

GUÍA DE TRABAJOS PRÁCTICOS

CÁTEDRA DE FISIOLÓGÍA

Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales.

Universidad Nacional de Misiones

(UNaM)

“En la historia del conocimiento que el hombre ha ido logrando acerca del mundo y de sí mismo, ningún siglo es más importante que el siglo XVII. En él empezó la edad moderna de la Ciencia.

Guillermo Harvey (1578-1658) formula una idea nueva que revolucionó todas nuestras nociones sobre el cuerpo humano y fundó la fisiología sobre una base sólida, pues descubrió la circulación de la sangre(...). Las venas, dice, llevan sangre al corazón; entra por el lado derecho, pasa a los pulmones, donde es purificada por el aire respirado, y de allí regresa al lado derecho del izquierdo, de donde sale por las arterias para recorrer de nuevo todo el cuerpo. Es siempre la misma sangre que circula sin cesar” (1619).

“...cuando se deshace un organismo vivo, aislando sus distintas partes, solo es para facilitar su análisis experimental, de ningún modo para entenderlo por separado. Para poder comprender la importancia y el significado real de una propiedad fisiológica, se tiene que pensar siempre en el todo y valorar sus efectos sobre la totalidad del sistema.” (Claude Bernard, 1865).

GUÍA DE TRABAJOS PRÁCTICOS 2011

CÁTEDRA DE FISIOLÓGÍA
Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales.
Universidad Nacional de Misiones
(UNaM)

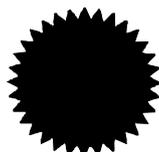
DOCENTES DE LA CÁTEDRA

Profesor Adjunto a cargo:
Bqca. Alicia M. de Jensen

Jefe de Trabajos Prácticos:
Bqca. Esp. Quím. Clín. Miryan S. López

Auxiliar Docente de Primera:
Bqca. Claudia N. Mir

Adscripta alumna:
Ma. Alejandra Manulak



EDITORIAL UNIVERSITARIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MISIONES

San Luis 1870
Posadas - Misiones
Tel-Fax: (03752) 428601

Correos electrónicos:
edunam-admini@arnet.com.ar
edunam-direccion@arnet.com.ar
edunam-produccion@arnet.com.ar
edunam-ventas@arnet.com.ar

Colección: Cuadernos de Cátedra

Coordinación de la edición: Claudio O. Zalazar

Armado de interiores: Francisco A. Sánchez

de Jensen, Alicia
Fisiología. - 2a ed. - Posadas: EDUNaM - Editorial
Universitaria de la Universidad Nacional de Misiones, 2011.
Internet.

ISBN 978-950-579-194-1

1. Fisiología. I. Título.
CDD 574.1

Fecha de catalogación: 24/03/2011

ISBN: 978-950-579-194-1
Impreso en Argentina
©Editorial Universitaria
Universidad Nacional de Misiones
Posadas, 2011

INDICE

Trabajo Práctico N° 1.	
Contención y manejo de animales de experimentación	7
Sapos	7
Ratas y Ratones.....	7
Obtención de muestras.....	8
Sangre	8
Procesamiento de la muestra.....	9
Orina	11
Normas básicas de bioseguridad.....	12
Permioselectividad de la membrana	15
Compartimientos líquidos del organismo	16
Agua corporal total	17
Agua extracelular	17
Agua plasmástica	17
Líquido intersticial.....	17
Agua intracelular.....	18
Medición de electrolitos séricos y urinarios	18
Trabajo Práctico N° 2.	
Demostración de los fenómenos contráctiles	20
Miografía e inscripciones quimográficas.....	20
Estricnina (alcaloide).....	22
Nicotina.....	22
Perfil bioquímico muscular.....	23
Trabajo Práctico N° 3.	
Propiedades del corazón	24
Demostración práctica en corazón de batracios.....	24
Primer coloquio.....	28
Segundo coloquio.....	31
Autoevaluación	33
Trabajo Práctico N° 4.	
Fisiología circulatoria	35
Auscultación de ruidos cardíacos.....	35
Estetoscopio	35
Aparatos ultrasónicos.....	36
Pulso arterial	36
Presión arterial. Metodos de medición.....	36
Variaciones fisiológicas de la presión arterial.....	39
Perfil bioquímico vascular	40

Trabajo Práctico N° 5.	
Fisiología renal (primera parte)	41
Pruebas de la función renal.....	41
Depuración o clearance de urea (du).....	41
Depuración o clearance de creatinina endógena (dce).....	42
Trabajo Práctico N° 6.	
Fisiología renal (segunda parte)	48
Prueba de dilución (técnica de Volhard).....	48
Prueba de concentración (técnica de Volhard).....	48
Efecto de diversas situaciones funcionales sobre la actividad de la función renal.....	49
Examen físico-químico de muestras de orina.....	50
Examen físico.....	50
Examen químico.....	52
Trabajo Práctico N° 7.	
Fisiología respiratoria	57
Determinación de la frecuencia respiratoria.....	57
Auscultación: ruidos respiratorios normales.....	58
Examen funcional respiratorio.....	58
Espirometría.....	58
Influencias de tipo reflejo sobre la respiración.....	60
Equilibrio ácido-base.....	63
Tercer coloquio.....	64
Cuarto coloquio.....	66
Autoevaluación.....	68
Trabajo Práctico N° 8.	
Glandula paratiroides	70
Determinación de calcemia.....	70
Determinación de fósforo.....	72
Trabajo Práctico N° 9.	
Fisiología digestiva	75
Secreción salival.....	75
Digestión salival.....	75
Motilidad gástrica.....	77
Acción de jugo gástrico.....	77
Digestión intestinal.....	78
Quinto coloquio.....	79
Autoevaluación.....	81
BIBLIOGRAFIA	84

Trabajo Práctico N° 1

CONTENCIÓN Y MANEJO DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Los animales comúnmente utilizados en las prácticas fisiológicas son:

SAPOS

El sapo común de nuestra zona es el Bufo Arenarum.

SUJECIÓN:

Se sujeta al animal por la columna vertebral, por medio de una pinza formada por un lado, por el pulgar y del otro por el índice y el medio.

INMOVILIZACIÓN Y DESMEDULACIÓN:

Se utiliza para sapos la insensibilización por destrucción medular (Guía N° 2).

RATAS Y RATONES

SUJECIÓN:

Se toma con una mano la base de la cola (no deben ser tomados por el extremo de esta ya que la piel suele desprenderse y además puede girar y morder al operador).

La sujeción se realiza con los dedos pulgares e índice de la otra mano (se rodea con ellos la cabeza). Se dobla esta mano para que el cuerpo del roedor quede acostado en la palma. La cola debe rodear el meñique.

INMOVILIZACIÓN:

Anestésicos:

- Eter y/o cloroformo: como son elementos volátiles se coloca el animal en un recinto hermético (campana de vidrio) en cuyo piso hay un algodón embebido en el anestésico. Para mantener la narcosis se aplica al hocico una mascarilla cónica con algodón impregnado en anestésico.
- Barbitúricos: Ej: Pentobarbital. Se administra por vía I.P.
 - Dosis: Dilución 4% se inyecta aproximadamente 4 mg/100 mg de peso.

OBTENCION DE MUESTRAS

Es fundamental que la muestra sea obtenida y conservada correctamente hasta el momento del análisis, para dar garantía en los resultados.

SANGRE

La extracción de sangre se realiza en diferentes lugares según la especie considerada.

En la especie humana las muestras pueden ser del capilar o periférica, venosa o arterial.

SANGRE CAPILAR O PERIFÉRICA: (Figura 1)

Consiste en la punción cutánea del pulpejo del dedo, del borde libre de la oreja, en niños, del dedo gordo del pie o del talón. Previamente desinfectada con alcohol y ya seca, se pincha la piel con la lanceta de Franke (desechable), haciendo incisión de 2- 3 mm.

Si fuera necesario puede hacerse una ligera presión, desechando la primera gota.

La sangre se recoge mediante un tubo capilar (para microtécnica) o con el canto de un porta (extensión sanguínea).

Una vez obtenida la cantidad de muestra necesaria se aplica al lugar del pinchazo un algodón seco, apretando ligeramente.

SANGRE VENOSA: (Figura 2)

En la mayor parte de los casos se utilizan las venas del antebrazo, sobre todo las del pliegue del codo.

Generalmente son apropiadas las mediana cefálica o mediana basilica que se palpan fácilmente en casi todos los pacientes; también pueden utilizarse venas de la muñeca o el dorso de la mano, pero son muy delgadas.

El paciente debe ponerse cómodo y con el brazo en la posición conveniente para facilitar la punción; se localiza la vena y se coloca la ligadura o torniquete de goma aproxi-

madamente a 7 cm por encima del codo (el paciente deberá mantener la mano bien cerrada).

Se desinfecta la región con una torunda de algodón empapada en alcohol u otro desinfectante adecuado y se deja secar. Se sostiene el brazo del paciente con una mano estirando y comprimiendo los tejidos blandos, para fijar en posición la vena, con la otra mano se sujeta la jeringa entre el pulgar y los tres últimos dedos. El dedo índice descansa sobre el casquillo de la aguja y sirve de guía. Se atraviesa la piel con la aguja (esta debe formar un ángulo agudo con el brazo y mantener el bisel hacia arriba).

La sangre se extrae por aspiración de la jeringa retirando lentamente el émbolo; una vez lograda la cantidad necesaria de sangre, se afloja la ligadura y se pide al paciente que abra la mano, se saca inmediatamente la aguja aplicando una torunda de algodón humedecida en alcohol y se le indica al paciente que comprima con la otra mano. Se retira la aguja de la jeringa, y la sangre se vierte por las paredes de los tubos correspondientes. Una vez realizada esta operación la jeringa utilizada se descarta en agua lavandina (ver normas de bioseguridad pag. 12)

Debe utilizarse material estéril.

El tamaño de las jeringas debe ser de acuerdo al volumen necesario, son comunes las de 5, 10 y 20 ml. La aguja más apropiada es de 25 mm de largo y 0,8 mm de calibre, con bisel corto.

SANGRE VENOSA EN NIÑOS:

Puede extraerse también de las venas yugular externa o femoral.

SANGRE ARTERIAL:

Se obtiene por punción de la arteria radial (a nivel del túnel carpiano), humeral (por encima del pliegue del codo) y femoral (en la zona inguinal). No hace falta ligar.

Sirve para determinar equilibrio ácido-base y el pH, o para obtener sangre cuando al paciente no se le puede encontrar venas.

En las diversas especies animales se puede efectuar la punción en las siguientes venas: safena (perro, rata, etc.), cefálicas (perro, etc.), femoral (perro, rata, ratón, etc.), yugular (perro, rata, ratón, etc.).

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA:

Una vez extraída, la muestra se puede conservar de dos maneras:

1. sangre no coagulada;
2. sangre coagulada.

1. a- Sangre entera:

Disponer de una jeringa con aguja (heparinizadas) o colocar el anticoagulante elegido en el fondo del tubo. Una vez obtenida la muestra, en el primer caso, rotar la jeringa entre las manos para mezclar la sangre con el anticoagulante y en el

segundo caso trasvasar la sangre, tapar e invertir el tubo suavemente varias veces para homogenizar.

Conservar refrigerado (no congelado).

1. b- Plasma:

Una vez obtenida y anticoagulada la sangre se la somete a centrifugación de 10 minutos a 3.000 r.p.m.

Al retirar el tubo veremos sedimentados los elementos globulares y un líquido sobrenadante que es el plasma. Puede extraerse este, con una pipeta Pasteur cuidando no agitar el líquido ni tocar el sedimento.

Conservar refrigerado (o congelado).

2. Suero:

Se extrae sangre sin anticoagulante y se coloca en un tubo que se deja reposar en B.M. (37°C para acelerar el proceso) hasta que se retraiga el coágulo formado y luego se afloja éste con cuidado por la parte superior rodeandolo con una varilla de vidrio.

Centrifugar 10 minutos a 3.000 r.p.m, aspirar con cuidado mediante pipeta Pasteur y transferir a otro tubo. Conservar refrigerado o congelado.

ANTICOAGULANTES:

Son agentes que impiden o retardan la coagulación de la sangre.

1. EDTA: Sales sódicas y potásicas del ácido etilén-diamino- tetraacético.

Dosis: una gota (50 microlitros) cada 6 o 7 ml de sangre. En estas condiciones el error por dilución es de 0,7 % (considerado despreciable para cualquier trabajo de rutina en hematología).

Para menores cantidades de sangre (hasta 2,5 ml) se pueden emplear 20 microlitros y cuando se necesita extrema exactitud puede secarse el EDTA en estufa (de 37°-50°C) evitando el error por dilución.

2. CITRATO DE SODIO: Se presenta en polvo o diluido en solución acuosa al 3,8%.

Dosis: para el estudio de trastornos de coagulación se utiliza una parte de citrato y nueve de sangre (0,5 ml de citrato al 3,8 % + 4,5 ml de sangre). Para velocidad de sedimentación una parte de anticoagulante y 4 de sangre (0,5 ml de citrato al 3,8 % + 2 ml de sangre). controlar los espacios.

3. HEPARINA: Se extrae de mastocitos de hígado, pulmón o mucosa intestinal del bovino.

Es un ácido mucoítín-polilsulfúrico (ácido glucurónico y glucosamina esterificados con ácido sulfúrico).

Dosis: 1-2 gotas por cada 5 ml de sangre. Puede colocarse la gota en el fondo de tubo o bien “heparinizarse” la jeringa y la aguja.

In vivo alarga el tiempo de coagulación para prevenir trombosis.

4. FLUORURO DE SODIO: No sólo es utilizado como anticoagulante sino como conservador (para determinación de glucosa en sangre y LCR).

Ej. anticoagulante G (Wiener): solución estabilizada de sales sódicas u potásicas de EDTA y Fluoruro de Potasio.

Dosis: 1 gota (70 microlitros) cada 9 ml de sangre.
20 microlitros hasta 2,5 ml de sangre.
50 microlitros hasta 7 ml de sangre.

PREPARADOS COMERCIALES

1. Citrato de sodio: anticoagulante TP (Wiener)
2. EDTA: anticoagulante W (Wiener)
3. Fluoruro de Potasio: anticoagulante G (Wiener) asociado al EDTA.
4. Heparina: Heparina R (Abbot); Liquemine R (Roche)

ORINA

La técnica de recolección varía según el tipo de investigación a realizarse.

EXAMEN DE RUTINA:

Se recogerá por micción espontánea en recipientes de vidrio limpios y secos (existen botellas de papel encerados o recipiente de plástico). Se indica la recolección de la primera orina de la mañana que estará en condiciones óptimas de concentración y elementos formes.

RECOLECCIÓN EN NIÑOS:

Existen colectores de orinas (para ambos sexos) de polietileno transparente plegable estériles y no estériles. La bolsa se dobla y se autoprecinta para su transporte.

DETERMINACIONES CUANTITATIVAS:

Se recomienda recolección de muestra de 24 hs. A una hora determinada (por ej. 8 hs.) de la mañana, orinar a fondo desechando esa orina. A continuación recolectar en una botella toda la orina eliminada desde ese momento hasta la mañana siguiente a la misma hora que comenzó la recolección (8 hs.).

CONSERVADORES:

En general es suficiente el frío, pero pueden utilizarse conservadores químicos como: formol: (solución de formaldehído al 40% V/V). Se usa en la proporción de 10 ml para el volumen de 24 hs.; timol, ácido bórico, tolueno.

EXAMEN BACTERIOLÓGICO:

Es indispensable una higiene rigurosa de las zonas próximas al meato. Se desecha la primera parte de la orina eliminada y se recoge la que sigue en un recipiente estéril.

NORMAS BÁSICAS DE BIOSEGURIDAD

DEFINICIÓN:

La bioseguridad se puede definir como la seguridad y protección de todo lo vivo.

El trabajo de laboratorio, en mayor o menor grado está sujeto a riesgos de todo tipo; debemos conocerlos para poder evitarlos.

ÁREAS DE CIRCULACIÓN:

La circulación indiscriminada constituye a menudo un factor importante de propagación de agentes infecciosos, se deben diagramar zonas según los riesgos de las tareas que se desarrollen.

MATERIAL DE PROTECCIÓN:

Ropa:

Toda persona debe llevar ropa protectora (chaquetilla) durante su permanencia en el laboratorio, la que será para uso exclusivo de esta área.

Guantes:

Usar siempre guantes descartables que se adaptan perfectamente a las manos (látex), a fin de no perder tacto ni maniobrabilidad, pero recordar que éstos evitan las salpicaduras pero no los pinchazos.

MATERIAL DE BIOSEGURIDAD:

Accesorios para pipetas:

Depende del trabajo a realizar pudiendo tratarse de propipetas de goma, boquillas descartables, dispensero, pipetas automáticas, etc.

Recipientes:

Es necesario disponer de bidones y botellas para almacenamiento de reactivos y descarte de material biológico (el cual deberá contener lavandina al 1%).

LIMPIEZA:

Primero se hace limpieza general y luego desinfección con lavandina al 0,2 % (medidas).

TÉCNICA DE TRABAJO

Uso correcto de agujas y jeringas

Riesgos:

- Inyección accidental
- Formación de aerosoles
- Derrames

Se recomienda:

- La extracción de sangre debe hacerse siempre con guantes de látex.
- Dentro de lo posible usar conjunto descartable.
- Una vez realizada la extracción nunca se intentará volver a poner el capuchón protector.
- No se debe separar la aguja de la jeringa con las manos, usar los descartadores.
- Una vez usadas las jeringas se las debe colocar en recipientes con lavandina al 1%, se debe llenar la jeringa con el mismo, sacar el émbolo y dejarlos 30 minutos en el líquido.
- Esterilizar todo (recipiente, desinfectante, agujas y jeringas)

Uso correcto de pipetas

Riesgos:

- Derrame
- Formación de aerosoles
- Ingestión de sustancias peligrosas

Se recomienda:

- No pipetear con la boca, usar boquillas, propipetas, dispensadores, etc.
- Las pipetas usadas se deben colocar en un recipiente con desinfectante, logrando la inmersión completa, dejarlas por 30 minutos y luego esterilizarlos.

Otras prácticas de trabajo seguro

Uso de centrífugas:

- Se deben equilibrar los tubos antes de centrifugar.
- Se iniciará la rotación lentamente, y se irá aumentando a velocidad de a poco.
- No se debe abrir la centrífuga en movimiento y menos aún detenerla con las manos.

Baño María:

- agregar desinfectante al agua y cambiarla con frecuencia, debido a la gran multiplicación bacteriana que se produce.



Figura 1. Punción capilar.

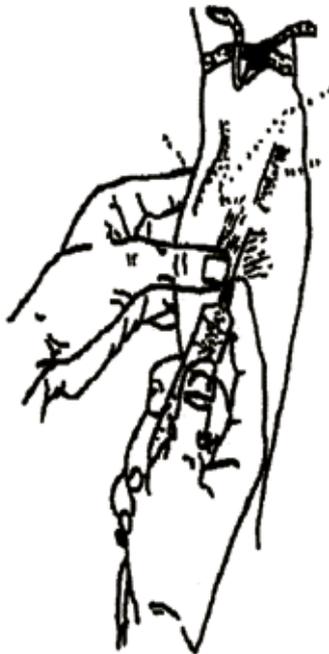


Figura 2. Punción venosa.

PERMIOSELECTIVIDAD DE LA MEMBRANA

La membrana celular regula el intercambio de sustancias entre la célula y el medio que la rodea, contribuyendo al mantenimiento de las composiciones constantes de los compartimientos intra y extracelulares. Estos compartimientos son isosmóticos, siendo su osmolalidad de aproximadamente 300 mOsm / Kg H₂O.

El volumen de una célula queda determinado fundamentalmente por la cantidad de agua que ésta contiene. Mediremos el cambio en el volumen de glóbulos rojos como consecuencia de someterlos a soluciones de distintas osmolaridades.

Se someterá a los glóbulos rojos a distintas soluciones de NaCl. La determinación del cambio en el volumen celular se estimará a partir de un hematocrito. Esta técnica consiste en centrifugar una suspensión de glóbulos rojos de manera que se separen las células del fluido. Una vez realizada la centrifugación el resultado del hematocrito se expresa como el porcentaje del volumen ocupado por los glóbulos rojos del volumen total de la suspensión centrifugada.

LAVADO DE GLÓBULOS ROJOS

1. Recoger sangre en dos tubos con anticoagulante (heparina).
2. Centrifugar 10 minutos a 3.000 r.p.m.
3. Extraer el plasma con pipeta Pasteur y agregar solución Ringer hasta completar el volumen inicial.
4. Resuspender los glóbulos rojos y volver a centrifugar; separar el sobrenadante obteniendo un residuo de glóbulos rojos lavados.

TÉCNICA:

1. Colocar en tres tubos 0,2 ml de glóbulos rojos lavados y agregar distintas soluciones de NaCl (ver cuadro).
2. Con cada una de estas suspensiones cargar un hematocrito, centrifugando a 12.000 r.p.m. aproximadamente 5 minutos.
3. Leer los hematocritos e interpretar los resultados.

TUBO	1	2	3
NaCl 0,9 %	0,2 ml	-----	-----
NaCl 0,6 %	-----	0,2 ml	-----
NaCl 1,2 %	-----	-----	0,2 ml
Hematocrito			

Observaremos la hemólisis producida como consecuencia de exponer a los glóbulos rojos a distintas soluciones.

1. Preparar una batería de tubos conteniendo 1 ml de las siguientes soluciones (ver cuadro).

2. Agregar a cada tubo 2 gotas de glóbulos rojos lavados.
3. Observar el efecto producido e interpretar los resultados.

TUBO	1	2	3	4	5	6	7
Solución	Na Cl 0,9 %	Na Cl 0,45 %	Na Cl 1,2 %	Urea 1,8 %	Urea 8,6 %	Glucosa 5,45 %	Eter
Osmolalidad							
Efecto Ob- servado							

COMPARTIMIENTOS LÍQUIDOS DEL ORGANISMO

El organismo humano está compuesto en un 40-60% de su peso corporal por agua que difunde libremente a través de dos grandes compartimientos en los que se distribuye: compartimiento intracelular y compartimiento extracelular. (Figura N° 3).

El volumen de cada compartimiento no puede ser medido directamente, por lo tanto se utilizan métodos indirectos basados en la llamada “técnica de dilución”.

En teoría es posible medir el volumen de cada uno de los compartimientos acuosos corporales, inyectando sustancias que únicamente se distribuyan en un compartimiento.

$$V = Q / C$$

Q= cantidad inyectada de sustancia.

V= volumen en que la misma se distribuye = volumen del compartimiento.

C= concentración final alcanzada en el compartimiento.

En la medición de los compartimientos líquidos del organismo, si parte de la sustancia administrada es metabolizada o excretada por orina deberá medirse la cantidad eliminada “E” durante el transcurso de la determinación y descontarse de la cantidad inyectada “Q”.

$$V = (Q - E) / C$$

Actualmente se utiliza para la estimación de los volúmenes de los distintos compartimientos líquidos, marcadores radiactivos o marcadores cuya concentración se pueda medir colorimétricamente.

Se pueden usar los métodos de dilución para estimar el volumen de agua corporal total, agua extracelular y plasma.

AGUA CORPORAL TOTAL

Las sustancias más comúnmente usadas son antipirina, agua pesada (óxido de deuterio), tritio. Su valor promedio es de 40-60% del peso corporal.

AGUA EXTRACELULAR

Corresponde al agua ubicada externamente con respecto a la membrana celular. Para su estimación se utilizan sustancias no radiactivas como sacáridos: inulina, rafinosa, sucrosa y radiactivas como Cl^{38} , radiosulfato, inulina marcada con C^{14} .

Con fines clínicos se usa la aproximación de que el líquido extracelular contiene una tercera (1/3) parte del líquido corporal total.

AGUA PLASMÁTICA

Para la determinación de su volumen se utilizan sustancias que se combinan con la albúmina plasmática: azul de Evans (T_ 1824), RISA (Albúmina con I^{131}). También puede medirse el volumen de agua plasmática indirectamente determinando el volumen sanguíneo con hematíes marcados con Cr^{51} o Fe^{59} .

Se debe conocer además el hematocrito.

$$\text{Vol. Plasmático} = \text{Vol. Sanguíneo} (1 - \text{Hto})$$

Su valor promedio es de aproximadamente 5% del peso corporal.

LÍQUIDO INTERSTICIAL

Se calcula indirectamente:

$$\text{Vol. líq. intersticial} = \text{Agua extracelular} - \text{Agua Plasmática}$$

Valor aproximado: 15% del peso corporal.

AGUA INTRACELULAR

No puede medirse directamente y se calcula:

$$\text{Agua intracelular} = \text{Agua corporal total} - \text{Agua extracelular}$$

Valor aproximado: 30 - 40% del peso corporal. Con fines clínicos se usa la aproximación de que el agua intracelular es 2/3 del agua corporal total.

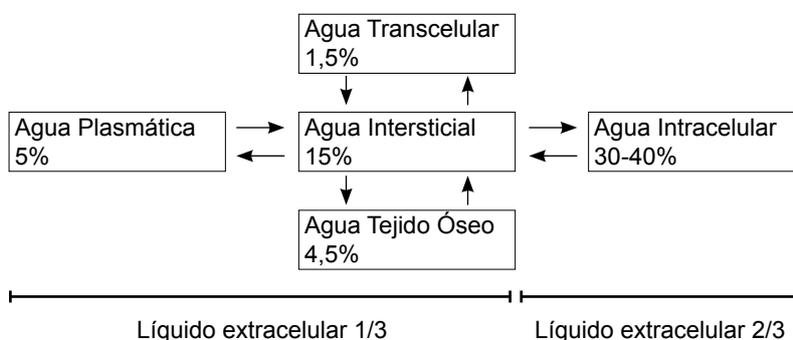


Figura 3.

MEDICIÓN DE ELECTROLITOS SÉRICOS Y URINARIOS

La determinación cuantitativa del Na y K usualmente se realiza por espectroscopia de emisión atómica de llama (FAES) o por potenciometría con electrodo selectivo para iones (ISE).

En los métodos FAES, el calor de la llama de aire – propano (casi 1925°C) vaporiza la sal (muestra diluida) que gana electrones tomados de los gases que se reducen y forman los átomos Na° y K° en su estado fundamental. Estos átomos calentados en la llama pasan a su estado excitado Na* y K*. Los átomos excitados decaen instantáneamente a su estado fundamental con emisión de luz. La cantidad de luz emitida es directamente proporcional a la concentración de sodio y potasio.

PUESTA EN MARCHA DEL EQUIPO:

Observar que el fotómetro esté conectado al compresor, al gas (mejor si es una garra-

fa ya que con gas natural pueden producirse variaciones de la presión) y que el tubo de drenaje esté en un recipiente con líquido ubicado en una posición inferior al fotómetro.

1. Abrir la llave de gas de la garrafa y del fotómetro.
2. Encender el equipo.
3. Encender la llama.
4. Sumergir el capilar plástico del nebulizador en agua destilada y verificar que hay ascenso del líquido, en caso contrario, limpiar con un alambre fino.
5. Verificar que haya una buena llama: azul, con conos bien definidos de 2 mm de altura y una llama total de 3 cm. Si los conos son altos, se separan del quemador, hay un tono rojizo o chispeo de puntas rojas, la llama no es correcta. Controlar la llama con la perilla de control. Así el equipo está listo para leer.

MEDICIÓN:

El equipo lee directamente en mEq/l diluciones 1/200.

Las diluciones se realizan con tensioactivo no iónico al 0,2 %.

1. Realizar diluciones 1/200 de sueros, orinas y standard (Na : 140 mEq/l, K : 5 mEq/l).
2. Realizar con las diluciones de la orina otra dilución 1 + 4 para determinación de K (el resultado obtenido se multiplicará por 5).

Se leen primero todos los Na y luego todos los K. Colocar la perilla en Na.

3. Nebulizar tensioactivo no iónico y llevar a cero.
4. Nebulizar la dilución del standard de Na y llevar a 140 con el ajuste de sensibilidad.
5. Leer un control de concentración conocida.
6. Leer todas las muestras de suero y orina.
7. Colocar el nebulizador en tensioactivo no iónico.
8. Colocar la perilla en K.
9. Llevar a cero.
10. Nebulizar la dilución del standard y llevar a 5 con el ajuste de sensibilidad.
11. Leer un control de concentración conocida.
12. Leer todas las muestras de suero y orina.

Para finalizar colocar el nebulizador con la dilución de tensioactivo 5 mín (LIMPIEZA). Apagar el equipo y cerrar el gas.

Trabajo Práctico N° 2

DEMOSTRACIÓN DE LOS FENÓMENOS CONTRÁCTILES

MIOGRAFÍA E INSCRIPCIONES QUIMOGRAFICAS

Serán utilizados batracios como modelos experimentales. Se sujeta un sapo por la columna vertebral por medio de una pinza formada de un lado por el pulgar y del otro lado por el índice y el medio. A continuación se introduce un objeto punzante en el canal vertebral (a través de la articulación occipito-atloidea) destruyendo la médula para insensibilizarlos, **DESMEDULACIÓN**. Se reconoce que la destrucción medular es completa porque al pellizcar la pata, el animal no reacciona, y porque no tiene movimientos voluntarios o involuntarios.

Se coloca el sapo sobre una tabla, de manera que la superficie ventral quede en la parte superior, sujetar las patas por medio de sendos alfileres y cortar su piel un centímetro por delante de la pelvis. Tomando la parte anterior del animal, se procede a retirar la piel hacia las extremidades posteriores, desnudando dichos miembros.

Se prepara el músculo gastrocnemio disecando y cortando a nivel del tendón de Aquiles y en la articulación fémoro-tibial (para poder retirar la tibia).

En la cara dorsal del muslo se disecciona el nervio ciático con una varilla de vidrio (no con elementos metálicos) la nicotina residual de los dedos de los fumadores también puede resultar dañoso para la preparación.

La pieza ósteo-muscular así obtenida es fijada al trípode del miógrafo por su extremo femoral mediante una pinza tipo morsa como se aprecia en la Figura N° 4. El otro extremo (tendón Aquileano) se ata por medio de un gancho o alambre conductor a una palanca que posee, en su extremo, una aguja inscriptora. Se regula la tensión del preparado hasta que el aguja que realizará la inscripción quimográfica queda en posición horizontal.

Se conecta luego uno de los cables provenientes del carrete inductor a la pinza morsa y otro a la base del soporte constituyendo así un sistema conductor. Se aproxima la aguja inscriptora al tambor del quimógrafo que está girando, y ya están dadas las condiciones para comenzar los distintos estímulos: térmicos (trocito de hielo y alambre calentado),

químicos (cristales de NaCl o NaOH), mecánicos (pinchazo, pellizcamiento) y eléctrico (bovina de Harvard) sobre el tejido muscular o aún mejor sobre el nervio ciático.

Las estimulaciones se traducirán en contracciones que la aguja inscriptora marcará sobre carbonilla de papel quimográfico. Las primeras serán más débiles (EFECTO TRE-PPE) y luego a estímulos de igual intensidad, las respuestas serán de la misma altura (intensidad).

Las descargas eléctricas (catódicas) producirán el acortamiento del músculo e inscribirán la correspondiente gráfica.

Partiendo de voltaje cero y aumentando poco a poco hasta obtener una contracción, quedará demostrada la existencia del “ESTÍMULO UMBRAL”.

Con aumento sucesivo de voltaje crecerá el número de unidades motoras en acción, y también la fuerza de contracción (“SUMACIÓN ESPACIAL”).

Haciendo pasar dos estímulos muy seguidos se observará que si el segundo cae en el “PERIODO REFRACTARIO ABSOLUTO” no hay respuesta.

Se puede provocar también una: “TETANIZACIÓN” mediante estimulaciones repetidas, acortando progresivamente los intervalos entre una y otra (mayor frecuencia), de manera que se vayan superponiendo las contracciones (“SUMACIÓN TEMPORAL”). Al cabo de poco tiempo se advertirá que la curva de “TETANIZACIÓN” cae lentamente pese a que continúa la estimulación (FATIGA).

BOBINA DE HARVARD

Será utilizada para estimular eléctricamente el músculo aislado del sapo.

Esta bobina de inducción es un generador de corriente alterna que consta de:

-Bobina primaria:

(Inductor) constituida por un alambre de cobre grueso aislado sobre un núcleo de hierro “dulce” que será atravesado por una corriente de gran intensidad y voltaje débil.

A la bobina de Harvard llega una tensión continua de 12 volts (a partir de un transformador 220-12 volts CC cuyo (+) se conectará al pusador servirá para abrir al circuito.

-Bobina secundaria:

(Inducido) constituida por un conductor largo y fino también aislado, de corriente de poca intensidad y alto voltaje.

Para que sobrevengan los fenómenos de inducción es preciso interrumpir la corriente de la bobina primaria, lo que se consigue por medio de un “interrupor de martillo” dispuesto entre la tensión de 12 volts y la bobina primaria.

Cuando se cierra el circuito, la corriente fluye por la bobina primaria y determina un fenómeno de inducción sobre la bobina secundaria, al mismo tiempo que se imana el núcleo de Fe dulce y atrae el “martillo” interrumpiendo la corriente y originándose una nueva inducción sobre la bobina secundaria.

El ciclo se repetirá todo el tiempo que se mantenga oprimido el pulsador. De la bobina

secundaria parten dos conductores de corriente alterna cuya intensidad dependerá de la distancia que medie entre ambas bobinas. Un conductor deberá conectarse al vástago del miógrafo y el otro a la aguja inscriptora (Figura N° 4). El vástago deberá estar perfectamente aislado del trípode de sostén muscular, para que funcione correctamente el circuito.

FENÓMENOS MUSCULARES PROVOCADOS POR DROGAS

CURARES (ALCALOIDES)

Son sustancias bloqueantes neuromusculares cuya acción se registra a nivel de la placa motora terminal.

La sobredosis produce muerte por anoxia. A los dos minutos se notará que el ratón se desplaza en forma incoordinada. Al levantarlo de la piel del lomo se notará gran flacidez. A los 4 o 5 minutos se establece la parálisis: el ratón cae en decúbito costal con temblores esporádicos y la muerte puede ocurrir en 15 a 20 minutos.

ESTRICNINA (ALCALOIDE)

Es estimulante de SNC, predominantemente a nivel de médula espinal, con efectos de tipo convulsivo.

La inyección de estriquina producirá en primer lugar un estado de hiperreflexia (respuesta exagerada a los estímulos, disminución del período latente de los reflejos y aumento de irradiación de los mismos de manera que responden mayor número de músculos que en estado normal). Luego sobreviene el período convulsivo, donde cualquier estímulo lleva a la contracción generalizada de todos los músculos, produciéndose convulsiones de tipo tónico-clónicas.

Por último se acentúan los fenómenos depresivos y la muerte puede ocurrir por asfixia (inactividad de los músculos intercostales y diafragma o depresión del centro respiratorio).

NICOTINA

Es un alcaloide derivado de la Nicotiana Tabacum que generalmente se presenta como sulfato. Es un gangliopléjico, o sea bloqueante de ganglios simpáticos y parasimpáticos y de la placa motora de los músculos esqueléticos. Primero estimula y luego deprime porque al unirse a los receptores postsinápticos bloquea la transmisión. A pequeñas dosis tiene acción similar a la acetilcolina estimulando la musculatura lisa.

A dosis alta estimula primero (convulsiones violentas) y luego deprime el SNC, paralizando lo músculos esqueléticos (parálisis descendente).

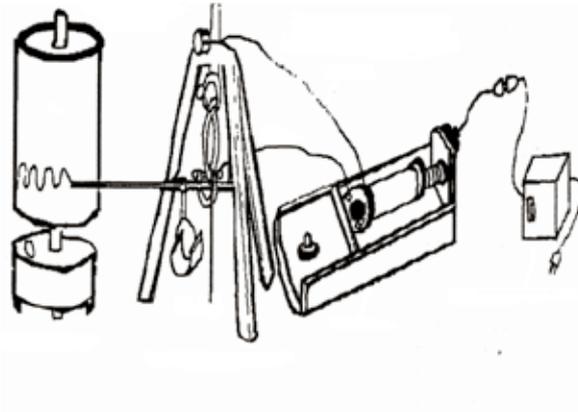


Figura 4.

PERFIL BIOQUÍMICO MUSCULAR

Conjunto de determinaciones de laboratorio planificadas para detectar bioquímicamente el estado del músculo esquelético (algunos parámetros serán comunes a la función del músculo cardíaco). Se aplica como ayuda diagnóstica en diversas miopatías y para evaluación de entrenamiento de atletas.

Entre las determinaciones más comunes se encuentran:

Metabolitos

- Glucosa
- Piruvato
- Lactato
- Creatinina

MACROELEMENTOS

- Potasio
- Calcio
- Fósforo inorgánico
- Magnesio

ENZIMAS

- Glutámico oxalacético transaminasa (GOT/ASAT/AST)
- Creatín fosfoquinasa (CPK/CK)
- Lactato dehidrogenasa (LDH)
- Colinesterasa (CHE/ACE)
- Aldolasa (ALD)
- Hidroxibutirato dehidrogenasa (HBDH)

Trabajo Práctico N° 3

PROPIEDADES DEL CORAZÓN

DEMOSTRACIÓN PRÁCTICA EN CORAZÓN DE BATRACIOS

A un sapo inmovilizado por desmedulación y descerebración se lo fija en decúbito supino sobre una planchuela de corcho sujetando las patas en posición divergente por medio de sendos alfileres.

Por medio de pinzas finas levantar la piel del abdomen y practicar un corte en la línea media, prolongándolo hasta la caja torácica. Levantar la parte correspondiente al apéndice xifoide y seccionar la pared a ambos lados del esternón dirigiendo la incisión hacia arriba y ligeramente hacia afuera. Seccionar ambas clavículas y doblar sobre ellas el bloque esternal obtenido. Se percibe el corazón que late envuelto en el pericardio.

Con cuidado, practicar una pequeña abertura a nivel de dicha envoltura y completarla luego de manera que se extienda desde la punta hasta la base del corazón. Descubierta el corazón, reclinar el ventrículo con pinzas de manera que la punta quede hacia arriba. Humedecer el órgano con una pequeña cantidad de solución de Ringer.

El corazón de sapo, a diferencia del de los mamíferos posee solamente tres cámaras: dos aurículas y un ventrículo. La sangre venosa procedente de la circulación periférica es vertida, por medio de las venas cavas, al denominado seno venoso que comunica directamente con la **aurícula derecha**. La sangre oxigenada procedente de los pulmones es vertida a la **aurícula izquierda** a través de las venas pulmonares. El seno venoso y la aurícula derecha, donde llega solamente sangre venosa, muestran un color más oscuro que la aurícula izquierda donde fluye sangre oxigenada.

Los impulsos se originan a nivel del seno venoso, donde se encuentra el marcapaso, propagándose luego al resto del corazón. En primer lugar, se contraen las dos aurículas, y después el **ventrículo** que propulsa sangre hacia el **cono arterial** que se divide enseguida en dos grandes troncos arteriales, la aorta derecha y la aorta izquierda.

El ventrículo único se presenta ancho y rojo durante la diástole y mucho más estrecho durante la sístole. Cuando ocurre la relajación puede observarse en el ventrículo dos zo-

nas, una de color oscuro y otra de color rojo claro (distinto grado de oxigenación de la hemoglobina), que dependen respectivamente de la sangre venosa y arterial, las cuales circulan sin mezclarse (Figura N° 5).

Determinar la frecuencia cardíaca contando el número de contracciones que realiza el corazón durante un minuto.

EL CARDIOGRAMA DE SUSPENSIÓN DE ENGELMANN

Se pinza la punta del corazón con un pequeño instrumento llamado serrafine que está atado a un hilo conductor, fijado por su otro extremo a una aguja inscriptora. El corazón debe quedar colgado, sin excesivo estiramiento y sus movimientos se transmiten a la aguja que los grafica en el papel ahumado de un quimógrafo.

Este sistema de registro se llama **CARDIOGRAMA DE SUSPENSIÓN** (Figura N° 6). Se puede así obtener el registro gráfico de la actividad cardíaca.

Se demostrarán las cuatro propiedades fundamentales de miocardio:

- EXCITABILIDAD
- CONDUCTIBILIDAD
- AUTOMATISMO
- CONTRACTILIDAD

EXCITABILIDAD:

a) Estímulos térmicos:

Si se enfría (varilla mantenida en contacto con hielo) o se calienta (varilla de vidrio calentada) el seno venoso o el ventrículo, se observará la disminución o el aumento de la frecuencia cardíaca respectivamente.

Esto se debe a aumentos o disminuciones de la permeabilidad de la membrana para los diferentes iones.

Añadir líquido de Ringer mantenido a 0°C a la preparación, empleando un cuentagotas, comprobar la frecuencia cardíaca y anotar el valor obtenido en la tabla adjunta. Dejar que la temperatura del corazón se equilibre con la del ambiente y determinar de nuevo la frecuencia cardíaca. A continuación agregar líquido de Ringer mantenido a 37°C observar la frecuencia cardíaca y anotar en la columna correspondiente.

Temperatura	0°C	Ambiente	37°C
Frecuencia			

b) Estímulos eléctricos:

Se coloca bajo el sapo una plancha metálica unida al polo negativo de un carrete o bobina de inducción (bobina de Harvard). El otro polo del carrete se une a cualquier parte metálica del soporte en el que está sujeta la aguja inscriptora.

Se registra en el quimógrafo durante un momento la actividad del corazón. Se envían corrientes buscando que los estímulos caigan durante la sístole normal. Se observa que el corazón sigue contrayéndose igual que antes (despolarización) **-PERIODO REFRACTARIO ABSOLUTO**. Se envían estímulos que caigan lejos de la sístole normal (segunda mitad de la diástole).

Se observan contracciones cardíacas fuera de ritmo - **PERIODO REFRACTARIO RELATIVO**, que se denomina extrasístoles.

c) Estímulos humorales:

Se instila el corazón con gotas de acetilcolina al 1% y se observa la disminución de la frecuencia cardíaca (el efecto es más rápido si se inyecta vía intrahepática).

Si se inyecta o instila solución de adrenalina al 1% el corazón vuelve a latir o aumentar su frecuencia.

AUTOMATISMO:

Se trabaja con corazón de sapo aislado: se secciona los vasos sanguíneos a 1 cm de distancia del órgano. Se lo coloca sobre una cápsula de Petri que contiene líquido de Ringer, y se esperan unos minutos para que el órgano se recupere.

Determinar la frecuencia cardíaca.

AUTOMATISMO Y CONDUCTIBILIDAD:

Se efectúan las denominadas **-LIGADURAS DE STANNIUS-**, que tienen por objeto bloquear los impulsos que viajan a través del sistema exito-conductor (mediante presión ejercida por un hilo).

En un corazón de sapo aislado y mantenido en una cápsula de Petri con solución Ringer se llevan a cabo tres ligaduras.

La primera ligadura se realiza a nivel del límite entre el seno venoso y las aurículas. Separa funcionalmente el seno venoso con sus contracciones normales, de las aurículas y ventrículo que cesan de contraerse.

La segunda, entre aurículas y ventrículo, disocia las contracciones de seno venoso y aurículas (frecuencia normal) de las de ventrículo (frecuencia baja). Las dos anteriores efectuadas simultáneamente, constituyen la tercera (Figura N° 7); se observan contracciones rítmicas en el seno venoso y el ventrículo, en tanto que las aurículas continúan detenidas.

CONTRACTILIDAD:

A un corazón de sapo con la primera ligadura de Stannius, se lo excita (cada 30"-1') con choques de corriente inducida cuya intensidad se va aumentando cada vez a partir de un estímulo muy débil. Se observa respuesta contráctil cuando se ha alcanzado el umbral de excitabilidad (contracción máxima).

Si se aplican estímulos supraumbrales el corazón responde con iguales contracciones máximas (**LEY DE TODO O NADA**).

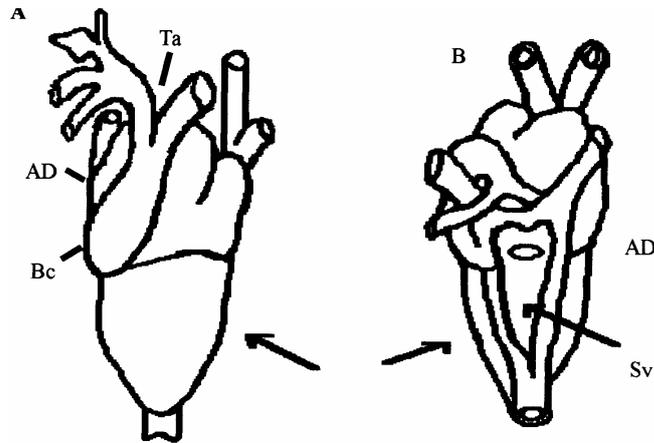


Figura 5. Esquema del corazón de rana. A- Cara anterior, B- Cara posterior, AD=Aurícula Derecha, Bc= Bulbo Cardíaco, Ta= Tronco arterial, SV= Seno Venoso

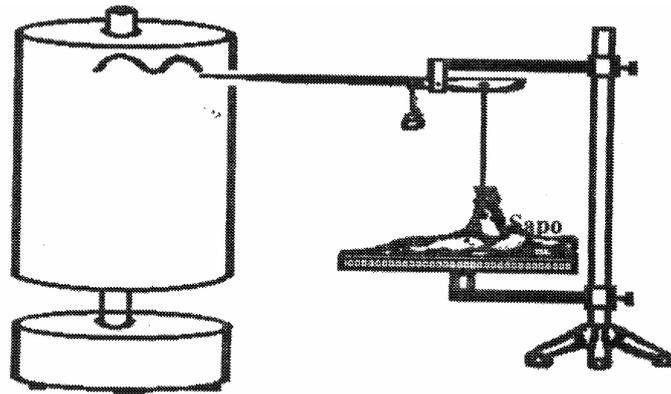


Figura 6. Cardiograma de Engelmann.

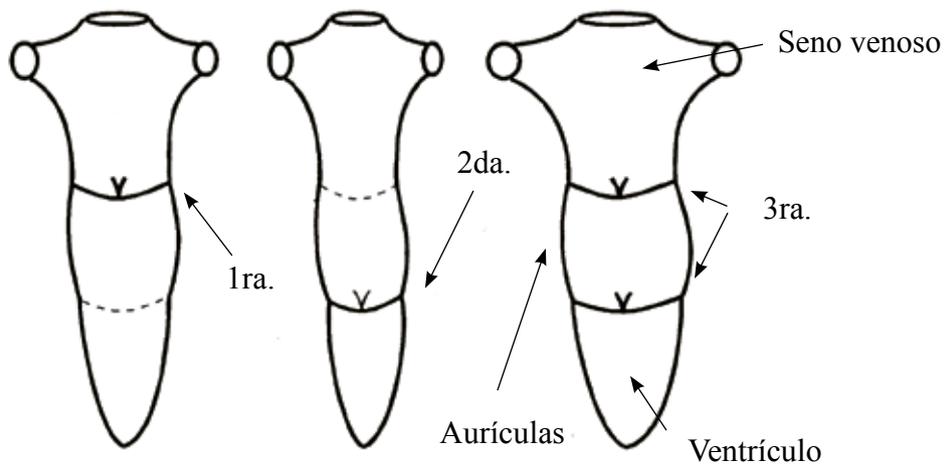


Figura 7. Ligaduras de Stannius.

PRIMER COLOQUIO

1) Toda alteración en la distribución del agua corporal se inicia por las modificaciones de las condiciones extracelulares, ya sea ganancia o pérdida de agua o de solutos lo que ocasiona movimiento osmótico del agua entre los compartimientos intra y extracelular.

Las alteraciones en la distribución de los líquidos corporales se clasifican tomando en cuenta el volumen y la osmolaridad del líquido extracelular.

Completar (\uparrow , \downarrow , \leftrightarrow) el siguiente cuadro de alteraciones del agua y electrolitos.

Tipo	Vol LEC	Na sérico	Osmolalidad sérica	Ejemplos
Contracción isotónica				Diarreas. Diuréticos.
Expansión isotónica				Insuf. cardíaca. Cirrosis Nefrosis.
Contracción Hipotónica				Enfermedad de Addison.
Expansión Hipotónica				Síndrome de secrec. inadec. de ADH.
Contracción Hipertónica				Sudoración severa. Diabetes. Ingesta insuficiente de líquidos.
Expansión Hipertónica				Ingestión de grandes cantidades de NaCl.

2)Cuál es la osmolaridad de una solución que contiene 180 mg/dl de glucosa?

3) Completar la frase según corresponda:

a. Una solución de NaCl 300 mOsm/L es isosmótica respecto al líquido intracelular de los eritrocitos, que por ende, tiene también una osmolaridad de _____ mOsm/L.

b. Eritrocitos colocados en una solución isotónica no se retraen ni expanden, esta solución isosmótica es también _____.

c. Una solución 300 mOsm/L es isosmótica con respecto al líquido intracelular de eritrocitos normales; al colocar eritrocitos en esta solución se expanden y luego se _____

Por ello, la solución no es isotónica, es _____

4) Un niño de 3 meses de edad ingresa al hospital luego de varias horas con diarrea y vómitos. Se le toma una muestra de sangre y se analizan las concentraciones de Na⁺, K⁺, urea y glucosa. Los resultados son:

Na⁺ = 153 mEq /L (normal: 140 mEq/L)
K⁺ = 4,0 mEq /L (normal: 4,5 mEq/L)
Urea = 32 mg /dL (normal: 30 mg/dL)
Glucosa = 100 mg /dL (normal: 100 mg/dL)

Calcular la osmolalidad plasmática.

5) Calcular la osmolaridad de la solución conocida como “Ringer-lactato” o solución de Hartmann

Su composición es:

NaCl0,60 g
KCl0,03 g
CaCl₂0,02 g
Lactato de Na0,31 g
Agua para iny. csp100 mL

6) En la emergencia de un hospital se recibe a un paciente, referido de otro centro, con signos de deshidratación, relatando que tuvo vómitos y diarrea por cuatro días, de las que fue tratado con soluciones endovenosas. El médico interno solicita un análisis de electrolitos, urea y glucosa en plasma y el resultado es el siguiente:

Na⁺158 mEq/L
K⁺2 mEq/L
Glucosa100 mg/dL
Urea30 mg/dL
Osmolalidad247 mOsm/L

El médico, al recibir este informe, se dirige al laboratorio y le dice al laboratorista de turno que su análisis está equivocado, ya que la osmolalidad del plasma de este paciente nunca podría ser inferior a

a)mOsm/kg

El bioanalista le señala que puede tener razón, pero que quizás lo que está equivocado es el

Na⁺, ya que con esa osmolalidad el Na⁺ debería ser de:

b)mEq/L

Mientras en el laboratorio se dedican a repetir el análisis, el médico vuelve a su paciente, preocupado por la cifra tan baja de K⁺ en plasma. En ese momento llegan los nuevos datos de laboratorio:

PLASMA: Na⁺ = 156 mEq /L; Osm = 330 mOsm /L. ¿Considera que estos valores están correctos?

7) Para determinar la volemia (volumen total de sangre) se le inyectan a un paciente 2,45 g de Azul de Evans. Después de 15 minutos, se le toma una muestra de sangre y se encuentra una concentración de 0,875 mg/mL y un hematocrito del 47%.

La VOLEMIA de este paciente es de:

- a) 2800 mL
- b) 2143 mL
- c) 3571 mL
- d) 5283 mL
- e) 5090 mL

8) Un marino ha naufragado en el océano y no tiene agua para beber, inicialmente este náufrago tiene una pérdida de 2 l de líquido sin pérdida de soluto.

- a) ¿Cuál es la situación de los líquidos corporales del náufrago en ese momento?
- b) El náufrago no resiste más la sed y decide tomar agua de mar, 500 ml de agua con una osmolaridad de 1000 mOsmoles/l, ¿cómo se encuentran ahora los líquidos corporales del náufrago?
- c) ¿qué cantidad de agua necesita ingerir el náufrago para tener una osmolaridad normal de 300 mOsmoles/l?

SEGUNDO COLOQUIO

1) En una célula, las concentraciones intra y extracelulares de Na⁺, K⁺ y Cl⁻ son (en mM):

	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻
Intracelular	10	150	6
Extracelular	140	5	150

Las permeabilidades relativas son $P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0,01 : 0,1$

Calcule el valor del potencial de equilibrio para cada ión y el potencial de membrana. Razone si están o no en equilibrio y en que dirección tendería a suceder difusión neta de los iones

2) Cuales son los efectos sobre el potencial de membrana de:

- Un aumento de [K⁺] extracelular a 10 mM.
- Un aumento de 10 veces de PK
- Un aumento de 10 veces de PNa
- Un aumento de 1000 veces de PNa
- Un aumento de 10 veces de PCl
- Un aumento simultaneo de 10 veces de PNa y PCl. Compare este último con los casos c) y e).

3) Si se inhibe la bomba de Na⁺: K⁺:

- ¿Cambiarán las concentraciones intracelulares de K⁺ y Na⁺? ¿Y las extracelulares?
- ¿Cambiará el potencial de membrana?
- ¿Cambiará la concentración de Cl⁻ intracelular?
- ¿Se modificará el volumen celular?

En cada caso, discuta lo que ocurre de forma inmediata (< 1 minuto) y lo que sucede a largo plazo.

4) Explique sinapsis neuromuscular.

5) Realice una gráfica del potencial de acción para músculo cardíaco y esquelético. Nombrar los períodos refractarios (ubicarlos). Justifique.

6) Definir fuente de calcio (Ca) para el proceso exitocontractil en músculo esquelético. Comparar con músculo cardíaco.

7) Explique el efecto de los Sistemas Simpático y Parasimpático sobre las propiedades del corazón:

Cronotrópica

Inotrópica.

8) Completar el siguiente cuadro.

Efecto de los iones sobre la actividad cardíaca

Opciones: a) aumento (hacia valores positivos), b) disminuye (hacia valores negativos), c) más rápido, d) más lento.

	Er respuesta rápida	Er respuesta lenta	PA respuesta rápida	PA respuesta lenta
↑Na				
↓Na				
↑Ca				
↓Ca				
↑K				
↓K				

AUTOEVALUACION

1. Bioseguridad: definición. Como prepara la lavandina al 1 %.
2. Identificar los compartimentos líquidos y sus proporciones.
3. ¿Qué separa a los distintos compartimientos?
4. ¿Cuáles son las variaciones fisiológicas? ¿A qué se deben?
5. Método de dilución. Condiciones de las sustancias.
6. Método de dilución. Sustancias para cada compartimiento. Errores que se cometen.
7. Determinación del volumen sanguíneo con el hematocrito.
8. Definición de ósmosis. ¿De qué depende?
9. Calcule la osmolalidad de una solución 0,85 % de cloruro sódico.
10. Diferencia entre osmolalidad y tonicidad.
11. ¿Los líquidos orgánicos son isosmóticos? ¿A qué se debe la ligera diferencia entre la osmolalidad plasmática y la de los líquidos intersticial e intracelular
12. ¿Qué sucede cuando se enfrentan las células sanguíneas a:
 - solución de cloruro de sodio hipotónica
 - solución de cloruro de sodio hipertónica
 - solución de glucosa isotónica
13. Analice la Figura 25-6 pág. 300 de Guyton 11ª. Ed. ¿qué sucede con el volumen y la osmolalidad de los líquidos extracelular e intracelular cuando se le agrega 2 litros de cloruro de sodio 2,9 %?
14. ATPasa Na/K. Constituyentes, función. ¿Dónde está localizada?
15. ATPasa Na/K: ¿por qué se denomina electrógena?
16. ¿Cuál es el origen del potencial de membrana en reposo en músculo esquelético?
17. Potencial de acción: definición. Períodos.
18. Potencial de acción. Cambios iónicos.
19. Períodos refractarios: definición. ¿por qué se producen?
20. Unión neuromuscular. Constituyentes.
21. Unión neuromuscular: ¿dónde se sintetiza la acetilcolina? ¿Cómo se libera? ¿Cómo se inactiva?
22. ¿Qué efecto tiene sobre músculo esquelético :
 - variaciones en la concentración de potasio
 - variaciones en la concentración de calcio?
23. Potencial de membrana en reposo en músculo cardíaco. Diferencia en fibras rápidas y lentas
24. Potenciales de acción en músculo cardíaco.
25. Diferencias en PMR, duración del potencial de acción, velocidad de conducción y tiempo de la contracción entre nervio, músculo esquelético y músculo cardíaco.
26. ¿Por qué las aurículas se contraen antes que los ventrículos?
27. Nodo sinusal: características. Ubicación. Función

28. Característica de las vías internodales.
29. Nodo auriculoventricular: características. Ubicación. Función.
30. ¿Dónde y por qué se produce retraso en la conducción?
31. Características de las fibras de Purkinje.
32. ¿Cuál es el marcapaso? ¿Existen otros?
33. Efecto del sistema simpático sobre el corazón.
34. Efectos del sistema parasimpático sobre el corazón.
35. ¿Qué efecto tiene sobre el músculo cardíaco :
 - variaciones en la concentración de potasio
 - variaciones en la concentración de calcio?

Trabajo Práctico N° 4

FISIOLOGÍA CIRCULATORIA

AUSCULTACIÓN DE RUIDOS CARDÍACOS

Las manifestaciones sonoras de la actividad cardíaca pueden ser reconocidas por la auscultación (percepción de ruidos procedente del cuerpo) de la región precordial. Los focos clásicos (FIGURA N° 8) de auscultación para las cuatro válvulas del corazón (que no se hallan precisamente encima de la misma) son:

- área o zona aórtica: a nivel del segundo espacio intercostal derecho.
- área o zona pulmonar: a nivel del segundo espacio intercostal izquierdo.
- área o zona mitral: a nivel de la punta del corazón.
- área o zona tricúspide: a nivel del apéndice xifoide del esternón.

La percepción de los ruidos se efectúa con estetoscopios o aparatos ultrasónicos.

ESTETOSCOPIO

En uno de sus extremos posee dos olivas (que se adaptan al oído) sostenidas por dos vástagos rígidos y huecos. Los vástagos están unidos entre si por una pieza articulada o elástica, que sirve para modificar la posición de las olivas. El extremo receptor consta de una membrana, diafragma (refuerza las respuestas de frecuencias altas) y/o un receptor de campana (recoge sonidos de baja frecuencia).

Dicho receptor se aplicará sobre el área cardíaca de proyección del corazón sobre la pared torácica. Ambos extremos están unidos por un juego de tubo de goma cuya longitud es inversamente proporcional a la nitidez del sonido.

APARATOS ULTRASÓNICOS

Se basan en el efecto Doppler: las ondas captadas por un receptor situado en el mismo punto que el emisor cambian su frecuencia cuando son reflejadas por una superficie en movimiento.

Este cambio puede ser transformado electrónicamente en señales sonoras (auscultador fetal) o luminosas (ecógrafo).

El aparato, alimentado con corriente domiciliaria o de batería, posee una salida para cabezal que contiene el emisor-receptor de ondas ultrasónicas. Este debe ser aplicado sobre la piel previamente untada con glicerina o vaselina. Un parlante permite escuchar la traducción de los ultrasonidos.

A través de éste efecto se puede “oír” o “ver” los movimientos del corazón fetal. Tiene aplicabilidad a las 11-12 semanas de embarazo (auscultador fetal). La ecografía es útil ya desde la 7ª semana de gestación.

Se auscultan los ruidos cardíacos con estetoscopio, de acuerdo a las zonas indicadas.

PULSO ARTERIAL

Sensación de expansión experimentada periódicamente al comprimir con el pulpejo de los dedos una arteria superficial contra un plano resistente debido a la llegada al dedo explorador de una onda de presión, determinada por la expulsión de sangre durante la sístole ventricular y propagada a lo largo del árbol arterial.

Para el enjuiciamiento crítico del estado del sistema circulatorio se utiliza, entre otras cosas, el control del pulso.

PROCEDIMIENTO:

Se palpa la arteria radial (la más utilizada), con el pulpejo de los dedos y se aprecia la onda pulsátil. Determinar la cantidad de pulsaciones por minuto (frecuencia).

PRESIÓN ARTERIAL: MÉTODOS DE MEDICIÓN

La presión arterial puede ser definida como la fuerza ejercida por la sangre sobre las paredes de las arterias.

Como la inserción de una cánula en una arteria no resulta práctica (método directo), se han creado métodos indirectos para determinar la presión arterial: palpatorio, auscultatorio y oscilatorio. Este último se ha dejado de utilizar por ser muy poco preciso.

El instrumento adoptado para medir indirectamente la presión arterial es el esfigmomanómetro: se funda en equilibrar con presión de aire la presión sanguínea y estimar la primera con una columna de mercurio (esfigmomanómetro de mercurio), o con un

manómetro anerode (esfigmomanómetro de tipo anerode), previamente calibrado con mercurio.

PROCEDIMIENTO

A-Método auscultatorio (Korotkow) (FIGURA N° 9)

1. El individuo debe estar sentado tranquilamente, con la espalda apoyada y el brazo sostenido en posición horizontal a nivel cardíaco, durante 5 min.
2. Por palpación, localizar la arteria braquial (encima del pliegue del codo).
3. Colocar el manguito (completamente desinflado) en el brazo, observando que su borde inferior se encuentre a 2,5 cm. del espacio antecubital, y que la cámara que posee este, esté ubicada sobre la cara anterointerna del brazo (arteria braquial).
El manguito debe ajustarse al brazo de manera uniforme, sin apretar.
4. Colocar la membrana del estetoscopio sobre la arteria localizada. Esta no debe estar en contacto con el manguito de compresión ni con el vestido del sujeto.
5. Insuflar aire en el manguito hasta alcanzar una presión de 20 mm Hg por encima de la sistólica, lo que se reconoce por la desaparición del pulso radial.
6. Desinflar el manguito gradualmente (3 mm Hg por seg) abriendo la válvula de la fuente de presión.
7. Registrar la presión (observada en el manómetro) en la que se oyen por primera vez los sonidos (Korotkow fase I) como presión sistólica (P.A.S).
8. Registrar la desaparición de los ruidos (Korotkow fase V) como presión diastólica (P.A.D).
9. Desinflar el manguito completamente para aliviar la congestión en el antebrazo y repetir el procedimiento.
10. Si las lecturas varían en más de 5 mm de Hg, efectuar otras determinaciones hasta obtener dos similares.

Fuentes de error al tomar la presión arterial

1. Equipo defectuoso.
 - a. Brazal muy pequeño para el tamaño del brazo.
 - b. Manómetro defectuoso.
2. Lectura imprecisa.
 - a. Colocación incorrecta del brazal.
 - b. Uso de valores erróneos: - pasar por alto el hueco de auscultación
– confusión entre el uso del debilitamiento y la desaparición del sonido como criterio de presión diastólica (usar último criterio).
 - c. Variaciones debidas a arritmias.
 - d. Posición del brazo, que debe situarse a nivel del corazón.
3. Prejuicio del observador que basa su apreciación en lecturas únicas.
4. Cambio de brazo entre una determinación y otra.

B- Método palpatorio (Riva- Rocci)

1. Ídem A-1.
2. Palpar la arteria radial.
3. Ídem A-3.
4. No se utiliza estetoscopio.
5. Insuflar aire en el manguito hasta que la presión en su interior alcance los 170 -180 mm de Hg o, en general, un valor de aproximadamente 20 mm de Hg superior a aquel en el que se observa la desaparición del pulso.
6. Ídem A-6.
7. En el momento en que se percibe la primera pulsación a nivel de la arteria radial, se observa el valor de la presión sistólica o máxima.
8. Este método no es adecuado para determinar la P.A.D.
9. Ídem A-9.

Este método proporciona valores bajos de P.A.S. (5 a 10 mm de Hg).

Anotar los valores correspondientes en la siguiente tabla.

Presión arterial	Por palpación	Por auscultación
Presión sistólica		
Presión diastólica		
Presión diferencial		
Presión media funcional		

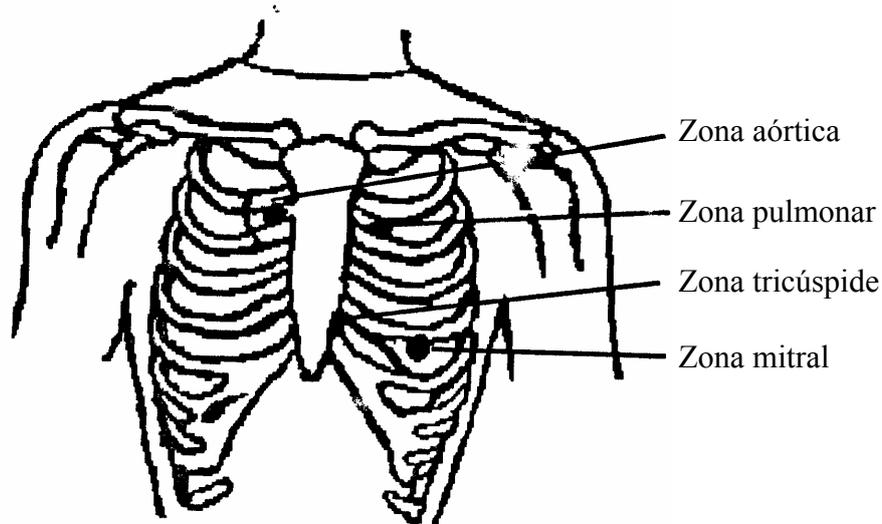


Figura 8. Zonas de auscultación de los ruidos cardíacos.

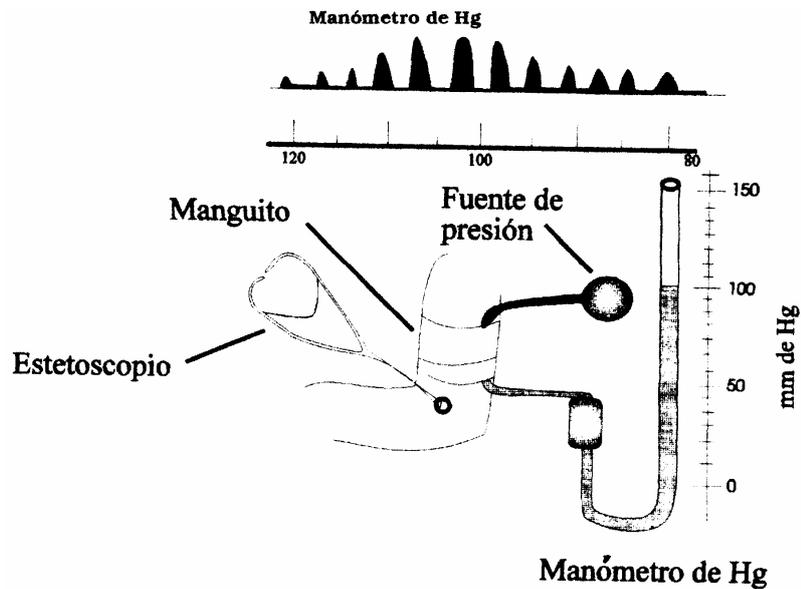


Figura 9. Método de auscultación para medir la presión arterial.

VARIACIONES FISIOLÓGICAS DE LA PRESIÓN ARTERIAL

1- EFECTOS DE LA POSTURA

Procediendo de la manera previamente descrita (método auscultatorio), determinar la presión arterial en uno de los compañeros situado en dos posiciones distintas: en decúbito supino y de pie. Determinar la frecuencia del pulso.

Presión arterial	Decúbito supino	De pie
Presión sistólica		
Presión diastólica		
Presión diferencial		
Frecuencia del pulso		

2- EFECTOS DEL EJERCICIO

Medir la presión arterial en un compañero que permanece en reposo y en posición de decúbito supino. Repetir la determinación después de que el sujeto ha realizado unos veinte ejercicios de flexión del tronco sobre el abdomen. Determinar la frecuencia del pulso. Anotar los valores obtenidos en la siguiente tabla:

Presión arterial	En reposo	Después del ejercicio
Presión sistólica		
Presión diastólica		
Presión diferencial		
Frecuencia del pulso		

CONSTRUCCIÓN DE LA CURVA DE PRESIÓN

- 1- Medir la P.A.S. y P.A.D. promedio por el método auscultatorio.
- 2- Determinar la frecuencia cardíaca.
- 3- Graficar P.A.(mm de Hg.) en función del tiempo (seg.) con los datos obtenidos.

PERFIL BIOQUÍMICO VASCULAR

Comprende una serie de determinaciones de utilidad para detectar bioquímicamente el estado del sistema cardiovascular y para prevención y diagnóstico de sus alteraciones.

Las determinaciones bioquímicas, junto al resto de las pruebas complementarias (ECG, radiología, angiografía, endoscopia, fonocardiografía) y al examen clínico (semiología), permiten el diagnóstico y control del paciente.

Los parámetros que se incluyen son:

ENZIMAS	LÍPIDOS
CPK	COLESTEROL
GOT	TRIGLICERIDOS
LDH	FOSFOLIPIDOS
ALD	LIPOPROTEINAS
HBDH	

MEDIO INTERNO: K, HCO₃, pH, pCO₂, pO₂.

HORMONAS: catecolaminas, aldosterona, renina, etc.

Trabajo Práctico N° 5

FISIOLOGÍA RENAL (primera parte)

PRUEBAS DE LA FUNCIÓN RENAL

Dentro de las pruebas de la función renal se incluyen:

1. Pruebas de:
 - a. dilución (guía N° 6);
 - b. concentración (guía N° 6).

Ambas exploran la resorción tubular.

2. Prueba de la F.S.F. (Fenol Sulfon Ftaleína).
Explora la secreción tubular.

3. Pruebas de las depuraciones o clearance:
 - a. de inulina;
 - b. de creatinina endógena;
 - c. de ác. p-aminohipúrico (PAH);
 - d. de urea.

a) y b) son índices de filtración glomerular.

c) es un índice de secreción tubular.

d) es un índice de reabsorción tubular parcial.

DEPURACIÓN O CLEARANCE DE UREA (DU)

1. Se toma talla y peso para calcular la superficie corporal por la tabla de Dubois.
2. Se procede a vaciar la vejiga por micción espontánea y se desecha esta orina.
3. Se procede a recoger orina durante 24 horas (ver guía número 1).

4. Se obtiene una muestra de sangre en cualquier momento de la prueba.
5. En las dos muestras (orina y sangre) se determina urea.

CÁLCULOS:

La determinación varía en relación al volumen minuto urinario.

- a. Cuando es mayor de 2 ml /min, la fórmula es:

$$DU : \frac{OxV}{P} \times \frac{1.73}{S} = ml / min$$

O = concentración de urea en orina (mg/dl).

V = volumen minuto urinario (ml/min).

P = concentración de urea en plasma (mg/dl).

S = Superficie corporal. Se calcula según la tabla de Dubois (ver apéndice –Tabla 2)

1,73 = valor de la superficie corporal standard en m².

- b. Cuando es menor de 2 ml/min.

$$DU : \frac{Ox\sqrt{V}}{P} \times \frac{1.73}{S} = ml / min$$

VALORES DE REFERENCIA:

- a. Adultos: 64-99 ml/min por 1,73 m²
- b. Adultos: 41-65 ml/min por 1,73 m²

A los efectos del trabajo práctico se sigue la siguiente técnica:

Se hace vaciar la vejiga de un alumno (y se desecha) y se le hace ingerir 300 ml de agua, a la hora se le hace vaciar nuevamente la vejiga y se mide el volumen (V). Se reserva una pequeña cantidad para determinar la concentración de urea en orina: O (ver apéndice).

En ese momento se extrae sangre para determinar urea en suero: P (ver apéndice).

Con el valor V calcular el volumen minuto.

DEPURACIÓN O CLEARANCE DE CREATININA ENDÓGENA (DCE)

1. Se determina la superficie corporal mediante la tabla de Dubois.
2. Se recolecta orina de 24 hs (ver guía N° 1).
3. La toma de sangre puede efectuarse en cualquier momento de la prueba.
4. Se determina creatinina en suero (P) y en orina (O).

Cálculos:

$$DCE : \frac{OxV}{P} \times \frac{1.73}{S}$$

VALORES DE REFERENCIA:

80-140 ml/min por 1,73 m² (adultos hasta 60 años). Valor promedio: 125 ml/min.

En el trabajo práctico se realizará de la siguiente manera:

Se hace vaciar la vejiga de un alumno (la cual se desecha) y se le pide que ingiera 300 ml de agua. Transcurridas 2 hs. se le hace evacuar totalmente la vejiga, se recolecta la orina y se mide el volumen. Diluir la muestra 1/20. Se determina creatinina en orina (ver apéndice). Se extrae sangre en cualquier momento de la prueba y se determina creatinina en suero (ver apéndice).

Apendice

UREA: Método enzimático (ureasa).

FUNDAMENTO DEL MÉTODO:

Urea Ureasa $\text{CO}_2 + \text{NH}_3$

$\text{NH}_3 + \text{fenol} + \text{NaClO} \xrightarrow{\text{HO}^-}$ azul de indofenol.

Se determina colorimétricamente a 540 nm.

a) Determinación en sangre:

Valores de referencia: 0,20 a 0,40 g/l.

Muestra: Suero o plasma con anticoagulante (EDTA).

Técnica:

	B	S	D
Standard		20ul	
Muestra			20 ul
Ureasa	1 gota	1 gota	1 gota
Mezclar por agitación suave e incubar 5'-37°C			
Reactivo 1	1 ml	1 ml	1 ml
Reactivo 2	1 ml	1 ml	1 ml
Mezclar por agitación suave e incubar 5 min-37°C			
AD	10 ml	10 ml	10 ml

Mezclar por inversión. Después de 10 min leer en espectrofotómetro a 540 nm. El color es estable hasta 12 h.

Reactivo 1: fenol + nitroferriicianuro de sodio + etilén-bis-ditiocarbamatomangano.

Reactivo 2: NaClO + p-toluensulfoncloramida en NaOH.

Standard: 0,60 g/l de urea.

CÁLCULOS:

$$\text{Urea (g/l)} = D \times f \quad f = \frac{0,60\text{g/l}}{S}$$

B) DETERMINACIÓN EN ORINA

Valores de referencia: 20-30 g/24 hs.

Se sigue la misma técnica que para sangre utilizando orina diluida con agua o SF. Se diluye según el esquema siguiente:

Densidad hasta 1015 dilución 1/10

Densidad 1016-1025 dilución 1/20

Densidad mayor 1025 dilución 1/40

Blanco de orina (BD) como la orina contiene cantidades variables de amoníaco se debe efectuar un blanco de orina. Entre el reactivo 1 y el reactivo 2 se agregan 20 ul de la dilución de orina.

Cálculo:

$$\text{urea (g/l)} = (D - BD) \times \frac{0,60}{S} \times \text{dilución}$$

Para expresar en g/24h se multiplica urea en g/l x V

V = diuresis de 24 hs

CREATININA: Método de Jaffé

FUNDAMENTO DEL MÉTODO:

Creatinina + ác. pícrico glicina/NaOH ----- cromógeno que se mide a 510 nm.

A) DETERMINACIÓN EN SANGRE:

Valores de referencia: 8-14 mg/l

Muestra: suero

Técnica:

En un frasco de vidrio color caramelo, mezclar partes iguales de ácido pícrico y tampón (NaOH). Conservar a temperatura ambiente, protegido de la luz.

Condiciones de la reacción: Temperatura 25 °C

Long.de onda 490-510 nm

	Standard	Desconocido
Reactivo premezclado	1 ml	1 ml
Standard	0,2 ml	-----
Muestra	-----	0,2 ml

Mezclar inmediatamente. Simultáneamente disparar el cronómetro. A los 30 seg exactos registrar la lectura S1 y D1. A los 5 min. registrar las lectura S2 y D2.

Standard: solución de creatinina 20 mg / l

Cálculos:

$$\text{Creatinina mg/l} = \frac{D_2 - D_1}{S_2 - S_1} \times 20$$

B) DETERMINACIÓN EN ORINA:

Valores de referencia: 0,9 - 1,5 g/24 hs.

Muestra: orina diluída 1:20.

Técnica:

Ídem suero

Cálculos:

Creatinina mg/l x 20 x dilución

Si la muestra de orina fuera de 24 hs:

$$\text{Creatinina g/24 hs} = \frac{D_2 - D_1}{S_2 - S_1} \times 0,020 \times \text{dilución} \times V$$

V = diuresis expresada en litros/24 hs.

Cálculo del clearance de creatinina con muestra de orina de 24 hs

$$\text{DCE ml/min} = \frac{\text{Creatinina en orina gr/24 hs} \times 694 \times 1,73}{\text{Creatinina en suero mg/l} \quad S}$$

$$694 \text{ ml/min} = \frac{\text{gr/24 hs}}{\text{mg/l}} = \frac{1000 \text{ mg} / 1000 \text{ ml}}{1 \text{ mg} / 1440 \text{ min}} = \frac{1000000 \text{ ml}}{1440 \text{ min}}$$

$$\text{DCE ml/min} = \frac{\text{Creatinina en orina mg/l} \times V \times 1,73}{\text{Creatinina en suero mg/l} \quad S}$$

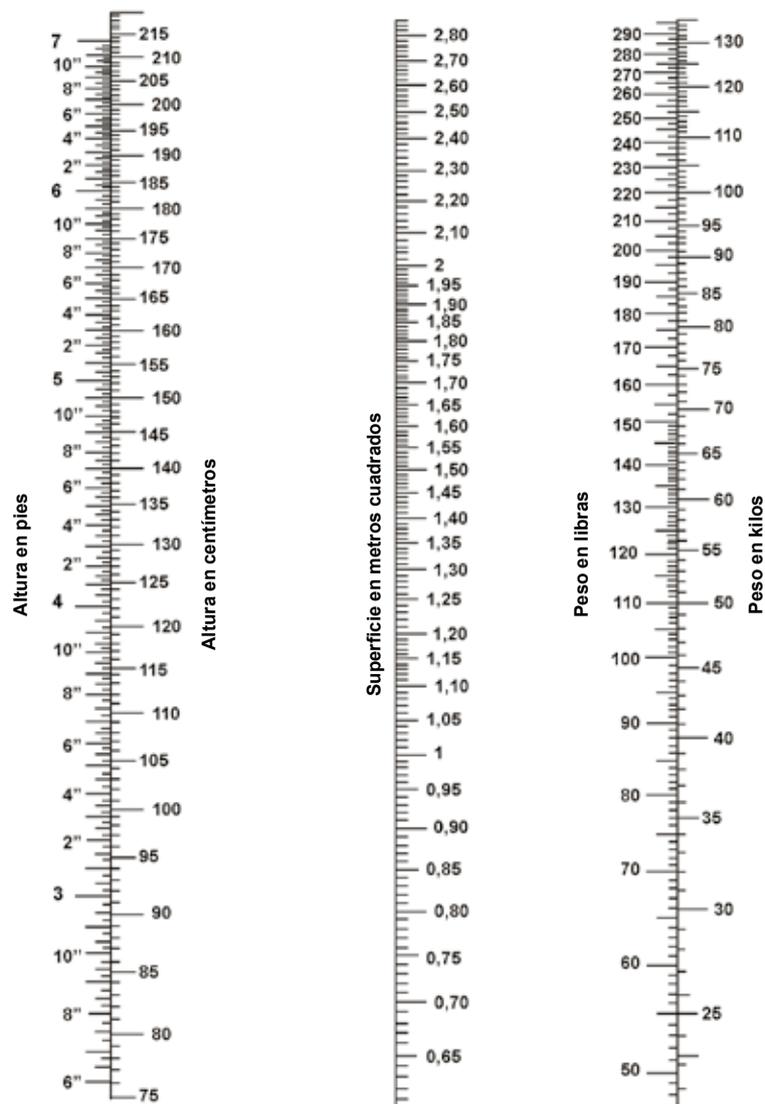


Tabla 2. Tabla Dubois de la superficie del cuerpo.

Trabajo Práctico N° 6

FISIOLOGÍA RENAL (segunda parte)

PRUEBAS DE LA FUNCIÓN RENAL

PRUEBA DE DILUCIÓN (TÉCNICA DE VOLHARD)

1. Con ayuno de 12 hs, se procede a vaciar la vejiga (desechando ésta muestra).
2. Se ingiere 1,00 -1,50 litros de agua en 30 minutos.
3. Se recoge la orina durante 4 hs, en intervalos de 30 minutos, en recipientes separados.
4. Se mide la densidad y el volumen.

RESULTADOS:

Se confecciona un gráfico con la representación de las curvas de volumen y densidad en función del tiempo.

Las personas sometidas a la prueba, excretan un volumen total de orina de 1500 ± 300 ml, aún cuando el volumen de cada muestra puede ser muy variable. Las densidades de las muestras son casi siempre bajas y pueden llegar a 1,002 mg/l.

A los fines del trabajo práctico se modifica la técnica de la siguiente manera:

Un alumno evacua su vejiga, eliminándola. Luego ingiere 1000 ml de agua en media hora, a partir de este momento se recoge la orina cada media hora durante 2 hs, midiendo el volumen y la densidad de cada muestra.

PRUEBA DE CONCENTRACIÓN (TÉCNICA DE VOLHARD)

1. Se suspende la ingesta de líquidos después de la cena del día anterior al ensayo.
2. Se procede a vaciar la vejiga a las 8 hs del día del ensayo, descartando esta

muestra.

3. Se realiza una dieta tan excenta de líquidos como sea posible, evitando todas las bebidas y frutas (mientras dure el ensayo).
4. Se recoge la orina de un período de 4 hs.
5. Se determina volumen y densidad.

RESULTADOS:

El volumen urinario resulta pequeño y depende de la cantidad de líquido que tiene la dieta, pero su densidad aumenta y casi siempre supera a 1,030 mg/l.

A los fines del trabajo práctico se modifica la técnica anterior:

Un alumno que no haya ingerido mucho líquido en las últimas horas evacua la vejiga (se desecha ésta muestra). A partir de ese momento se recoge la orina cada media hora durante 2 hs, midiendo volumen y densidad de cada muestra.

EFFECTO DE DIVERSAS SITUACIONES FUNCIONALES SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA FUNCIÓN RENAL

TÉCNICA:

Es conveniente dejar de ingerir alimentos o bebidas 2 hs antes de iniciar la prueba.

Se requieren tres alumnos para realizar el experimento:

1. Debe ingerir 10 ml de agua/kg de peso y además 50 ml de whisky.
2. Debe ingerir 10 ml de agua/kg de peso y después fumar un cigarrillo cada 30min.
3. Debe realizar un ejercicio intenso durante 5' (por ej. subir y bajar las escaleras a la máxima velocidad posible).

De ésta práctica deben excluirse, como sujetos activos, los estudiantes que presenten problemas circulatorios o renales y los que están sometidos a una dieta de restricción salina.

Recolección de las muestras de orina:

Antes de comenzar el experimento, todos los participantes deben vaciar su vejiga guardando ésta muestra de orina como control.

En el momento de iniciar la prueba se pone en marcha el cronómetro y cada alumno sigue la pauta indicada en el apartado anterior. A partir de este momento se recogen muestras de orina cada 30 minutos.

Análisis de las muestras de orina:

En cada muestra de orina se determinan los siguientes parámetros:

Volumen
Densidad

VOLÚMEN DE ORINA

Transferir la orina recogida en cada período a una probeta graduada y medir el volúmen de líquido excretado.

DENSIDAD

Ver método de determinación en página 50.

CÁLCULOS:

- a. Osmolaridad de la orina:

Valores de referencia 70-1200 mOsm/l. Si la densidad urinaria es conocida se puede calcular la osmolaridad a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Osmolaridad urin. mOsm/l} = (D \text{ orina} - 1) \cdot 35000$$

- b. Clearance de agua libre

$$C_{H_2O} = V - C_{OSM}$$

V = volumen minuto. Valores de referencia: 1 ml/minuto

C_{OSM} = clearance o depuración osmolar (la fórmula de la depuración osmolar es similar a la de cualquier depuración urinaria)

- c. Depuración negativa de agua libre

$$T_{H_2O} = C_{OSM} - V$$

EXAMEN FÍSICO-QUÍMICO DE MUESTRAS DE ORINA

La orina es el resultado de un triple proceso: filtración (glomerular), resorción de sustancias y secreción de otras a lo largo del túbulo renal.

Obtención de la muestra: ver guía n° 1.

EXAMEN FÍSICO

CANTIDAD: valores de referencia: 1200-1500 ml/24 hs en adultos.

La cantidad de orina eliminada en 24 hs está sujeta a diversas influencias: la edad, el peso, la dieta, etc.

En un examen de rutina se informa:

- aspecto
- olor
- color-espuma
- densidad

ASPECTO: recién emitida es límpida y transparente. Al poco tiempo de estar estacionada aparecen enturbiamientos que originan un sedimento compuesto por mucus, células epiteliales, leucocitos, etc.

El aspecto de la orina se califica como: límpido, ligeramente turbio, turbio.

OLOR: la orina normal tiene un olor ligeramente aromático de origen indeterminado (“sui generis”).

COLOR: normalmente es de color amarillo, de tonalidad variable entre el ambarino y el amarillo oro. Está dado por la presencia de pigmentos: urocromo, uroeritrina, hemato-porfirinas, etc.

Si la orina normal se agita levemente, la espuma es blanca, abundante y fugaz.

DENSIDAD: valores de referencia: 1,010 - 1,030 mg/l.

1) MÉTODO DEL DENSÍMETRO O URINÓMETRO (FIGURA N° 10)

Se coloca la orina en una probeta de capacidad suficiente (100 ml), procurando no formar espuma. Se introduce el urinómetro tomándolo de la parte superior y comunicándole un suave movimiento de rotación, que no debe rozar las paredes y el fondo de la probeta. La lectura se hará en el menisco inferior que forma el urinómetro en contacto con la orina.

Corrección por temperatura: se deberá sumar o restar a la lectura leída del urinómetro, 0,001 por cada 3 °C de temperatura por encima o por debajo de aquella para la cual el instrumento ha sido calibrado (generalmente calibrados a 15°C).

2) EMPLEO DE TIRAS REACTIVAS:

El área reactiva utiliza polielectrolitos y un indicador de pH, lo cual permite, al sumergir la tira en la muestra de orina, que se produzca la reacción, observada como un cambio de color (este indica el cambio de los polielectrolitos en relación con la concentración iónica de la orina).

EXAMEN QUÍMICO

Composición de la orina humana

Glucosa	0 (0,1g/l)
Proteínas	0 (0,5 g/l)
Cuerpos cetónicos	0 (-de 0,05 g/l)
Hemoglobina, nitritos, bilirrubina	0 (vestigios)
Urobilinógeno	1 mg/l
Urea	20 g/l
Creatinina	1-2 g/l
Acido úrico	0,5 g/l
Fósforo	1 g/l
Cloruro	170 mEq/l
Amoníaco	40 mEq/l
Na	140 mEq/l
Ca	15 mEq/l
Reacción (pH)	6 (5-8)

USOS DE TIRAS REACTIVAS (FIGURA N° 11)

Son tiras que contienen zonas de test con reactivos necesarios en forma estandarizada y estabilizada para la determinación de parámetros en orina en número variable, desde 1 hasta 9 o 10 determinaciones.

Se utilizan con los siguientes fines:

- exámenes de rutina;
- control de terapéutica y recidiva;
- autocontrol.

Muestra: emplear orina reciente, de no menos de 4 hs, bien mezclada y sin centrifugar.

Técnica: (Figura N° 12).

1. Sacar una sola tira del envase y taparlo inmediatamente.
2. Sumergir completamente todas las áreas de la tira reactiva, retirar inmediatamente.
3. Eliminar el exceso de orina, deslizando el borde de la tira en el borde del recipiente.
4. Mantener la tira en posición horizontal.

Comparar las áreas reactivas con los correspondientes bloques de color en la etiqueta del envase a los tiempos especificados (30-60 seg.).

SOSTENER LA TIRA LO MÁS CERCA DE LA CARTA DE COLORES Y COMPARAR CUIDADOSAMENTE.

Los cambios de color que tienen lugar pasados los dos minutos carecen de importancia diagnóstica.

REACCIÓN (PH)

Tira reactiva:

Contiene una combinación de los indicadores: rojo de metilo y azul de bromotimol. Por esta razón resultan nítidas graduaciones cromáticas del naranja al azul, pasando por el verde, en la zona del pH de 5 a 9.

Causas de error:

- Orina que permanece demasiado tiempo en el recipiente.

GLUCOSA

Tira reactiva (enzimático)

Contiene glucosa oxidasa que oxida la glucosa de manera específica a ácido glucurónico y peróxido de hidrógeno en presencia del oxígeno del aire.

El agua oxigenada, bajo la catálisis de la peroxidasa, oxida al indicador que vira al verde verde azulado.

El límite práctico de detección es de 40 mg/dl de orina.

Causas de error:

- falsos positivos: residuos de detergentes fuertemente oxidantes en el recipiente.
- falsos negativos: grandes cantidades de ácido ascórbico por ingestión de vitamina C, medicamentos, etc.

CUERPOS CETÓNICOS

Tira reactiva

Se basa en la prueba de Legal: el ácido acetoacético y la acetona reaccionan con nitroprusiato en medio alcalino y producen un complejo colorante violeta.

El ácido beta-hidroxibutírico no se detecta y el ácido acetoacético reacciona con mayor sensibilidad que la acetona.

El límite de detección práctico es: ácido acetoacético 5-10 m/dl / acetona 40-70

Causas de error: Las fenilcetonas dan colores rojo naranja los cuales se diferencian perfectamente de los colores violetas obtenidos con ácido acetoacético y acetona.

Las fenolftaleínas dan una reacción cromática rojiza a causa de la basicidad de la prueba.

PROTEÍNAS

Tira reactiva

Se basa en el “error proteico de los indicadores”. Aproximadamente a pH=3, el azul de tetrabromofenol es de color amarillo cuando no hay proteínas, mientras que al mismo pH en presencia de proteínas el color del indicador cambiará al verde-verde azulado en una intensidad acorde con la cantidad de proteína (especialmente albúmina) presente.

El límite práctico de detección es de 10 mg/dl = 0,1 g/l

Causas de error:

- falsos positivos: - Orina alcalinas (pH mayor a 9).
- Infusiones con polivinilpirrolidina.
- Residuos de desinfectantes con grupo amónico cuaternario.
- Administración de fenazopiridina (colores rojizos).

BILIRRUBINA

Tira reactiva

Se basa en la copulación de la bilirrubina con una sal de diazonio estable en medio ácido virando el color a las distintas tonalidades del canela.

El límite práctico de detección es de 0,5 a 1mg/dl.

Causas de error:

- falsos positivos: - medicamentos que tiñen la orina de color rojo a pH ácido;
- falsos negativos: -exposición de la orina a la luz durante un largo tiempo;
- grandes cantidades de ácido ascórbico y nitritos.

UROBILINÓGENO

Tira reactiva

Se basa en la reacción de una sal de diazonio con el urobilinógeno en medio ácido dando un colorante azoico rojo (reacc. de Erlich modificada).

El límite práctico de detección es 0,5-1 mg/dl.

Causas de error:

- falsos positivos: - ídem bilirrubina falsos negativos: - exposición de la orina a la luz durante largo tiempo;
- inhibición por altas concentraciones de formaldehído (intoxicaciones, medicamentos, conservación de la orina con formalina).

Una momentánea coloración amarilla del papel reactivo señala cantidades importantes

de bilirrubina, las cuales, sin embargo, no menoscaban la lectura.

SANGRE

Tira reactiva

Se basa en la acción de la hemoglobina y mioglobina similar a la de la peroxidasa, las cuales catalizan la oxidación del indicador cromático por un hidroperóxido orgánico, produciendo un colorante azul verdoso que sobre el sector reactivo amarillo produce un viraje hacia el verde.

Existen dos escalas cromáticas separadas para eritrocitos y hemoglobina.

Los eritrocitos intactos se hemolizan sobre el papel reactivo y la hemoglobina resultante inicia la reacción cromática alrededor de los eritrocitos originando puntos verdes.

Límite práctico de detección: 5-10 eritrocitos/ul y 0,015 mg/dl para Hb o Mg.

Causas de errores:

- falsos positivos: - restos de detergentes fuertemente oxidantes en el recipiente;
- proteinuria mayor a 5 g/l;
- falsos negativos: - significantes cantidades de ácido ascórbico.

Confirmación de la presencia de hematíes: se debe confirmar la presencia de hematíes con la observación microscópica del sedimento.

HEMOGLOBINURIA (excreción de Hb libre) y MIOGLOBINURIA (excreción de mioglobina):

Quemaduras, procesos hemolíticos, esfuerzo físico intenso, lesiones musculares, enfermedades musculares progresivas.

Algunas tiras reactivas contienen celdillas para identificación de: nitritos, leucocitos, ácido ascórbico, etc.

APENDICE



Figura 16

Figure 17

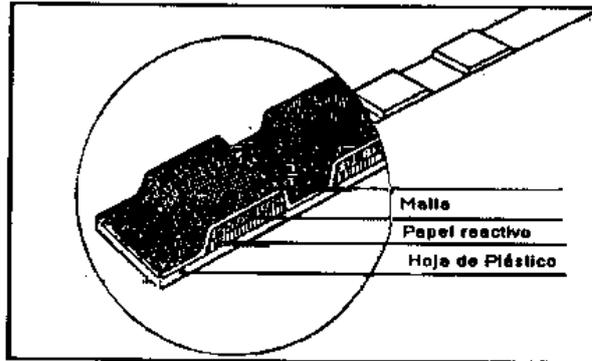


Figura 11.

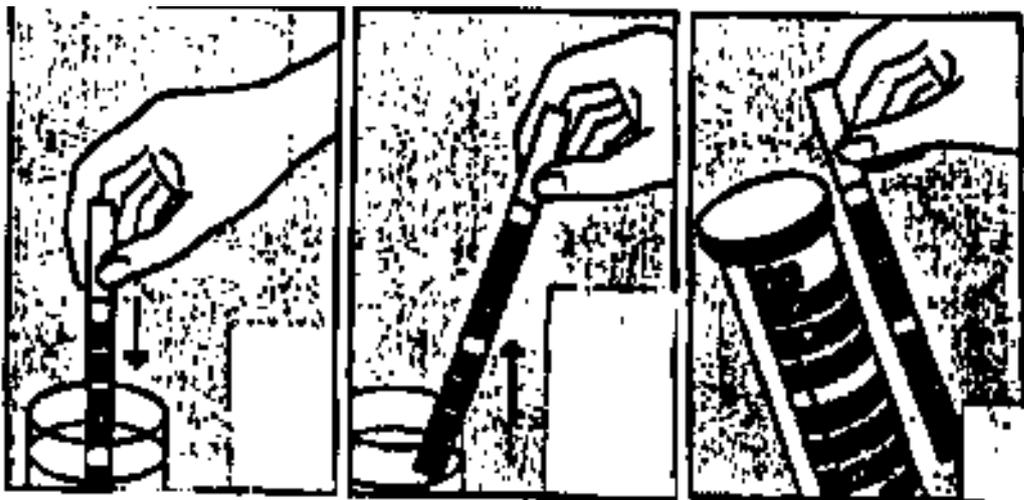


Figura 12.

Trabajo Práctico N° 7

FISIOLOGÍA RESPIRATORIA

El sistema respiratorio tiene como función fundamental el aporte de O₂ a los tejidos y la remoción del CO₂ de los mismos.

DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA RESPIRATORIA:

Es el número de movimientos respiratorios en la unidad de tiempo; aproximadamente 12 c.p.m.

a) Determinación de la frecuencia respiratoria en condiciones de reposo

Técnica:

1. Un alumno se ubica en decúbito.
2. Se cuenta el N° de movimientos respiratorios durante 1 minuto (con cronómetro).

b) Determinación de la frecuencia respiratoria en un período de apnea.

Técnica:

El alumno debe permanecer en apnea (interrupción de la respiración) el mayor tiempo posible (al menos 10 segundos)

Posteriormente se cuenta el N° de movimientos respiratorios durante 1 minuto.

c) Determinación de la frecuencia respiratoria consecutiva a la hiperventilación.

Técnica:

1. El alumno hiperventila (respiración rápida y profunda) durante 60 segundos.
Luego se cuenta el N° de movimientos respiratorios durante 1 minuto.

d) Determinación de la frecuencia respiratoria después de un esfuerzo físico.

Técnica:

1. El alumno deberá realizar un esfuerzo físico de mediana intensidad (subir una escalera, flexiones), durante 5 minutos.

Luego se cuenta el N° de movimientos respiratorios durante 1 minuto.

	Reposo	Post-apnea	Post-hiperventilación	Post-ejercicio
Frecuencia respiratoria				

AUSCULTACIÓN: RUIDOS RESPIRATORIOS NORMALES

La auscultación de la respiración normal profunda se realiza con el paciente en posición preferentemente sentado, respirando con la boca entreabierta, sin hacer ruido alguno y en forma más profunda y rápida que la habitual.

Se debe comenzar por la región anterior y continuar con la posterior. Los ruidos respiratorios normales comprenden la respiración brónquica, la broncovesicular y el murmullo vesicular.

La respiración brónquica se ausculta en el hueco supraclavicular y en la región dorsal superior.

El murmullo vesicular se ausculta en la región anterior, posterior y lateral del tórax.

La respiración broncovesicular se ausculta preferentemente a nivel de las articulaciones esterno-clavicular (derecha), en las regiones supraescapulares e interescapulovertebrales superiores. (Ver figuras en apéndice- Figura N° 13).

EXAMEN FUNCIONAL RESPIRATORIO

La exploración de la función pulmonar es el conjunto de técnicas que nos permite estudiar diferentes aspectos de la fisiología respiratoria. La elección de una prueba u otra dependerá de los objetivos planteados y del contexto en que va a ser utilizado.

ESPIROMETRÍA:

Es la medición de los volúmenes y capacidades pulmonares. Se utiliza el espirómetro en aire para obtener los siguientes parámetros:

FEF: Flujo espiratorio forzado. Es un indicador de las posibles obstrucciones en las grandes vías respiratorias.

FMF: Flujo espiratorio mediano forzado. Indicador de posibles oclusiones en las vías respiratorias de menor calibre.

CV: Capacidad vital.

CVF: Capacidad vital forzada.

VEF_t: Volumen espiratorio forzado, medido en un tiempo “t” elegido. Conocido también por capacidad vital cronometrada o test de Tiffeneau.

VEF%: Porcentaje VEFt del valor CVF o de otros valores prefijados de la capacidad vital.

Técnica:

1. Conectar el aparato a línea 220 v. 50 c/s
2. Encender el pulsador respectivo (a la izquierda del panel) llevando a la posición SI / NO. Al hacerlo, se iluminará un LED rojo testigo de línea.
3. Colocar el carro a la izquierda en el riel de desplazamiento. Para lograrlo, levantar suavemente el carro, evitando el roce de la cremallera con el engranaje del motor y trasladarlo al tope izquierdo.
4. Colocar la hoja de registro, con el encabezamiento hacia abajo, trabando la parte superior con los clips y la inferior con el soporte retráctil. Tratar que el bolígrafo coincida con el punto cero (cero litros-cero segundos).
5. CV puede obtenerse directamente, sin otro procedimiento que el paciente espire por el conducto. Para los otros estudios, FEF, FMF, CVF, VEF, VEF %, es necesario que el profesional mantenga pulsado el botón indicado “Motor” por el tiempo que dura el traslado del carro (6 seg.) Mientras lo hace se enciende una luz indicando que el traductor está listo para disparar el arranque del motor a la mínima señal de paso de flujo aéreo por el conducto.
6. Si desea repetir el estudio o hacer otro, proceder como en 3.
7. Si se interrumpe el funcionamiento del motor, dejando de pulsar, al tratar de reconectarlo, el traductor, culminará el ciclo anterior, debiendo el usuario recomenzar el procedimiento indicado en 3.

MÉTODO GRÁFICO-ANALÍTICO

1. La proyección sobre el eje de volúmenes, del valor máximo del registro, nos da la CVF, en la figura 14 este valor es $Y_1 = 4,25$ litros.
2. Entre 75% y el 25% del valor Y_1 tenemos los valores $Y_2 = 3,18$, $Y_3 = 1,05$ litros, este valor $Y_2 Y_3$ representa el 50% del CVF .
Estos valores Y_2 e Y_3 se registran en los tiempos $T_2 = 1,38$ segundos, $T_1 = 0,34$ segundos. Así podemos obtener el FMF.

$$FMF = \frac{Y_2 - Y_3}{T_2 - T_1} = \frac{2,13 \text{ litros}}{1,04 \text{ seg}} = 2,048 \text{ l / seg.}$$

3. Para obtener el volumen espiratorio forzado en 1 “ (VEF 1 “) se lee directamente, el volumen correspondiente a 1”.
4. %VEF/CVF

Por lo visto resulta $CVF = 100\%$ del volumen exhalado, pudiéndose escribir de esta manera.

$$\frac{CVF}{100} = \frac{VEF}{X} \quad \text{de donde} \quad X = \frac{100 VEF}{CVF}$$

5. Uso de la regla de porcentaje para el cálculo de %VEF (FIGURA N° 15).

Se hacen coincidir el cero de la regla de %, con el correspondiente a la carta de registro. El punto correspondiente al 100 % se hace coincidir con la horizontal correspondiente al máximo nivel volumétrico de la curva obtenida.

Ubicada la regla de esta manera, se proyectan en forma horizontal sobre la regla el valor VEF 1", la lectura obtenida sobre la regla de % es de 55,3 %.

6. Uso del fluxómetro para la determinación gráfica del FEF₁ (FIGURA N° 16).

La proyección de los valores correspondientes a 0,2 litros y 1,2 litros, nos da sobre la curva A los puntos U y V, y sobre la B, nos da R y S. Uniendo UV con una recta y así también con RS, se trazan paralelas a dichos segmentos a partir del origen, pudiendo utilizar para ello la regla de paralelas.

Colocando ahora sobre la carta de registro el fluxómetro, de manera que ambos orígenes coincidan, como así también los ejes coordenados.

De esta manera la intersección de las rectas antes trazadas con cualquiera de las escalas nos da el caudal en litros/minuto o bien en litros/segundo.

INFLUENCIAS DE TIPO REFLEJO SOBRE LA RESPIRACIÓN

La movilización pasiva de las extremidades determina un aumento reflejo de la ventilación pulmonar fundamentalmente a expensas de la frecuencia respiratoria. Los impulsos que inician la respuesta refleja parecen originarse en mecanorreceptores situados a nivel de la cápsula y de los ligamentos articulares. La estimulación de dichos receptores en respuesta al movimiento de la extremidad determina un incremento inmediato de la frecuencia respiratoria, mucho antes de que los factores de tipo químico se acumulen en cantidad suficiente y lleguen a estimular a los quimiorreceptores correspondientes.

Los mecanorreceptores perciben la extensión y frecuencia de los movimientos realizados, pero no pueden detectar la fuerza con que estos se llevan a cabo.

Para comprobar el efecto de la estimulación pasiva de los mecanorreceptores sobre la respiración, un alumno se sienta sobre la mesa con las piernas colgando.

A continuación se le hace respirar tranquilamente, determinando la frecuencia.

Seguidamente se le hace movilizar pasivamente las extremidades inferiores, practicando una extensión de la pierna sobre el muslo. Determinar la frecuencia e intensidad de los movimientos respiratorios en estas.

Es aconsejable que la movilización pasiva se realice con una periodicidad no superior a la mitad de la frecuencia respiratoria habitual.

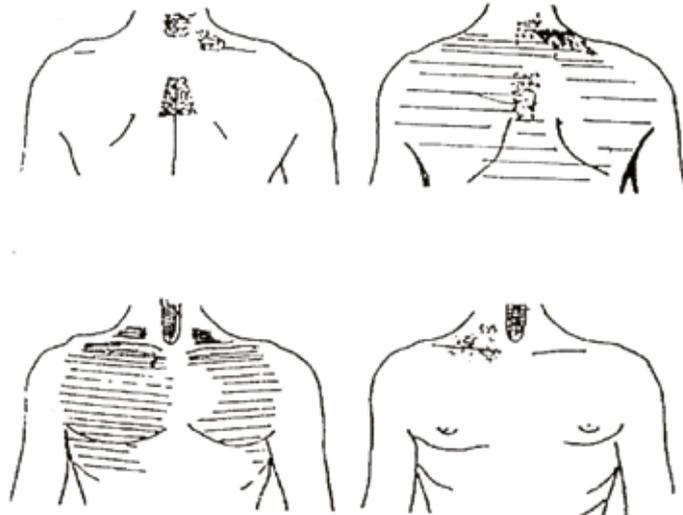


Figura 13. La Figura ilustra la distribución de los ruidos respiratorios normales. En cuadrículado: respiración bronquial. En punteado: respiración bronco-vesicular. En rayado: murmullo vesicular.

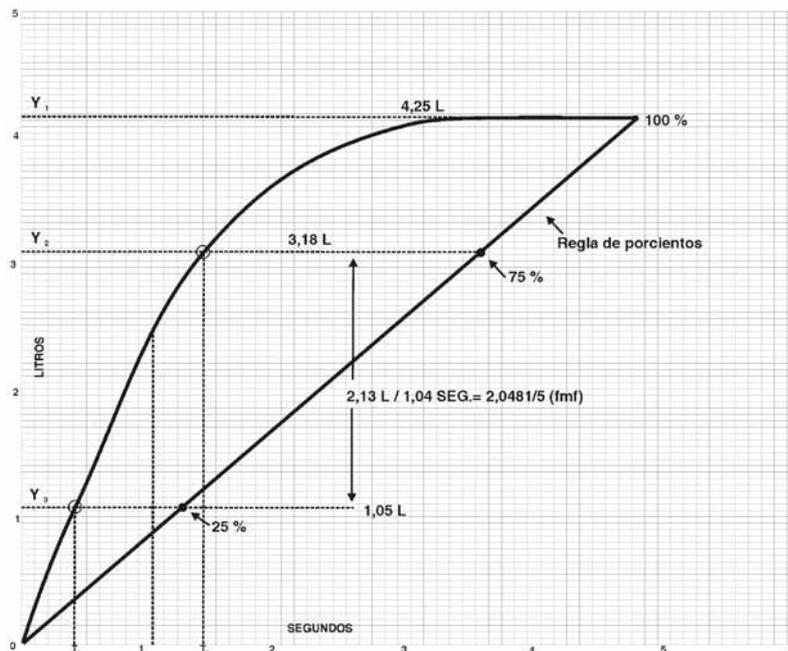


Figura 14.

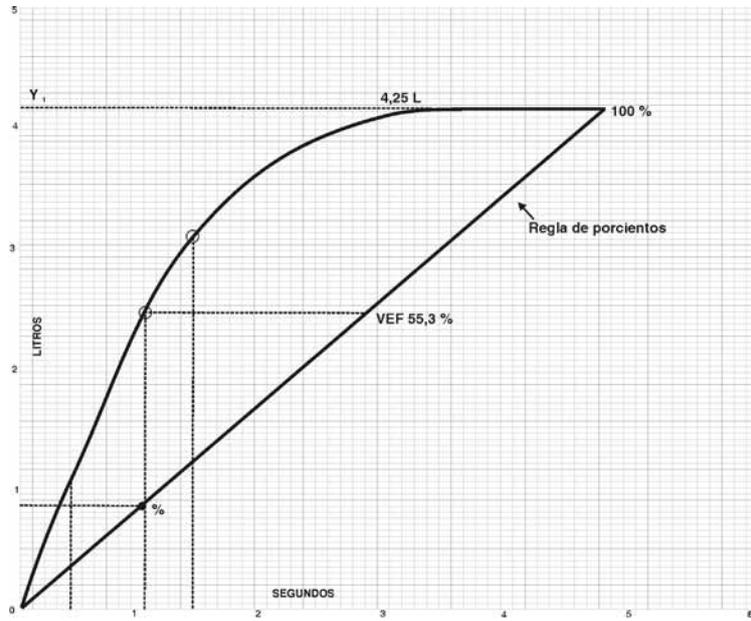


Figura 15.

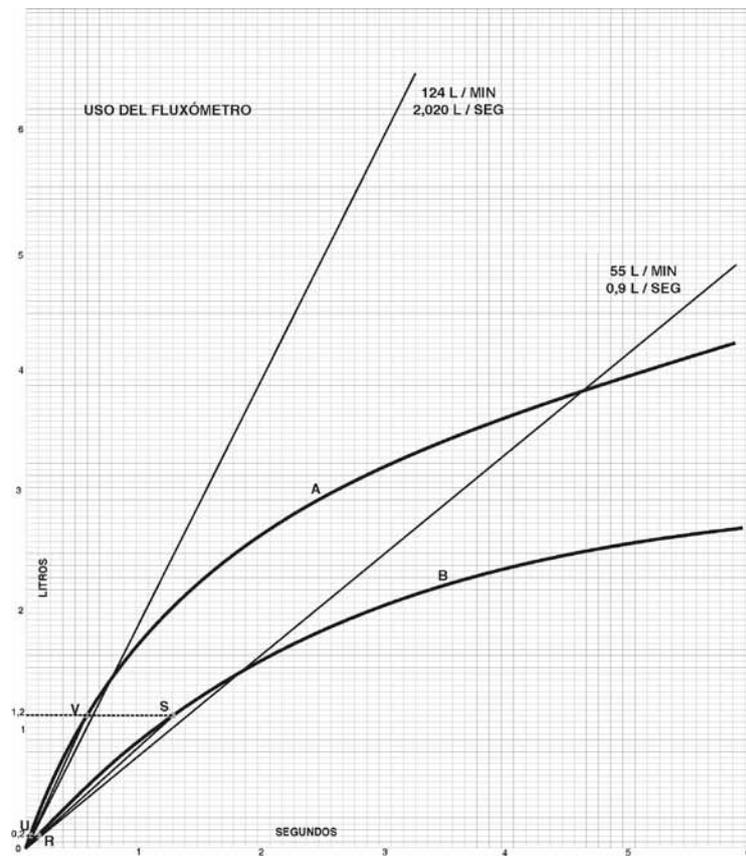


Figura 16.

EQUILIBRIO ÁCIDO - BASE

Analizar los siguientes casos utilizando las fórmulas de predicción:

CASO 1:

pH	7.427
pCO ₂	26,5 mmHg
PO ₂	43,6 mmHg
Bicarbonato	17,2 mMol/l
Exceso de base	-5,4 mMol/l
% saturación de O ₂	73,6 %

CASO 2:

pH	7.304
pCO ₂	39,5 mmHg
PO ₂	67,4 mmHg
Bicarbonato	19,1 mMol/l
Exceso de base	-6,3 mMol/l
% saturación de O ₂	93,2 %

CASO 3:

H	7.56
pCO ₂	25 mmHg
PO ₂	62 mmHg
Bicarbonato	23 mMol/l
Exceso de base	1.8 mMol/l
% saturación de O ₂	93 %

Fórmulas de predicción		límite
ACIDOSIS METABÓLICA	$pCO_2 = (1,5 \times HCO_3^-) + 8 \pm 2$	10 mm Hg
ALCALOSIS METABÓLICA	$pCO_2 = (0,7 \times HCO_3^-) + 20 \pm 1,5$	55 mm Hg
ACIDOSIS RESPIRATORIA		
aguda	$HCO_3^- = \uparrow 1mEq$ por cada 10 mmHg de $\uparrow pCO_2 \pm 1$	30 mEq/l
crónica	$HCO_3^- = \uparrow 3,5mEq$ por cada 10 mmHg de $\uparrow pCO_2 \pm 1$	45 mEq/l
ALCALOSIS RESPIRATORIA		
aguda	$HCO_3^- = \downarrow 2mEq$ por cada 10 mmHg de $\downarrow pCO_2 \pm 1$	18 mEq/l
crónica	$HCO_3^- = \downarrow 5mEq$ por cada 10 mmHg de $\downarrow pCO_2 \pm 1$	12-15mEq/l

TERCER COLOQUIO

1. Dibuje una gráfica del ciclo cardíaco con sus fases.
Detenga imaginariamente la actividad cardíaca en una fase del ciclo cardíaco (elijá una durante la sístole y otra durante la diástole) y describa qué ocurre en ese momento con la presión arterial en las diferentes cavidades, el volumen ventricular, los ruidos cardíacos y el estado de la circulación coronaria.
2. ¿Cuántos ruidos cardíacos se pueden auscultar? Explique la génesis de los mismos y su relación con el ciclo cardíaco.
3. Grafique cada uno de los componentes del ECG y explique su relación con el ciclo cardíaco.
4. Que cambios electrocardiográficos se pueden observar con:
 - Elevación de sodio sérico.
 - Elevación de potasio sérico.
 - Elevación de cloruro sérico.
 - Disminución de potasio sérico.
 - Disminución de sodio sérico.
5. Utilizando los datos del clearance de creatinina obtenidos en el trabajo práctico, compare dichos valores con las estimaciones hechas con las fórmulas de: Cockcroft-Gault y MDRD.
6. Explique las características anatómicas y fisiológicas de la nefrona que le permiten concentrar la orina. ¿Qué papel cumple la nefrona distal en la concentración y dilución de la orina?
7. Teniendo los siguientes datos calcule el agua libre excretada por los riñones:
 - a. $P_{OSM} = 295 \text{ mOsm/ Kg H}_2\text{O}$
 $U_{OSM} = 70 \text{ mOsm/ kg H}_2\text{O}$
 $V = 3 \text{ ml/ mín.}$
 - b. $P_{OSM} = 295 \text{ mOsm/ Kg H}_2\text{O}$
 $U_{OSM} = 1100 \text{ mOsm/ kg H}_2\text{O}$

$$V = 0,4 \text{ ml/mín.}$$

Explique el significado fisiológico de los resultados anteriores.

8. Explique la reabsorción de glucosa en túbulo proximal.

9. Indique con flechas como se altera la IFG ante las siguientes variaciones:

	IFG
vasodilatación arteriola aferente	
vasodilatación arteriola eferente	
↑ proteínas plasmáticas	
↑ PA	

10. Las siguientes determinaciones se efectuaron en un solo glomérulo: VFG 42 nl/min, presión hidrostática del capilar glomerular 50 mm Hg, presión hidrostática de la cápsula de Bowman 12 mm Hg, presión coloidosmótica media del capilar glomerular 24 mm Hg ¿Cuál es el coeficiente de ultra-filtración glomerular?

11. En un estudio sobre el aclaramiento renal de una mujer joven, de 60 kg de peso (superficie corporal 1,65 m²), se obtuvieron los siguientes datos: concentración plasmática de inulina, 0,40 mg/ml, concentración de inulina en orina: 8 mg/ml; concentración plasmática de glucosa: 5 mg/ml; concentración de glucosa en orina: 40 mg/ml; concentración plasmática de sodio: 135 mEq/l; concentración de sodio en orina: 65 mEq/l; flujo de orina : 5 ml/min. Determinar:

1. Velocidad de filtración glomerular. ¿Es normal?
2. Umbral de glucosa, ¿Se ha alcanzado?
3. Aclaramiento renal de glucosa. ¿Por qué es menor que la VFG?
4. Velocidad de reabsorción tubular de la glucosa.
5. Fracción de agua absorbida por los túbulos renales.
6. ¿Qué fracción de sodio filtrado fue excretado?

CUARTO COLOQUIO

1. El pH de una solución buffer es de 6,5, siendo el pK del par buffer de 6,8. Por lo tanto la relación entre la forma básica y la ácida es de:
 - 20:1
 - 3:1
 - 2:1
 - 1:2
 - 1:3

2. Una solución buffer tiene un pK de 6,8. Si la disolución en la que se halla tiene un pH de 7,4 y la concentración del ácido del par buffer es de 20 mmol / l, ¿cuánto vale la concentración de su base conjugada?

3. Una paciente en trabajo de parto se encuentra muy inquieta y agitada, con intensa hiperventilación. Se le realiza una determinación del estado ácido-básico en sangre arterial y se encuentran los siguientes valores: concentración de bicarbonato: 24 mmol / l; presión parcial de dióxido de carbono: 20 mm Hg. El pH arterial, ¿cuánto vale?, ¿qué trastorno probable presenta?

4. En un paciente internado se realiza una determinación del estado ácido - básico en sangre arterial, hallándose un pH de 7,02, una presión de dióxido de carbono de 60 mm Hg, una concentración de bicarbonato de 15 mmol / l. La alteración del estado ácido básico que sufre es:
 - Acidosis respiratoria sin compensación metabólica.
 - Acidosis metabólica sin compensación respiratoria.
 - Alcalosis respiratoria con compensación metabólica.
 - Alcalosis metabólica con compensación respiratoria.
 - Acidosis metabólica y respiratoria.

5. Indique las situaciones que aumentan o disminuyen la secreción de H⁺.

situación	Aumenta secreción de H⁺	Disminución secreción de H⁺
↑ del pH arterial		
↓ del pH arterial		
↑ del K plasmático		
↓ del K plasmático		
Contracción del LEC		
Expansión del LEC		
↓Carga filtrada de HCO ₃ ⁻		
Inhibidores de la AC		
↑ de aniones impermeantes		

AUTOEVALUACIÓN

1. Dibujar el ciclo cardíaco con sus diferentes etapas.
2. Explicar qué sucede en las distintas etapas con la presión aórtica, el volumen y presión ventricular.
3. ¿Cuáles son los ruidos cardíacos y a qué se deben?, ¿cuáles son sus componentes? Ubicarlos en el ciclo cardíaco.
4. ECG: ¿Cuál es el significado de cada una de las ondas y espacios del ECG? Ubicar en el ciclo cardíaco.
5. ¿Cuáles son las derivaciones existentes?
6. ¿Las ondas son iguales y del mismo sentido en todas las derivaciones?
7. Presión arterial: ruidos de Korotkof. En qué momento se detecta la PAS y PAD.
8. ¿Cómo varía la presión arterial con el gasto cardíaco y la resistencia periférica?
9. Acciones del sistema simpático y parasimpático sobre la circulación.
10. ¿Cuáles son las funciones del riñón?
11. Organización general de los riñones y aporte sanguíneo renal.
12. Diferencia entre nefronas corticales y glomerulares.
13. ¿Cuáles son los mecanismos renales?
14. ¿Cómo está constituida la membrana glomerular?
15. ¿Cuál es la capacidad de filtración de la membrana glomerular?
16. ¿Cuáles son las fuerzas que determinan la presión de filtración neta?
17. ¿Cuáles son las causas fisiológicas que aumentan o disminuyen la tasa de filtración glomerular?
18. ¿De qué depende el Kf?
19. Cálculo de la intensidad de filtración glomerular: clearance de creatinina.
20. Mecanismos de transporte en túbulo proximal y principales sustancias que transporta.
21. Transporte de agua.
22. Transporte de glucosa. Umbral. Tm.
23. Transporte de proteínas y aminoácidos.
24. Transporte de agua y solutos en Asa de Henle. Diferencias entre segmento descendente y ascendente.
25. Creación y mantenimiento del gradiente medular.
26. Ciclo de la urea.
27. Permeabilidad al agua en túbulo colector.
28. ADH: ¿dónde se sintetiza?, ¿cuál es el estímulo para su liberación, lugar de acción y efecto?
29. ¿Cómo hace el riñón para eliminar una orina diluida y como hace para eliminar una orina concentrada?
30. C_{H_2O} y T_{H_2O}
31. ¿Cómo se produce la micción?
32. ¿Cuáles son las presiones respiratorias?

33. Sustancia surfactante: composición y función.
34. Espirometría: ¿cuál es la utilidad de los distintos parámetros calculados?
35. Ecuación de Henderson-Hasselbach.
36. ¿Cuál es la importancia del sistema bicarbonato?
37. ¿Cuál es la importancia del sistema amonio?
38. ¿Cómo se produce la regulación renal del equilibrio ácido-base?
39. ¿Cuáles son los factores que aumentan o disminuyen la secreción de protones?
40. ¿Cómo regula el sistema respiratorio el equilibrio ácido-base?

Trabajo Práctico N° 8

GLÁNDULA PARATIROIDES

La función de la paratiroides es evaluada por siguientes métodos:

- a. Determinación de calcio y fósforo en suero y orina.
- b. Determinación de la reabsorción tubular de fosfato (TRF).
- c. Determinación de fosfatasa alcalina sérica.(AIP).
- d. Determinación de la excreción urinaria de hidroxiprolina y AMPc.
- e. Valoración de la parathormona (PTH) sérica.
- f. Pruebas de inhibición con infusión E.V. de calcio o administración de glucocorticoides. Se valora PTH sérica.
- g. Pruebas de estimulación mediante administración de EDTA. Se valora PTH sérica.
- h. Se puede también determinar calcitonina.

DETERMINACIÓN DE CALCEMIA

Valores de referencia: Suero: 8,50 - 10,50 mg/ dl.
Orina: Adultos: 60 – 200 mg/24 hs
Niños: menor a 4 mg/Kg /día

Fundamento del método (colorimétrico)

Calcio + Cfx _____ complejo color magenta (violáceo)
pH =11

Cfx: Cresolftaleíncomplexona

MUESTRA:

Suero fresco (anticoagulantes interfieren complejando el calcio): no interfiere hemólisis, ictericia ni hiperlipemia. Procesar en el día o conservar refrigerado.

Orina de 24 hs: diluir 1/2 con agua destilada (1 ml orina + 1 ml AD) agregando 1 gota de HCl conc.

A los efectos del trabajo práctico se sigue la siguiente técnica para recolectar orina

Se hace vaciar la vejiga de un alumno (y se desecha) y se le hace ingerir 300 ml de agua, a las 2 horas se le hace vaciar nuevamente la vejiga. Diluir esta muestra 1/2 y determinar la concentración de calcio en orina.

Técnica: pipetear en tubos de ensayo:

	B	S	D
Agua destilada	20 ul		
Standard		20 ul	
Muestra			20 ul
Reactivo único	0,8 ml	0,8 ml	0,8 ml

Mezclar. Incubar 5 minutos a temperatura ambiente. Leer absorbancia en espectrofotómetro a 570 nm llevando el aparato a cero con el blanco.

Buffer: solución de AMP.

Reactivo de color: solución de O – cresoltalein complexona y 8-hidroxiquinolina

Standard: calcio equivalente a 10 mg/dl.

Reactivo único: mezcla de partes iguales de reactivo de color y buffer.

Inestabilidad o deterioro de los reactivos: desechar cuando las lecturas de los blancos sean mayores o iguales a 0,200 D.O.

CÁLCULOS:

$$\text{Calcio sérico mg/dl} = D \times \text{factor} \qquad \text{factor} = \frac{10 \text{ mg/dl}}{S}$$

$$\text{Calcio urinario mg/dl} = D \times \text{factor} \times \text{dilución}$$

Si la muestra de orina es de 24 hs:

$$\text{Calcio urinario mg/24 hs} = D \times \text{factor} \times \text{dilución} \times \text{diuresis de 24 hs}$$

La ley de Beer se cumple hasta 20 mg/dl.

Variaciones

Hipercalcemia

Fisiológicas

-Niños: hasta 12 años (hasta 12 mg/dl).

Hipocalcemia

Fisiológicas

-Gestación y lactancia.

DETERMINACIÓN DE FÓSFORO

Valores de referencias: Suero: Adultos: 2,50 - 4,50 mg/dl
Niños: 4,00- 6,50 mg/dl
Orina: 340 – 1000 mg/24 hs

Fundamento del método: (colorimétrico)

Pi + Molibdato Medio ácido Fosfomolibdato

Fosfomolibdato + ác. Ascórbico Arsenito/Citrato Azul de Molibdeno

El arsenito/ citrato se combina con el exceso de molibdato, impidiendo su reacción posterior con el fosfato liberado de los ésteres lábiles.

MUESTRA:

Suero o plasma (EDTA), separado de los glóbulos rojos dentro de las 2 hs y efectuar la determinación inmediatamente. El oxalato interfiere. Conservar refrigerado.

Orina de 24 hs. Diluir 1/5 con agua destilada (0.4 ml orina + 1.6 ml AD) agregando 1 gota de HCl conc.

A los efectos del trabajo práctico se sigue la siguiente técnica para recolectar orina

Se hace vaciar la vejiga de un alumno (y se desecha) y se le hace ingerir 300 ml de agua, a las 2 horas se le hace vaciar nuevamente la vejiga. Diluir esta muestra 1/5 y determinar la concentración de fósforo en orina.

TÉCNICA:

Colocar tres tubos en baño de agua a 37°C

	B	S	D
Standard	-----	20 ul.	-----
Muestra	-----	-----	20 ul.
Reactivo 1	1 ml.	1 ml.	1 ml.
Mezclar por agitación suave. Esperar por lo menos 30 segundos y no más de 2 minutos.			
Reactivo 2	1 ml.	1 ml.	1 ml.
Mezclar .Esperar 30 seg. y no más de 2 min.			
Reactivo 3	1,5 ml.	1,5 ml.	1,5 ml.

Mezclar por inversión. A los 10 min. retirar del baño y leer en espectrofotómetro a 620 nm llevando el aparato en cero con el blanco. El color es estable 3 hs.

Reactivo 1: Molibdato de sodio + HCl

Reactivo 2: Ácido ascórbico. Preparar con A. D.

Reactivo 3: Arsenito de sodio en citrato de sodio (TOXICO). A bajas temperaturas puede precipitar. Colocar el baño a 37°C. Mezclar por inversión antes de usar.

Standard: equivale a 4 mg/dl de fósforo inorgánico. Inestabilidad o deterioro de los reactivos valores de B superiores a 0,050 D.O. indican contaminación. El reactivo 2 puede oxidarse a amarillarse por contaminación del A.D.

CÁLCULOS:

Pi sérico mg/dl = D x factor

$$\text{factor} = \frac{4 \text{ mg/dl}}{S}$$

Pi urinario mg/dl = D x factor x dilución

Si la recolección de orina es de 24 hs:

Pi urinario mg/24 hs = D x factor x dilución x diuresis de 24 hs

La reacción colorimétrica sigue la ley de Beer hasta 16 mg/dl.

Variaciones

Hiperfosfatemia

Fisiológicas

Niños, trabajo muscular.

Hipofosfatemia

Fisiológica

Embarazo

Realice las siguientes actividades

1. Complete y justifique cada caso.

	↑ PTH	↓ PTH
Calcio sérico		
Fósforo sérico		
Calcio urinario		
Fósforo urinario		
Fosfatasa alc. sérica		
AMPc urinario		

2. Completar el siguiente cuadro:

	Hipercalcemia	Hipocalcemia	Hiperfosfatemia	Hipofosfatemia
↑1,25 OH ₂ colecalciferol				

Trabajo Práctico N° 9

FISIOLOGÍA DIGESTIVA

SECRECIÓN SALIVAL

I) SECRECIÓN SALIVAL EN CONDICIONES BASALES Y EN RESPUESTA A DIFERENTES TIPOS DE ESTÍMULOS

A) Secreción salival en condiciones basales:

Se mide el volumen de secreción producido por las glándulas salivales durante un período de 10 minutos.

1. Deglutir la pequeña cantidad de saliva presente en la boca, anotar la hora y a partir de este momento, dejar de deglutir hasta que finalice la prueba.
2. Por medio de un embudo, recoger la saliva producida a intervalos regulares de 2 min, hasta un total de 10, en la probeta marcada con la B.
3. Un minuto después de cada expulsión leer el nivel alcanzado por el líquido en la probeta, anotar solamente el nivel alcanzado por el líquido, ignorando la espuma presente en la parte superior.
4. Registrar los valores obtenidos en un gráfico.

B) Secreción salival en respuesta a estímulos de tipo químico y mecánico

Se sigue un procedimiento idéntico al del apartado anterior

1. Estimulación mecánica, por medio de la masticación de un pequeño tubo de goma y recogiendo la saliva en la probeta M .
2. Estimulación química, por medio de un pequeño fragmento o cristal de cloruro sódico colocado sobre la lengua, recogiendo la saliva en la probeta Q. Comparar las curvas obtenidas.

Guardar la saliva para las pruebas posteriores.

II) VISCOSIDAD DE LA SALIVA

1. Preparar dos tubos de ensayo M.
2. Depositar unos 2 ml de saliva en cada uno de ellos.
3. Añadir 10 gotas de ácido acético al 5% al tubo N° 1 y 10 gotas de A.D. al tubo
4. N° 2.
5. Agitar bien los tubos y dejarlos en una gradilla hasta que finalice la experiencia siguiente.
6. Observar el efecto producido por el ácido acético. Comparar la viscosidad de la saliva con ácido acético con la de la muestra normal.

DIGESTIÓN SALIVAL

PROCEDIMIENTO:

1. Con la ayuda de un embudo y gasa, o algodón hidrófilo, filtrar las muestras de saliva obtenidas anteriormente, recogiendo el filtrado en recipiente adecuado.
2. Mientras tiene lugar la filtración, preparar una gradilla con dos tubos de ensayo numerados.
3. Depositar: 2 ml de disolución de almidón hervido al 1% en cada uno
2 ml de agua destilada en cada uno.
4. En un tubo de ensayo grande, hervir una pequeña cantidad de saliva, dejándola enfriar después hasta temperatura ambiente.
5. Por medio de una pipeta Pasteur, añadir a los tubos 3 gotas de la preparación (enzima) correspondiente:
Saliva normal al tubo 1
Saliva hervida al tubo 2.
6. Anotar el momento en que se añade la disolución de enzima a los tubos.
7. Inmediatamente y a intervalos de 3 min tomar una gota de cada una de las muestras, empleando pipeta Pasteur distinta para cada tubo, y colocarla sobre una placa de porcelana, agregar una gota de disolución de Lugol:
Prueba positiva (+): color azul negrozco (indica almidón sin hidrolizar).
Prueba negativa (-): desaparición del color azul (acromia- indica almidón totalmente hidrolizado).
La prueba continuará hasta que resulte negativa en dos lecturas consecutivas o hasta que haya transcurrido un tiempo total de 15 min.
Determinar el momento en que la prueba de Lugol se hace negativa y anotar el tiempo transcurrido.

tubo	T°	Sustrato	Enzima	Tiempo					
				0	3	6	9	12	15
1	37	2 ml. Almidón 2 ml. A.D.	3 gotas saliva						
2	37	2 ml. Almidón 2 ml. A.D.	3 gotas saliva hervida						

MOTILIDAD GÁSTRICA

- Se abre longitudinalmente el abdomen de un sapo desmedulado (observar si existen “contracciones peristáltica” a lo largo del tubo digestivo).
- Se exterioriza el estómago, y haciendo un corte en sus extremos superior (cárdias) e inferior (píloro) se lo extrae, se introduce una cánula de vidrio por el orificio superior fijándola con una atadura, se suspende el preparado de un soporte.
- Se introduce en el estómago a través de la cánula solución Ringer coloreada con azul de metileno a 30 °C, observándose variaciones de tono, contracciones espontáneas o provocadas por estímulos mecánicos (pinzamientos), que harán variar la altura de la columna de Ringer en la cánula.
- A continuación se verificará el efecto de neurotransmisores, para lo cual se depositan sobre la pared del estómago gotas de cada una de las siguientes soluciones, lavando con solución Ringer a 30 °C, después de notar el efecto de cada una de ellas:
 1. Solución de acetilcolina al 1%.
 2. Solución de adrenalina al 1%.
Se observará también el efecto de parasimpaticomiméticos.
 3. Solución de pilocarpina al 1%. Observar el efecto de bloqueantes de los receptores colinérgicos.
 4. Solución de atropina al 1%.

ACCIÓN DE JUGO GÁSTRICO

DEMOSTRACIÓN DE LA PRESENCIA DE RENINA EN EL JUGO GÁSTRICO

Deberá obtenerse jugo gástrico de un animal (o ser humano) lactante. En un tubo de ensayo colocar:

1. 4-5 ml de leche íntegra, cruda, preferentemente fresca.
2. 1 -2 ml de jugo gástrico y dejar actuar varios minutos (la reacción dependerá de la temperatura) . Observar la coagulación de la leche por efecto de la renina, que en los mamíferos lactantes actúa sobre las proteínas lácteas.

DEMOSTRACIÓN DE LA PRESENCIA DE PEPSINA EN EL JUGO GÁSTRICO

Se trabajará con el mismo material anterior (también puede obtenerse muestra de adultos). Siendo de difícil obtención el jugo gástrico se recurre a la PEPSINA comercial, siendo esta la enzima proteolítica del mismo.

1. Se preparan pequeños discos de ovoalbúmina (clara de huevo) de aproximadamente 1 cm de diámetro y 1 mm de espesor, coagulados por calor suave.
2. En una caja de Petri se colocan algunos discos y se les agrega cantidad suficiente de jugo gástrico.
3. Se deja actuar 2-3 hs (o más, depende de la temperatura). La Pepsina, al digerir la ovoalbúmina, la transformará de un color blanco inicial a traslúcido.

DIGESTION INTESTINAL

I) VERIFICACIÓN DEL PODER EMULSIONANTE DE LA BILIS

Se preparan dos tubos de ensayos:

1. Se agrega 1 ml de agua y unas gotas de aceite
2. Se agrega 1 ml de agua, unas gotas de aceite y bilis.
3. Se agitan ambos tubos, y por simple observación y comparación se comprueba el poder emulsionante.

Quinto Coloquio

1. Realice un cuadro comparativo de los mecanismos de acción de hormonas proteicas y esteroideas.
2. Complete el cuadro con las acciones (estimula, inhibe, sin efecto) de las diferentes hormonas sobre los metabolismos:

Hormona	Hidratos de carbono	Proteínas	Lípidos
Insulina			
Cortisol			
Glucagon			
Tiroideas			
Catecolaminas			

3. El efecto de la insulina en el transporte de glucosa consiste en:
 - a. permitir el transporte contra un gradiente de concentración;
 - b. aumentar la síntesis y traslocación del transportador GLUT4;
 - c. fomentar el transporte a través del epitelio tubular del riñón;
 - d. fomentar el transporte hacia el cerebro;fomentar el transporte a través de la mucosa intestinal.
4. El efecto de la insulina en el metabolismo de las proteínas es:
 - a. totalmente resultado de los carbohidratos metabolizados para obtener energía;
 - b. totalmente resultado del aumento de la anabolia proteínica;
 - c. en parte resultado del aumento del transporte de aminoácidos por la membrana celular;
 - d. en parte causado por el efecto anticetógeno de la insulina;
 - e. en parte resultado del aumento de gluconeogenesis hepática que incrementa la catabolia proteínica.
5. Explique cómo varían los niveles sericos de insulina en función del tiempo, ante la sobrecarga de glucosa. (hasta las 2 hs).
6. Explique la síntesis de Vitamina D y factores reguladores.
7. Indique a nivel de cuáles de los siguientes sitios actúa PTH:
 - a. osteoblastos
 - b. osteoclastos
 - c. osteocitos
 - d. asa de Henle
 - e. nefrona distal

- f. túbulo proximal
 - g. intestino delgado.
8. Cuáles de las siguientes son acciones del cortisol:
- a. estimula la glucogenogenesis hepática
 - b. estimula gluconeogenesis hepática
 - c. inhibe la eritropoyesis
 - d. inhibe la secreción estomacal
 - e. inhibe la reabsorción tubular renal de agua
 - f. estimula la lipólisis
 - g. inhibe la respuesta inflamatoria.
9. Hormonas que se liberan en el stress. Justifique.
10. Explique la síntesis de hormonas tiroideas
11. Complete el siguiente cuadro.

	Función	Secreción salival	Secreción pancreatica	Secreción gastrica	Secreción intestinal	Acción
Amilasa						
Lipasa						
Gastrina						
Colecistocinina						
Secretina						
Acetilcolina						
Nucleotidasa						
Peptidasa						

AUTOEVALUACIÓN

1. Definir qué es una hormona y de que manera actúa.
2. Clasificación de las hormonas según su estructura química. Ejemplos.
3. Clasificación de las hormonas según su modo de liberación.
4. Síntesis y secreción de hormonas peptídicas.
5. Síntesis y secreción de hormonas amínicas o derivadas de aminoácidos.
6. Secreción y síntesis de hormonas esteroideas.
7. Síntesis y secreción de hormonas eicosanoides.
8. Receptores hormonales: concepto y localización.
9. Regulación del número de receptores.
10. Receptores unidos a proteínas G- Mecanismos de 2dos mensajeros .
11. Sistema de la adenilciclasa .
12. Activación del sistema del fosfatidilinositol.
13. Activación del sistema calcio-calmodulina.
14. Sistema de la tirosina quinasa.
15. Mecanismos de acción hormonal a través de la activación de genes (hormonas esteroideas y tiroideas).
16. Regulación del sistema endocrino.
17. Secreción hormonal- Mecanismos de retroalimentación.
18. Transporte hormonal .
19. Eliminación hormonal .
20. Interacción parácrina entre las hormonas pancreáticas.
21. Síntesis de insulina.
22. ¿Cómo se produce la activación del receptor de la insulina? ¿Qué tipo de receptor es?
23. Efecto de la insulina sobre hidratos de carbonos, proteínas y grasas.
24. ¿Cuáles son los transportadores de glucosa que dependen de la insulina? ¿En qué tejidos se encuentran?
25. ¿Cómo se produce la secreción de insulina ante la elevación de la glucosa?
26. ¿En qué zona de la glándula suprarrenal se produce la síntesis de cortisol y por qué?
27. Acciones del cortisol sobre los hidratos de carbono, proteínas y grasas.
28. ¿Cuál es el estímulo para la liberación de cortisol?
29. ¿Cómo se regula su secreción?
30. Efectos del cortisol sobre: células sanguíneas, sobre la inflamación, pulmón fetal, hueso, acidez estomacal, riñón.
31. Efectos renales de PTH . ¿Sobre qué zonas de la nefrona actúa? ¿Qué acción tiene sobre calcio y fósforo?
32. Efectos de PTH sobre células óseas, ¿Cuáles de ellas poseen receptores para la hormona? explicar el mecanismo de acción rápido y lento.
33. ¿Cómo se sintetiza el metabolito activo de la Vitamina D?

34. ¿Cómo está regulada la síntesis de Vitamina D?
35. Glándula Tiroidea: ubicación anatómica.
36. Metabolismo del yodo.
37. Síntesis y secreción de las hormonas tiroideas: síntesis, secreción y transporte plasmático.
38. Metabolismo de las hormonas tiroideas .
39. Control de la función tiroidea: eje hipotálamo- hipofiso-tiroideo
40. Comparación de las funciones de T3 y T4.
41. Receptores de hormonas tiroideas .
42. Mecanismo de acción de las hormonas tiroideas.
43. Describir las acciones de las hormonas tiroideas: acciones metabólicas, efectos sobre el sistema nervioso, sobre el crecimiento, sobre el sistema circulatorio, etc.
44. Pruebas para evaluar la función tiroidea.
45. Secreciones salivales: contenido, glándulas que la producen y sobre qué alimentos actúa.
46. Secreción gástrica: contenido que secreta cada una de las glándulas, sobre qué tipos de alimentos actúa y cómo está regulada la liberación.
47. Secreción pancreática: contenido, sobre qué tipos de alimentos actúa y cómo está regulada la liberación.
48. Cómo se absorben los distintos nutrientes a lo largo del tubo digestivo.

APÉNDICE

Fecha

NOMBRE Y APELLIDO
Fecha de nacimiento:
Domicilio:

MEDIDAS ANTROPOMETRICAS

Peso: Estatura: Cintura: BMI:
Superficie Corporal:

FUNCION RENAL

Creatinina sérica: Creatinina Urinaria:
DCE:

INGESTA DE SAL

Diuresis:
Na urinario : K urinario:

FUNCION CIRCULATORIA

Presión arterial sistólica: Presión arterial diastólica:
Pulso arterial:

BIBLIOGRAFÍA

- CINGOLANI HOUSSAY. *Fisiología Humana*. Ed. El Ateneo, 7^a. Ed. 2000.
- BERNE Y LEVY. *Fisiología*. B. Stanton y B. Koeppen, 4^a. Ed. 2006.
- FOGLIA V. *Guía de Trabajos Prácticos de Fisiología*. Ed. Eudeba. 2^a. Ed. 1975.
- GANONG W.F. *Fisiología Médica*-Ed. Interamericana. 20^a. Ed. 2006.
- GUYTON A. *Tratado de fisiología Médica*. Ed. Interamericana. 11^a. Ed. 2006.
- HOUSSAY B.A. *Fisiología Humana*. Ed. El Ateneo. 4^a. Ed 1975.
- KALINOV A. *El Lab. y su Interpretación semiológica*. Ed. López Libreros. 2^a. Ed. 1984.
- KAPLAN – PESCE. *Química Clínica*. Ed. Panamericana. Ed. 1990.
- ROCHE LABORATORIOS. *Stress*. 1992.
- The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. JAMA 2003; 289.
- WEST B.J.. *Bases Fisiológicas de la Práctica Médica*. Ed. Panamericana. 12^a. Ed. 1993.
- ZIEHER L.M. *Farmacología General y de la Neurotransmisión*. Gráfica Siltor- 3^a. Ed. 2004.