva sobre la secreción de LH por la adenohipófisis, alcanzándose un pico de LH al final del proestro, disparando así la ovulación. Los estrógenos también estimulan el epitelio vaginal y la queratinización del mismo. En el útero inducen hiperemia y acumulación de fluido. Tras el estro, los folículos que han liberado óvulos se transforman en cuerpos lúteos durante la fase de diestro. El cuerpo lúteo secreta progesterona y en menor grado estrógenos. La progesterona induce la mucificación del epitelio vaginal. En el útero se inicia en diestro la degeneración epitelial, si no ha habido fertilización del óvulo. Al final de la fase de diestro, vuelve a comenzar la maduración de otros folículos ováricos y a regenerar los epitelios vaginal y uterino (Gorbman y otros, 1983; Hebel y Stromberg, 1986; Martin, 1979).

4. MATERIAL NECESARIO PARA LA PRÁCTICA

A continuación se enumeran los materiales requeridos para la realización de la práctica:

- Jaula con 3 ratas hembras marcadas.
- Portaobjetos gelatinizados.
- Torondas de algodón.
- Solución salina fisiológica estéril.
- Placa térmica o estufa para secar los portas.
- Batería de tinción histológica.
- Microscopio óptico.

5. DISEÑO EXPERIMENTAL DE LA ACTIVIDAD

5.1. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

El froto vaginal se lleva a cabo mediante una toronda de algodón, previamente humedecida con

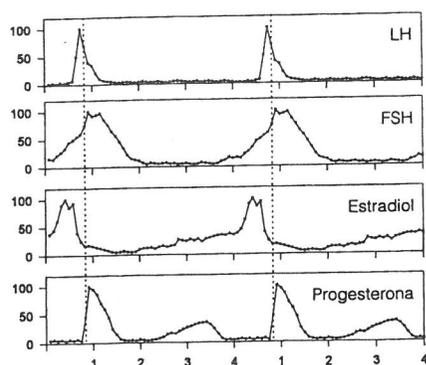
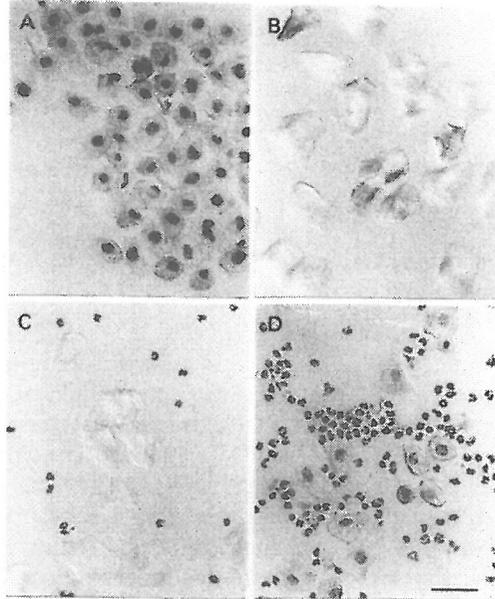


Figura 1. Variaciones relativas en los niveles circulantes de la hormona luteinizante (LH), la hormona estimulante de los folículos (FSH), el estradiol (principal estrógeno) y la progesterona, a lo largo de dos ciclos estrales sucesivos, en la rata. Nótese que no se presentan valores absolutos de estas hormonas, sino sólo incrementos y decrementos relativos en sus concentraciones plasmáticas a lo largo del tiempo. Se toma el valor de 100 como máximo relativo para cada hormona. La duración del ciclo estral se asume de 4 días. La línea vertical discontinua indica el momento aproximado de la ovulación, inducida por el pico en los niveles de LH

solución salina fisiológica. La muestra se extiende sobre un portaobjetos gelatinizado y se deja secar. Este proceso se debe hacer regularmente todos los días aproximadamente a la misma hora. Los portaobjetos deben estar marcados con el día de la muestra y el número de la rata con el fin de llevar un control temporal de cada animal.

5.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Una vez obtenido el frotis vaginal, se deja secar sobre una placa térmica o en estufa a 40°C y al cabo de unos 5 minutos se tiñe para su posterior observación al microscopio óptico. La tinción se realiza con azul de toluidina (al 0.5% en tampón acetato pH 3.9; de 5-7 minutos), seguido de un lavado en agua destilada. Después, se deshidratan las muestras en varios pasos por etanol en grado creciente (70, 96 y 100 %) y finalmente se aclaran en xilol. Tras un segundo paso de xilol se procede a cubrir los portaobjetos usando un medio de montaje permanente (DPX). El siguiente paso es la observación de la muestra en el microscopio.



5.3. OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO

Las distintas fases del ciclo se pueden diferenciar por el aspecto de los frotis vaginales (Gorbman y otros, 1983; Hebel y Stromberg, 1986; Martin, 1979), según se indica a continuación:

Proestro. Día antes de la ovulación. Puede durar entre 12 y 18 horas. Abundan las células epiteliales de gran tamaño y con núcleo. No hay leucocitos (Fig. 2A). Dentro de esta fase se pueden distinguir varias subfases según el número de células y tamaño de los núcleos. En proestro tardío las células epiteliales superficiales empiezan a transformarse en células cornificadas, con aspecto escamoso, anucleadas y transparentes, y forma irregular, que aparecerán en el frotis claramente distinguibles de las células nucleadas del epitelio vaginal.

Estro. Al final del estro ocurre la ovulación. Suele durar unas 12 horas. Hay gran abundancia de células anucleadas escamosas, que pueden aparecer formando masas blancas e irregulares (Fig. 2B). Proceden de la descamación del epitelio superficial de la vagina. La fase ovulatoria y la conducta sexual de la rata tienden a estar sincronizadas por ritmos biológicos circadianos de manera que estos eventos ocurren en determinadas horas (medianoche y primeras horas de la mañana, respectivamente).

Figura 2. Fotomicrografías de frotis vaginal de rata obtenidas en distintas fases del ciclo estral teñidos con azul de toluidina. A: proestro, caracterizado por la abundancia de células epiteliales nucleadas y ausencia de otros tipos celulares. B: estro, únicamente aparecen células escamosas anucleadas de aspecto hialino. C: metaestro, presencia de leucocitos, de tamaño pequeño y núcleo irregular, y células escamosas. D: diestro, abundancia de leucocitos; la presencia de células epiteliales indica que se trata de diestro tardío. Barra de calibración, 30 μ m.

Metaestro. Se caracteriza por la presencia de algunos leucocitos además de células cornificadas anucleadas. Los leucocitos se reconocen bien por su pequeño tamaño y la forma irregular de su núcleo, que aparece fuertemente teñido (Fig. 2C). Es una fase de transición una vez finalizada la fase del estro hacia la siguiente fase de diestro. Dura de 10 a 14 horas.

Diestro. Los leucocitos invaden el epitelio vaginal y son las células predominantes en los frotis vaginales. Es la fase más larga y variable del ciclo (2-3 días). Empiezan a aparecer células nucleadas epiteliales, tanto más abundantes cuanto más avanzado sea el diestro (Fig. 2D). Al final del diestro los folículos ováricos empiezan a crecer bajo la influencia de pequeñas cantidades de FSH y LH en preparación para el próximo ciclo.

6. EVALUACIÓN

Para la evaluación de esta actividad se realizan dos tipos de prueba, una práctica y otra teórica. Asumiendo una calificación máxima de 10, el baremo se lleva a cabo como sigue:

a) La prueba práctica consiste en la evaluación de la tabla de datos experimentales que cada alumno debe rellenar tras la observación de las preparaciones histológicas realizadas en su grupo. En la Tabla 3 se ilustra un ejemplo de una de estas tablas donde se indica, para cada animal, la fecha y hora en que se tomó la muestra, la descripción somera del frotis histológico, la fase del ciclo estral y en una última columna cualquier observación, comentario o incidencia. Los alumnos rellenan esta tabla de datos a modo personal, aunque pueden discutir dentro de su grupo. Finalmente, los aciertos y fallos de las tablas se discuten en común entre el profesor y los estudiantes utilizando un microscopio conectado a pantalla de video para la visualización conjunta de las preparaciones, facilitando así la discusión de los datos. La calificación máxima que se puede obtener en esta prueba es de 2.5 puntos.

TABLA DE DATOS DE LA PRACTICA DEL CICLO ESTRAL EN LA RATA					
ANIMAL NUMERO:					
GRUPO:			ALUMNO:		
Día	Fecha	Hora	Descripción histológica del frotis	Fase del ciclo	Observaciones
1	7-4-97	16:30	Sólo se observan células escamosas anucleadas, que no se tiñen con el azul de toluidina y se visualizan por contraste. En algunas zonas del porta estas células aparecen formando masas de gran densidad.	Estro	Estro típico
2	8-4-97	16:30	Abundancia de leucocitos. Se observan algunas células escamosas pero dispersas. También aparecen algunas células epiteliales pero en muy escaso número.	Diestro temprano	La fase de metaestro típica posiblemente fue corta y no se muestreó
3	9-4-97	16:30	Presencia de abundantes leucocitos. Las células epiteliales son también numerosas. Prácticamente no se observan células escamosas.	Diestro o diestro tardío	Se observan artefactos de tinción. Se repone la batería de tinción.

4	10-4-97	16:30	Prácticamente el único tipo celular que aparecen son las células epiteliales. Se observan unas pocas células escamosas, muy dispersas. Ausencia de leucocitos.	Proestro	Tinción adecuada de las células epiteliales.
---	---------	-------	--	----------	--

Tabla 3. Ejemplo de una tabla de datos contestada por los estudiantes.

b) La prueba teórica consta de dos apartados, 10 preguntas de elección múltiple y una pregunta corta de desarrollo (máximo una carilla) a realizar en un tiempo máximo de 45 minutos. La calificación máxima que se puede obtener es de 7.5 puntos (3.75 en cada apartado).

7. EXPERIENCIA DOCENTE

La práctica del ciclo del estro se ha impartido, hasta el momento, durante dos años consecutivos en la asignatura de Fisiología Animal de la Facultad de Biología. En el primer año (1995/96), la práctica se ofreció como una actividad complementaria a elegir voluntariamente por un grupo reducido de alumnos. Los demás alumnos pudieron elegir otras actividades complementarias alternativas como vídeos o seminarios. La idea era probar el funcionamiento de la práctica en un número reducido de alumnos antes de ofertarla a todo el colectivo; sobre todo, teniendo en cuenta que la práctica implica la manipulación de animales, y consecuentemente el objetivo era asegurar que su desarrollo cursara con normalidad. Durante el presente curso académico (1996/97) la práctica se ofertó a todos los alumnos, en las mismas condiciones que el resto de las actividades prácticas.

La organización de la práctica y su horario se detallan a continuación.

a) Clase introductoria teórico/práctica.

Es impartida por el profesor a cada grupo de alumnos. En primer lugar, los alumnos reciben una clase teórica inicial en la que se comentan los principios de fisiología endocrina necesarios y que sirven de base para la práctica. Tras la clase, el profesor realiza para cada grupo de alumnos una demostración práctica de la actividad en el laboratorio.

b) Preparación de las muestras.

Cada grupo de alumnos tiene la misión de seguir las fases del ciclo estral a 3 animales identificados durante un periodo de 1-2 semanas. Los alumnos realizan todos los pasos bajo la supervisión de los docentes. Así, deben de manipular al animal, tomar la muestra y realizar la tinción, cada día a la misma hora.

c) Observación de las muestras.

Una vez que un grupo de alumnos ha terminado su periodo de preparación de las muestras, puede proceder a la observación de las mismas en el laboratorio visualizándolas bajo microscopio óptico. Tras recibir unas instrucciones básicas, los alumnos deben rellenar la tabla de datos (ver Tabla 3) de modo individual; si bien pueden discutir en grupo, las conclusiones deben ser personales. El tiempo total de que disponen para la observación es de 3 horas.

d) Pruebas práctica y teórica.

Cada grupo es citado para discutir la tabla de datos experimentales (prueba práctica) y para realizar una prueba teórica escrita, según se indicó en el apartado 6.

8. CONCLUSIONES

La puesta en marcha de este trabajo experimental para los alumnos de Fisiología Animal ha supuesto un reto para los docentes implicados en dicha actividad. Por una parte, se ha intentado materializar los objetivos cognoscitivos y de aprendizaje implícitos en toda actividad práctica; por otra, se ha tratado de motivar a los alumnos con dichos objetivos. En el primer año (curso 1995/96) se ofertó a un número reducido de alumnos como actividad complementaria y en el curso 1996/97 a todos aquellos alumnos interesados en la misma. Los alumnos han acogido muy favorablemente la realización de esta práctica y los resultados obtenidos en las evaluaciones han demostrado una adquisición de conocimientos y destrezas importantes. Creemos que se han logrado los objetivos propuestos.

REFERENCIAS

- ECKERT, R., RANDALL, D. y AUGUSTINE, G. (1988). *Animal Physiology. Mechanisms and Adaptations*. New York, W.H. Freeman and Company.
- FERNÁNDEZ URÍA, E. (1979). *Estructura y Didáctica de las Ciencias, Breviarios de Educación*. Madrid, Servicio de Publicaciones del M.E.
- GENUTH, S.M. (1992). *The reproductive glands*, en R.M. BERNE y M.N. LEVY (Eds). *Physiology*. St. Louis, Mosby Year Book.
- GORBMAN, A. y otros (1983). *Comparative Endocrinology*. New York, John Wiley & Sons.
- GUYTON, A.C. (1991). *Textbook of Medical Physiology*. Philadelphia, W. Saunders Company.
- HEBEL, R. y STROMBERG, M.W. (1986). *Anatomy and Embriology of the Laboratory Rat*. Wörthsee, BioMed Verlag.
- KRIEGER, D.T. (1989). *The hypothalamus and neuroendocrinology*, en D.T. KRIEGER y J.C. HUGHES (Eds). *Neuroendocrinology*. Sunderland, Sinauer Associates, Inc.
- MARTIN, C.R. (1979). *Textbook of Endocrine Physiology*. New York, Oxford University Press.
- McCANN, S.M. y OJEDA, S.R. (1992). *The anterior pituitary and hypothalamus*, en J.E. GRIFFIN y S.R. OJEDA (Eds). *Textbook of Endocrine Physiology*. New York, Oxford University Press.
- OJEDA, S.R. (1992). *Female reproductive function*, en J.E. GRIFFIN y S.R. OJEDA (Eds). *Textbook of Endocrine Physiology*. New York, Oxford University Press.
- PELUSO, J.J. (1996). *Structure and function of the mammalian ovary*, en G.H. GASS y H.M. KAPLAN (Eds). *Handbook of Endocrinology*. Boca Raton. CRC Press.
- SCHWAB, J.J. (1962). *The teaching of science as enquiry*, en J.J. SCHWAB y P. BRANDWEIN (Eds). *The Teaching of Science*. Cambridge, Harvard Univ. Press.
- SEGURA CARDENA, R. (1987). *Prácticas de Fisiología*. Barcelona, Salvat.
- WESTER, M. y McMULLEN, W. (1997). *Biopac Student Lab*. Santa Bárbara, Biopac Systems, Inc.
- YEN, S.S.C. (1980). *Neuroendocrine regulation of the menstrual cycle*, en D.T. KRIEGER y J.C. HUGHES (Eds). *Neuroendocrinology*. Sunderland, Sinauer Associates, Inc.