

PROGRAMA PILOTO DE APRENDIZAJE INTERACTIVO DE LA NEUROBIOLOGÍA: NUEVAS ESTRATEGIAS DE ENSEÑANZA DE LA ELECTROFISIOLOGÍA*

Susana P. Gaytán Guía y M^a Rosario Pásaro Dionisio
Departamento de Fisiología y Biología Animal
Facultad de Biología
Universidad de Sevilla.

Francisco Pontiga Romero
Departamento de Física Aplicada II
EU Arquitectura Técnica
Universidad de Sevilla.

Resumen

El advenimiento de las tecnologías de la información ha permitido nuevas aproximaciones a la utilización de diferentes herramientas de trabajo en el aula. El presente trabajo propone una innovación en la enseñanza de la disciplina *Neurobiología*, cuyo objetivo es facilitar el acceso del alumnado al estudio de la fisiología neuronal. Para ello, se ha diseñado una aplicación informática interactiva que permite el análisis de registros electrofisiológicos extracelulares, obtenidos *in vivo*, de neuronas con actividad espontánea, y de los efectos que en dicha actividad producen estímulos concretos. Así mismo, mediante la utilización del programa diseñado, el alumno puede proceder a la verificación de los cambios operados en la frecuencia de disparo de las neuronas en estudio, tras la presentación de un estímulo.

Abstract

The new technologies have provided modern approaches to the use of different working tools in the classroom. The present work makes a new approach to the teaching of the *Neurobiology* course, with the aim of facilitating the study of neuronal physiology. A computer interactive application has been developed to analyze *in vivo* extracellular electrophysiological recordings of neurons with spontaneous activity, and the effects that stimuli have in its activity. Using this application, the students are able to analyze and observe the frequency of spontaneous actions potentials of the neurons before and the changes after the stimulus.

* Actividad financiada por el Instituto de Ciencias de la Educación de la Universidad de Sevilla, dentro de la Convocatoria de Ayudas a la Docencia para la Innovación (curso 2000-2001).

INTRODUCCIÓN

De forma genérica, los diseños de estrategias didácticas deben reunir todos aquellos enfoques y modos de actuar que hagan que el profesorado dirija adecuadamente el aprendizaje de sus alumnos. El método didáctico escogido, por otro lado, debe permitir la organización de una forma racional y práctica de los medios, técnicas y procedimientos de enseñanza conducentes a un aprendizaje integral por parte del alumnado. Así, la formación del alumnado se consigue mediante la conjunción de la docencia y la investigación. Sólo de este modo es posible lograr una profundización en la creación de una actitud científica y de búsqueda personal ante el conocimiento (Benedito, 1987; Resnick, 1989). En el caso de la Licenciatura en Biología, las competencias desarrolladas por el alumno deben abarcar tanto el conocimiento de la base teórica como la posibilidad de la ejecución práctica. En este contexto, el aprendizaje de la parcela de conocimiento que circunscribe la **Neurofisiología** presenta características propias que han de tenerse en cuenta al desarrollar una propuesta docente, de modo que el diseño curricular propuesto permita comunicar los principios esenciales, éstos permanezcan abiertos a la discusión crítica y puedan ser trasladados de forma efectiva a la práctica (Bear y otros, 1998; Kandel y otros, 2001; Salkind, 2000).

Cuando se procede al análisis, fundamentación y desarrollo de un programa de **Neurofisiología** se han de precisar las coordenadas conceptuales, así como la visión global del objetivo de la misma. La **Neurofisiología** como disciplina se centra en el estudio del comportamiento eléctrico de las células nerviosas, describiendo un fenómeno dinámico (Bear y otros, 1998; Kandel y otros, 2001).

Básicamente, una neurona transforma un estímulo físico en actividad eléctrica en la misma. En el interior de la célula existe una carga negativa respecto al líquido extracelular que la rodea. La inversión resultante de esta situación se denomina *potencial de acción*. La neurona codifica la información en términos de cambios de frecuencia de aparición de tales potenciales de acción, que se propagan desde el soma de la neurona a lo largo de su axón hasta el terminal sináptico. No obstante, sólo se generará un potencial de acción si la señal de entrada que llega a la neurona sobrepasa un cierto umbral. Una vez superado dicho umbral, cualquier incremento adicional de la amplitud de la señal aumentará la frecuencia con la que se generan tales potenciales de acción, aunque no la amplitud de los mismos (Bear y otros, 1998; Kandel y otros, 2001). La clave de este proceso es que la naturaleza graduada de las señales de entrada se traduce en un código de frecuencias de los potenciales de acción. Cada potencial de acción tiene la misma amplitud y duración y, por consiguiente, la misma forma de onda. Dado que los potenciales de acción se propagan sin decremento a lo largo de todo el axón hasta las terminales sinápticas, la información de la señal sólo está representada por la frecuencia de potenciales de acción, no por su amplitud (Bear y otros, 1998; Kandel y otros, 2001). Por último, cuando el potencial de acción alcanza el terminal sináptico, la célula liberará un neurotransmisor químico que actúa como señal de acción. Por tanto, el número total de potenciales de acción en un período dado determina exactamente la cantidad de neurotransmisor que será liberado al espacio sináptico (Bear y otros, 1998; Kandel y otros, 2001).

En este contexto, el estudio de los cambios operados en el funcionamiento eléct

de la neurona requiere de la utilización de registros electrofisiológicos que muestren dicha actividad neuronal a lo largo del tiempo. Un programa docente innovador de **Neurofisiología** debe incluir diseños didácticos racionales, conducentes a facilitar al alumnado el acceso a estos sistemas de registro electrofisiológico.

SUJETOS, CONTEXTO Y METODOLOGÍA

La asignatura **Técnicas de Neurofisiología** se imparte en la Licenciatura de Biología de la Universidad de Sevilla a alumnos de quinto curso. El número de alumnos matriculados en el curso 2000/01 es de 36. El perfil del alumno responde a un estudiante muy motivado (se trata de una asignatura optativa) y sin asignaturas pendientes de años anteriores. En esta asignatura se imparten unos contenidos eminentemente prácticos, dirigidos a la capacitación del alumnado para la investigación en la mayoría de las áreas que abarca la Neurobiología. En el programa docente se incluye una amplia gama de actividades encaminadas a dicho proceso de capacitación (Gaytán y Pásaro, 2000).

De las diferentes áreas de estudio de la Neurobiología, la electrofisiología figura en un lugar preponderante. El estudio del comportamiento eléctrico de las células nerviosas requiere un profundo conocimiento de los mecanismos de codificación de la información; es decir, de la producción de potenciales de acción. Se trata de un fenómeno en el que la variable tiempo es crucial, por lo que para la comprensión adecuada del mismo se precisa de un diseño metodológico que permita ver la evolución del suceso que se describe de un modo adecuado (Armengol

y Miñano, 1995; Nicolau y otros, 1995). De forma más concreta, la adquisición de competencias en esta área de conocimiento presenta de tres niveles de ejecución como son, el registro *in vivo* de la actividad neuronal, la obtención de datos a partir de dichos registros y, por último, el de mayor interés pedagógico, consistente en el análisis de dichos registros electrofisiológicos. La primera fase experimental del registro electrofisiológico *in vivo*, es decir el registro del potencial de acción neuronal, requiere la utilización de microelectrodos que recojan los cambios eléctricos observados en la neurona o conjunto de neuronas. La base física del fenómeno es que estas corrientes eléctricas pueden detectarse, sin atravesar la neurona, colocando el microelectrodo cerca de la membrana. El microelectrodo se conecta a un amplificador que compara la diferencia de potencial entre este electrodo y la toma de tierra. Esta diferencia de potencial puede registrarse en el tiempo utilizando un osciloscopio (Armengol y Miñano, 1995; Nicolau y otros, 1995). Esta fase del diseño experimental implica el manejo de animales por parte del alumno, con las dificultades metodológicas que conlleva. Además no posee un elevado valor pedagógico en sí mismo, dado que los alumnos tienen acceso al registro electrofisiológico en un sólo animal experimental, no pueden repetir ninguna de las variables de un experimento y están necesariamente sujetos a errores derivados de falta de pericia del discente en el manejo del instrumental. En cambio, un sistema que permita recoger un elevado número de registros *in vivo* y su posterior manipulación, obvia la utilización de animales vivos y permite la comparación y análisis de los diferentes experimentos de registro electrofisiológico por el alumno de forma autónoma.

En este contexto, las nuevas tecnologías y, en concreto, el advenimiento de las aplicaciones informáticas como herramienta de simulación de procesos fisiológicos, se han mostrado como un importante aliado a la hora de reproducir en el aula fenómenos dinámicos como el descrito. Así, se estableció como objetivo metodológico elaborar un sistema interactivo que permitiera al alumno una adecuada aproximación a los citados registros electrofisiológicos *in vivo*, y un adecuado conocimiento de los métodos de adquisición y almacenaje de dichos registros electrofisiológicos (Amit, 1994; Foster y Boston, 1997; Pellmar y Eisenberg, 2000). Para ello, los alumnos se familiarizan en primer lugar con los equipos apropiados. Así, el alumnado dispone de un equipamiento básico de registro que incluye osciloscopios, amplificadores y filtros. El osciloscopio permite la monitorización de las señales eléctricas y se usa conjuntamente con un generador de funciones, que suministra una señal de corriente alterna de baja tensión y cuya frecuencia puede variarse a voluntad. Los amplificadores y filtros se utilizan como ayuda para adaptar la señal eléctrica a las condicio-

nes requeridas para su estudio. El amplificador modifica la ganancia de la señal, aumentando o disminuyendo su voltaje, mientras que los filtros eliminan los ruidos eléctricos del ambiente (Armengol y Miñano, 1995; Nicolau y otros, 1995).

Los registros electrofisiológicos *in vivo* de numerosos experimentos fueron almacenados en soporte informático (CD Rom) de forma que pudieran ser manipulados por el alumno posteriormente. La visualización y el análisis de dichos registros requirió el diseño y la programación de una aplicación informática tutorial e interactiva, de fácil manejo, que pudiera ser utilizada por el alumno de forma autónoma. El programa diseña y procesa dos tipos de datos: el tiempo y el voltaje de la señal eléctrica. El alumno puede probar los cambios sufridos en la señal eléctrica de estimular externamente a la neurona (región pre-estímulo del registro) y después de estimularla (región post-estímulo). El inicio y el final del estímulo se caracterizan por unos llamados *artefactos* y se corresponden con picos de mayor amplitud del espectro de la señal (Fig. 1). Durante el análisis de la señal se prescinde de esta región compren-

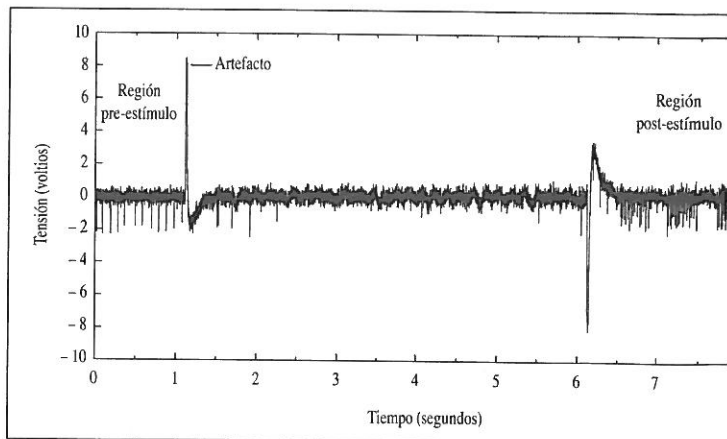


Figura 1. Diagrama completo de un registro neuronal, incluyendo la región del estímulo.

entre los picos de comienzo y final del estímulo y también de la región contigua al final del estímulo, hasta que la amplitud de señal se iguala a la desviación estándar del espectro. El alumno puede así identificar claramente el artefacto de estímulo frente a la actividad neuronal real. El registro que procesa la aplicación debe cumplir dos requisitos básicos:

1. La frecuencia de muestreo de la señal ha de ser constante; esto es, el tiempo transcurrido entre la adquisición de dos datos consecutivos es siempre el mismo.
2. El valor medio de la señal debe ser cero. La señal de un registro es, en su mayoría, ruido del que destacan las señales aisladas correspondientes a los potenciales de acción. Este ruido oscila aleatoriamente y, por tanto, su valor medio se aproximará a cero.

Durante el análisis del registro, la aplicación intenta aislar los potenciales de acción, que aparecen como máximos diferenciados en el registro (Figs. 2a y b). El alumno puede así comprobar las diferencias existentes en el registro de la neurona en condiciones que se denominan de reposo (Fig. 2a) y tras el estímulo para el que sea sensible (Fig. 2b). Durante el estudio de un registro dado, el alumno habrá de diferenciar, además de la señal de actividad neuronal mencionada, que existen otras señales que constituyen ruido eléctrico. La selección de los potenciales de acción se controla por parte del alumno a través de un único parámetro: la *amplitud de banda de exclusión* (Figs. 2a y b). La banda de exclusión es una banda simétrica en torno a cero, en la que el ruido de fondo hace imprecisa la distinción entre señales eléctricas. El alumno, al variar este parámetro en la ejecución del programa, comprueba

la diferencia entre señal de actividad neuronal y ruido. Para discriminar los potenciales de acción, el alumno debe utilizar el dato estadístico de la *desviación estándar* de la población de señales de que dispone. Así, la semiamplitud de la banda de exclusión se especifica como un número de veces, N , la desviación estándar de la señal, de forma que:

$$\text{Semiamplitud de la banda} = \text{Desviación estándar} \times N$$

Fuera de la banda de exclusión, los potenciales de acción deben aparecer bien definidos; es decir, la pendiente de la señal de tensión hasta el máximo ha de tener siempre el mismo signo y, a partir de dicho máximo, debe cambiar y mantenerse así hasta que la señal de tensión quede dentro de la banda de exclusión. La violación de este requisito puede indicar que la amplitud elegida para la banda de exclusión es demasiado pequeña. La proximidad excesiva entre potenciales de acción puede deberse también a que el valor escogido para la amplitud de la banda de exclusión sea insuficiente. por lo que se estarían marcando como potenciales de acción lo que probablemente sea ruido eléctrico. El programa advierte automáticamente de ambos problemas, invitando al alumno a modificar el valor elegido para N .

Si las señales seleccionadas cumplen todos los requisitos reseñados, el programa pasa a construir el gráfico de frecuencias (Figs. 2c y d). Esta representación gráfica es de un gran interés pedagógico, pues el alumno puede comprobar visualmente que el registro que está estudiando tiene un comportamiento diferente antes (Fig. 2c) y tras el estímulo (Fig. 2d). La neurona codifica la información y la transmite variando su

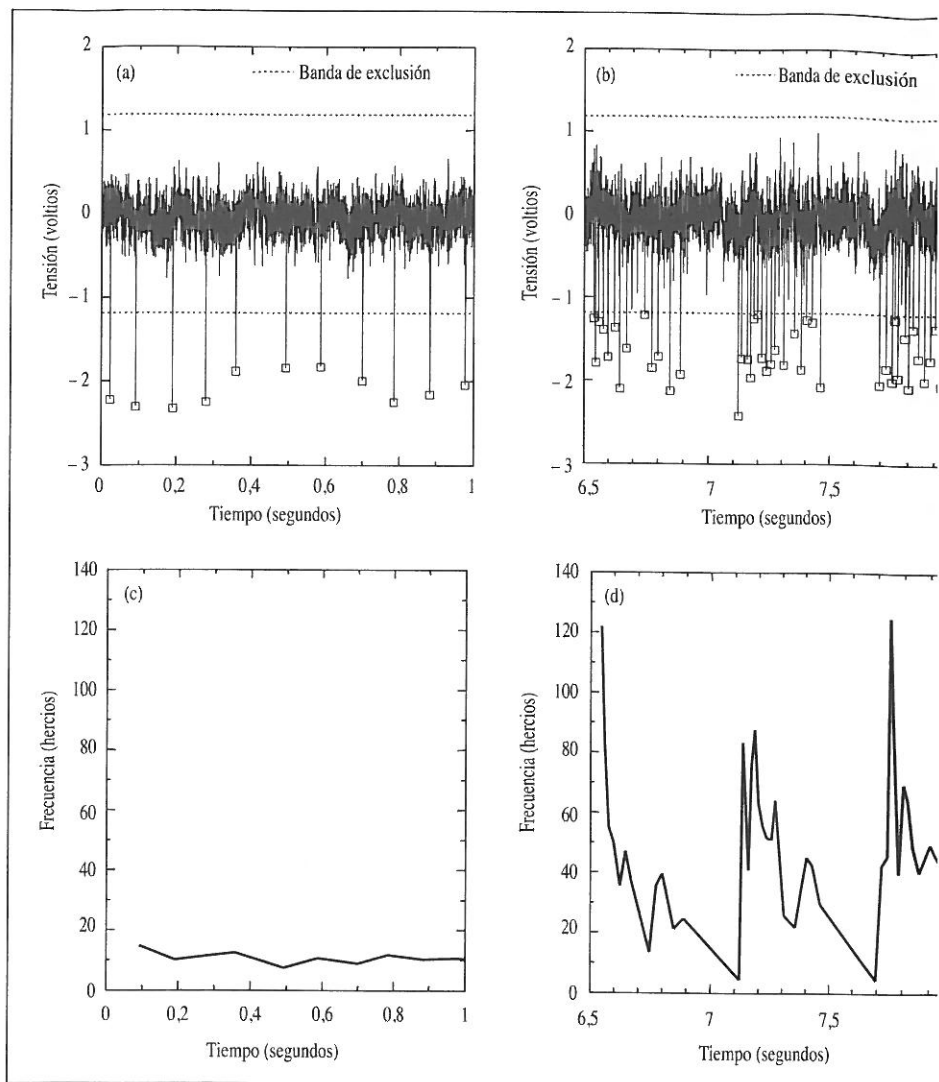


Figura 2. Diagrama de un registro neuronal multiunitario. (a) Registro neuronal en la región pre-estí-
 mula de exclusión delimitada por líneas discontinuas. Potenciales de acción, marcados con cuadr
 (b) Registro neuronal en la región post-estímulo: banda de exclusión delimitada por líneas disconti.
 Potenciales de acción, marcados con cuadros; (c) Gráfico de frecuencias de la región pre-estímulo; (d) Gr
 de frecuencias de la región post-estímulo.

frecuencia de disparo, que puede adquirir distintos perfiles dependiendo del tipo neuronal seleccionado (con disparos en brotes,

tónico, etc.). Alternativamente, si no se produce variación alguna en el gráfico de frecuencias obtenido se puede concluir que

neurona objeto de estudio es insensible al estímulo presentado.

Con todo este proceso el alumno consigue un acercamiento menos academicista al funcionamiento neuronal, comprobando las distintas posibilidades y limitaciones del registro electrofisiológico como herramienta para la comprensión del funcionamiento neuronal y en general de la actividad cerebral.

EVALUACIÓN

En el proceso evaluador se tuvieron en cuenta dos niveles de conocimiento; por un lado la comprensión de los conceptos teóricos (en este caso, el comportamiento eléctrico de la neurona) y, por otro, la capacitación técnica (representada aquí por el manejo del instrumental básico de registro electrofisiológico y el análisis de dicho registro). Los alumnos se evaluaron mediante tres actividades relacionadas entre sí, satisfaciendo los criterios de evaluación propuestos: un trabajo de revisión, una sesión de discusión y una sesión de paneles.

En una descripción más detallada, para cumplir el primer objetivo, la actividad se evaluó en una sesión de discusión de grupo de los resultados obtenidos. Para acudir a esta sesión de discusión en grupo de tres alumnos, los participantes, además de haber ejecutado el programa y realizado los consiguientes experimentos, llevaron a cabo un trabajo de revisión. En dicho trabajo, en el que se resumían los fundamentos físicos del funcionamiento de cada uno de los instrumentos empleados en el registro electrofisiológico, se debía hacer especial hincapié en el osciloscopio, satisfaciendo de este modo el segundo de los criterios.

Durante la sesión de discusión se valoró la claridad expositiva así como la capacidad de síntesis. Los alumnos procedieron a comparar los resultados obtenidos en los diferentes registros analizados, determinando el tipo de señal que aparecía en cada caso. Se analizaron comparativamente los registros de neuronas insensibles al estímulo presentado (no alteran su frecuencia de disparo) y los de neuronas sensibles y, entre éstas, los diferentes tipos de sensibilidad. Por último, y de forma conjunta, los alumnos participantes diseñaron un panel-resumen de los análisis realizados que se incluyó en la evaluación final de la actividad. Este tipo de actividad, además de satisfacer los criterios de evaluación, favorece el intercambio de ideas entre los alumnos permitiendo, que el descubrimiento de uno sea compartido por todos, enriqueciendo el valor didáctico de la propia sesión de discusión.

El diseño evaluador seguido permite una interacción participativa de los alumnos en el proceso a examen. Los resultados se pueden considerar óptimos, dado que la mayor parte de los alumnos participantes reconocieron haber mejorado su comprensión de la fisiología neuronal. No obstante, hay que reseñar, que el escaso número de ordenadores (2) disponibles, ha sido una limitación en tiempo y forma para los participantes.

CONCLUSIONES

La **Neurofisiología** como disciplina precisa de un diseño curricular integrador, comprensivo y que tome en consideración todos los aspectos y variables contextuales en que se encuadra, permitiendo la utilización de todos los recursos metodológicos posibles conducentes a una mayor calidad de la do-

cencia impartida. El proyecto innovador presentado se incluye en este principio básico de acción y de su aplicación se puede concluir que:

1. Las nuevas tecnologías aportan una inestimable ayuda en la impartición de materias de tipo práctico como la **Neurofisiología**, permitiendo una visión más dinámica de los procesos biológicos en general y del funcionamiento del sistema nervioso en particular.
2. La aplicación informática desarrollada permite un acceso directo y clarificador al estudio y análisis de los registros electrofisiológicos *in vivo* de las neuronas por parte del alumno.

REFERENCIAS

AMIT, D.J. (1994): *Modeling brain functions. The world of attractor neuronal networks*. Melburne, Cambridge University Press.

ARMENGOL, J.E. y MIÑANO, J. (1995): *Bases experimentales para el estudio del sistema nervioso*. Sevilla, Secretariado de Publicaciones de la USE.

BEAR, M.F.; CONNORS, B.W., y PARADISO, M.A. (1998): *Neurociencia. Explorando el cerebro*. Barcelona, MASSON-Williams & Wilkins, España.

BENEDITO, V. (1987): *Introducción Didáctica. Fundamentación teórica y curricular*. Barcelona, Barcanova, S.A.

FOSTER, D.M. y BOSTON, R.C. (1997) role of computational models in animal search. Using computer simulation model physiological and metabolic processes in laboratory animals. *Institute of laboratory animal resources (ILAR) Journal*. 38, 2,

GAYTÁN, S.P. y PÁSARO, M.R. (2001) Enseñanza de la Neurobiología. Una propuesta innovadora aplicable a asignaturas prácticas, en ORTEGA, A.; CASTANEDA, VILLAR, L. (eds.): *Actas de las II jornadas andaluzas de calidad en la enseñanza universitaria. Desarrollo de planes de Calidad para la Universidad*. Sevilla, Kronos.

KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, y JESSELL, (2001): *Principios de Neurociencia*. México Buenos Aires, McGraw-Hill/ Interameri S.A.U.

NICOLAU, M.C.; BURCET, J., y RIAL, (1995): *Manual de técnicas en Electrofisiología Clínica*. Palma de Mallorca, Publicacions de Universitat de les Illes Balears.

PELLMAR, T.C. y EISENBERG, L. (2000) *Bridging disciplines in the brain, behavioral and clinical sciences*. Washington, D.C. National Academy Press.

RESNICK, L. (1989): *Knowing, learning and instruction*. Hillsdale, New Jersey. Lawrence Erlbaum Assoc.

SALKIND, N.J. (2000): *Exploring research*. Upper Saddle River, New Jersey. Prentice Hall