



UADY

FACULTAD DE
MEDICINA

"Luz, Ciencia y Verdad"



LICENCIATURA DE MÉDICO CIRUJANO

**MANUAL DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO
DEL CURSO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS
SEGUNDO AÑO**

Mérida, Yucatán.
2012

M-FMED-LFIS-01/REV:02

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE
YUCATAN
FACULTAD DE MEDICINA**



**MANUAL DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO
DEL CURSO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS**

**COORDINADOR DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS
M.C. Ileana Díaz Cervera**

**RESPONSABLE DEL LABORATORIO DE CIENCIAS
FISIOLÓGICAS
Dr. José Luis Torres Escalante**

Mérida, Yucatán
2012

Índice

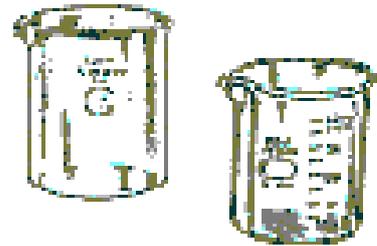
	Introducción	1
	Practica 1 Inducción al Laboratorio de Ciencias Fisiológicas I	9
	Practica 2 Titulación de una mezcla de acido fuerte y de un acido débil	16
	Practica 3 Mecanismos Pasivos de Paso de Sustancias a través de membrana	19
	Practica 4 Análisis de los datos y gráficos en la farmacocinética y farmacometría.	22
	sub. unidad IIA Nervioso-Locomotor	27
	Practica Perfil Neurofarmacologico de los Fenotiacínicos	28
	Practica Fisiología del Músculo Esquelético	31
	Practica Reflejos en el Hombre , postura y equilibrio y electroencefalograma(EEG)	35
	Sub. unidad IIB Endocrino-inmunológico	39
	Practica Tipificación Sanguínea	40
	Practica Variaciones Cíclicas de la Temperatura Corporal y determinación de Gonadotropina Coriónica Humana	42
	Sub. unidad IIIA Digestión-Metabolismo	48
	Practica Digestión de Proteínas	49
	Practica Fisiología y Farmacología del Músculo Liso	51
	Practica Absorción de Glucosa por el Intestino Delgado	54
	Sub. unidad IIIB Cardio-Respiratorio	57
	Practica Fisiología y Farmacología del Músculo Cardíaco	58
	Practica Actividad Eléctrica del Corazón Humano	63
	Practica Esfuerzo Físico Método de Bruce	67
	Practica Movimientos Respiratorios	69
	Sub. unidad IIIC Nefrología-Hematología	72
	Practica Capacidad de Concentración y Dilución Urinaria	73
	Practica Anticoagulantes	77

 Sub. unidad IV Crecimiento-Desarrollo-muerte	79
 Practica Extracción de ADN y lectura del Código Genético	80
 Apéndices	86
 Apéndice A	87
 Apéndice B	93
 Apéndice C	104
 Apéndice D	116
 Apéndice E	122
 Apéndice F	124
 Apéndice G	126
 Apéndice H	127

INTRODUCCION

El trabajo del laboratorio lo podemos definir como el procedimiento instruccional mediante el cual se determinan las causas, efectos, naturaleza o propiedades de cualquier fenómeno (social, psicológico o físico), ya sea a través de la experiencia real o simulada y la experimentación.

Las prácticas de laboratorio “constituyen un factor importante en la adquisición activa de conocimientos y en la formación del futuro médico, especialmente en cuanto a desarrollar en el estudiante, competencias que le ayuden a tener la capacidad de aplicar una mentalidad crítica y un enfoque científico, preparándolo para enfrentar satisfactoriamente los problemas médicos y asimilar los nuevos avances de la medicina.



Las prácticas de este manual han sido estructuradas de tal forma que permitan a los alumnos ponerse en contacto con la observación sistematizada, la experimentación y estimular su interés por todo lo relacionado por las ciencias fisiológicas.

OBJETIVO GENERAL DEL LABORATORIO

Propiciar la integración de los conocimientos teórico-prácticos en Ciencias Fisiológicas a través de la ejecución y análisis de prácticas sistematizadas aplicando la observación sistematizada y la experimentación.

METAS DEL LABORATORIO

- Relacionar el contenido teórico con las prácticas de laboratorio
- Desarrollar en los estudiantes una actitud crítica ante los nuevos adelantos y los descubrimientos científicos.
- Desarrollar la capacidad de emplear en forma sistemática el proceso científico.
- Utilizar apropiadamente las fuentes de información y la capacidad para identificar eficaz y eficientemente la información válida y útil.
- Estimularlo a extraer sus propias conclusiones con base en los resultados obtenidos en el laboratorio.
- Lograr el entrenamiento en algunas técnicas utilizadas en el laboratorio.

REGLAMENTO DE LABORATORIO

1. Durante el curso de Ciencias Fisiológicas, a cada grupo se le asignará un día a la semana, de lunes a viernes para llevar a cabo la práctica.
2. La sesión de laboratorio tendrá una duración de cuatro horas de trabajo práctico a la semana.
3. Las fechas y horas de las prácticas son fijas y solo podrán modificarse por causas de fuerza mayor; en tal caso serán comunicadas con anticipación.
4. Cada alumno podrá realizar su trabajo práctico, únicamente, en el día y la fecha que le corresponda a su grupo.
5. El alumno que no reúna el **80%** de asistencias deberá cursar de nuevo el laboratorio.
6. La lista de presencia se pasará al inicio de la práctica. Todo alumno que no este presente al momento de pasar lista perderá su derecho a tomarla y no podrá intervenir en la realización de su informe. Los horarios de las practicas son: de 7:00 a 11:00hrs (sólo en este horario tienen tolerancia de 15 min.), de 9:00 a 13:00 hrs. y de 11:00 a 15:00 hrs
7. El uso de la bata en el laboratorio será indispensable y no podrá permanecer en el mismo todo alumno que no la porte.
8. Se prohíbe fumar y comer durante las practicas de laboratorio
9. Cada grupo será dividido, según acuerdo con el instructor en equipos de trabajo.
10. **Los alumnos** de cada equipo de trabajo **serán responsables** de la integridad del material.
11. **La limpieza** será **importante**, después de la práctica deberán de dejar el equipo, el material de cristalera y las instalaciones limpias y ordenadas en condiciones de ser usadas de nuevo.
12. Cada alumno tendrá una bitácora, donde anotará las observaciones y resultados que obtenga durante su trabajo, debiendo recabar la firma del maestro al final de la práctica. Esta bitácora se entregará al finalizar cada etapa para su evaluación
13. Cada equipo de trabajo entregará un informe de la práctica de laboratorio, el cual estará basado en los resultados obtenidos durante la práctica y en el material bibliográfico correspondiente.
14. La fecha de entrega del informe del laboratorio será a la siguiente sesión de su practica de laboratorio: "NO ACEPTANDOSE POSTERIORMENTE"

NORMAS GENERALES

Para obtener provecho en una práctica de laboratorio, es necesario seguir ciertas normas que disminuyan al máximo los errores y accidentes.

1. Nunca sacrificar un animal por pequeño que sea si previamente no existe un planteamiento experimental coherente.
2. Todos los **accidentes** personales, por triviales que sean, se comunicaran inmediatamente al profesor.
3. Jamás tener prisa a la hora de realizar la práctica.
4. En las prácticas de laboratorio son indispensables:
 - El máximo grado de **observación** de los fenómenos.
 - El rigor científico.
 - La limpieza.
5. No confiar nada a la memoria, anotar todas las observaciones en la bitácora. Una parte esencial de cualquier trabajo científico es la de consignar por escrito la descripción de lo que se ha hecho y observado en tal forma que permita a cualquiera persona, con cierto conocimiento del tema, repetir el trabajo realizado sin necesidad de guía especial. Las notas de sus observaciones deben ser breves, claras y deben realizarse inmediatamente después de cada paso del trabajo, deben conservarse con orden y limpieza; éstas deben ser una descripción completa y **honest**a de todo lo que el estudiante ha visto y echo
6. Cualquier equipo que se utilice se manejará de acuerdo con el instructivo y una vez utilizado se dejará en condiciones de ser manejado por otra persona.
7. Evitar la contaminación de los reactivos líquidos, para esto es necesario utilizar una pipeta para cada reactivo; En el caso de los reactivos sólidos se utilizará una espátula para cada reactivo.
8. Al manejar sustancias tóxicas hay que prestar particular importancia a la limpieza de manos, lugar de trabajo y recipientes utilizados.
9. Los reactivos para uso general estarán en lugares accesibles para todos. Cada reactivo deberá tener su etiqueta respectiva.

10. La limpieza del material de cristalería se debe realizar inmediatamente después de cada experimento.
11. Una vez realizada la práctica se recogerá todo el material, se pondrá en los contenedores y se llevará al almacén para su limpieza.
12. La obtención de los animales a utilizar en las prácticas será responsabilidad de los estudiantes.
13. En caso de que el grupo se presente sin el respectivo animal para trabajar, se suspende la práctica y **su calificación será nula.**
14. Todos los desechos (animales, tejidos, punzo cortantes, sangre, etc.) se colocarán en bolsas y recipientes especiales. De acuerdo al manejo de RPBI



MEDIDAS DE SEGURIDAD

- Al inicio del Curso los alumnos deberán administrarse las vacunas contra Tétanos y Hepatitis B
- Se prohíbe fumar y comer durante las prácticas de laboratorio.
- El uso de bata de laboratorio (o clínica) es indispensable ya que sirve de protección contra accidentes como: contacto con agentes biológicos, derrame de reactivos, etc.
- Al inicio y al final de cada sesión de laboratorio lavarse las manos.
- Al manejar sangre y líquidos corporales usar guantes.
- En las prácticas donde se manejen animales se deberá utilizar guantes gruesos.
- En caso de mordedura por algún animal favor de informar inmediatamente al maestro para tomar las medidas correspondientes.
- En caso de aspiración de cualquier líquido o reactivo enjuagar inmediatamente y avisar al profesor

CONTENIDO DEL INFORME DE LA PRÁCTICA

Presentación de resultados

Análisis

Conclusiones

Bibliografía.

*NOTA: a continuación se presenta un modelo TABLA 1 (Requisitos para la presentación del informe del laboratorio), en el cual se describe paso a paso cada uno de los apartados

TABLA 1
Requisitos para la presentación del informe del Laboratorio

El informe del laboratorio deberá contener los siguientes elementos:

Presentación de resultados	Esta sección presenta los hechos (resultados) de forma descriptiva. Los resultados pueden presentarse en forma de tablas y figuras, simples o cruzadas. El autor tiene la libertad de utilizar la organización que mejor sea para lograr los objetivos del estudio.
Análisis	En esta sección el alumno trata de explicar porque obtuvo esos resultados y no otros. Así como compararlos con los resultados obtenidos por otros investigadores.
Conclusiones	Pueden ser descriptivas o inferencia les. Afirmación que generaliza un resultado. Redactada como conclusión. Que la conclusión este de acuerdo a los resultados obtenidos.
Referencias bibliográficas	De <u>LIBRO</u> Todas y cada una de las referencias aparecerán alfabéticamente. Todas las citas se ajustarán a la siguiente norma: Autor (apellido -sólo la primera letra en mayúscula-, coma, inicial del nombre y punto; en caso de varios autores, se separan con coma y antes del último con una “y”), año (entre paréntesis) y punto, título completo (en letra cursiva) y punto; ciudad y dos puntos, editorial. Apellido, I., Apellido, I. Y Apellido, I. (1995). <i>Título del libro</i> . Ciudad: Editorial.

CÓMO ORGANIZAR EL ESTUDIO DEL LABORATORIO

Para que los experimentos lleguen a resultados satisfactorios y correctos, será necesario lo siguiente:

- ✓ El estudiante debe leer cuidadosamente las instrucciones del experimento antes de realizarlo.
- ✓ Debe comprender los principios fundamentales implicados en la práctica.
- ✓ Debe reflexionar sobre las relaciones que existen entre el experimento que realiza y otros principios o hechos previamente conocidos.

A continuación se presenta un método sencillo que puede emplearse para el logro del aprendizaje en el laboratorio:

ANTES DE LA
PRACTICA

1) Análisis previo de los pasos de la práctica con el objeto de:

- Buscar información relacionada al tema.
- Organizar las tareas para disminuir del tiempo de trabajo.
- Bosquejar por escrito el problema que plantea la práctica.
- Establecer una o varias hipótesis de trabajo

2) Antes de iniciar la experiencia aclarar los detalles técnicos.

DURANTE LA
PRACTICA

3) Realizar la experiencia, anotando las observaciones realizadas

4) Al finalizar la experiencia, concretar resultados.

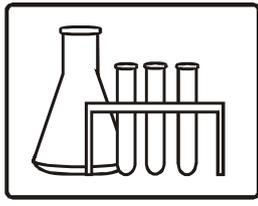
5) Escribir a manera de pregunta cualquier duda que se presente para consultar al maestro y/o revisión

DESPUÉS DE LA
PRACTICA

6) Analizar e interpretar los resultados.

7) Redactar el informe de la experiencia realizada u analizar en equipo.

PRINCIPIOS BASICOS



PRÁCTICA No. 1

INDUCCIÓN AL LABORATORIO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS

INTRODUCCIÓN:

En el estudio de las ciencias de la vida como toda ciencia natural, sólo la explicación causal posee validez objetiva.

La inducción causal constituye así la esencia del método de las ciencias biológicas; pero este proceso ha de adaptarse a la complejidad del ser vivo, por lo anterior las Ciencias Fisiológicas emplean la observación y la experimentación para alcanzar sus objetivos.

OBJETIVO GENERAL

Conocer la normatividad y las características del trabajo que se realiza en el laboratorio de Ciencias Fisiológicas

OBJETIVOS PARTICULARES:

Describir las conductas que deben seguirse en el laboratorio de Ciencias Fisiológicas.

Interpretar la normatividad aplicable al trabajo en el laboratorio de Ciencias Fisiológicas

Manejar los Residuos Peligrosos Biológicos Infecciosos (RPBI) que se generan en el Laboratorio de Ciencias Fisiológicas de acuerdo a la normatividad vigente.

CONOCIMIENTOS PREVIOS:

Normas internacionales para la investigación biomédica con animales.

NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales en el laboratorio.

Ley de Protección de la Fauna del Estado de Yucatán

NOM-052-SEMARNAT-2005, establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos

NOM-087-ECOL-SSA1-2002. Protección ambiental-Salud Ambiental- Residuos peligrosos biológico-infecciosos- Clasificación y especificaciones de manejo

NORMAS INTERNACIONALES PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA CON ANIMALES

La moral en sus principios fundamentales es eterna, hacer el bien, no matar, no dañar deliberadamente, son mandatos validos para el hombre y esto no se refiere solo a los seres humanos sino a todos los seres vivos. La ética trata de determinar lo que es el bien; se manifiesta como la ciencia de la supervivencia, une los conocimientos biológicos a los valores humanos.

Diversos autores han opinado que la experimentación en los seres humanos es deseable pero no esencial y han supuesto que tales investigaciones pudieran realizarse mejor en los animales. Es de gran importancia tener en cuenta la vasta diferencia que existe entre las especies lo que hace que los datos obtenidos en una no sean un indicador confiable en otra. Es importante tener esto en cuenta para no realizar experimentos que sean irrelevantes en los animales.

Muchos científicos piensan que los estudios realizados en animales de laboratorio le brinda una aceptabilidad ética en las pruebas siguientes realizadas con seres humanos; consideran adecuado que los nuevos medicamentos y operaciones quirúrgicas se realicen primero en los animales. Sin embargo otros grupos de investigación en el mundo y las sociedades protectoras de los animales han insistido que la investigación con animales es innecesaria y cruel por lo que han cuestionado la ética existente en el uso de animales de laboratorio.

En años recientes varios países han legislado sobre el tema mencionado. Así, EUA, Inglaterra, Canadá, Japón y otros países incluido México han establecido diversas leyes que regulan la utilización de los animales en la experimentación pero no la han prohibido.

Estos esfuerzos por regular la experimentación con animales para demostrar que la lucha de los antiviviseccionistas no ha sido en vano aunque ha veces ha entorpecido a la ciencia. Durante los últimos años los debates entre viviseccionistas y los antiviviseccionistas se han intensificado. Ambos grupos se han acusado mutuamente de ceguera moral. Se ha hecho universal el precepto de reducir al mínimo el sufrimiento de los animales por medio de la anestesia.

En el futuro inmediato no será posible prescindir de los animales en la experimentación en el campo de la investigación biomédica por lo que es necesario que se resalte el uso humanitario de los animales y que se cumplan con los principios éticos de la experimentación de los mismos. Entre las nuevas tendencias están aquellas que aconsejan que:

- a) A los animales se les den cuidados adecuados.
- b) Que no se les cause dolor innecesario, sufrimiento, estrés o lesiones prolongadas.
- c) Que se evite la duplicación innecesaria de experimentos.
- d) Que el número de animales utilizados se reduzcan al mínimo.

En México la ley general de salud aprueba el uso de los animales en pruebas experimentales.

NOTA. Leer la **NOM-062-ZOO-1999**, específicamente el manejo de Ratas y Ranas

EXPERIMENTACIÓN ANIMAL

El método experimental ha sido aceptado como el medio más adecuado para llegar a un conocimiento científico de los procesos naturales. En este sentido, el uso de animales en la experimentación científica se ha revelado de gran utilidad para el estudio de múltiples problemas médico biológico, funciones orgánicas y efectos o propiedades biológicas de las sustancias químicas.

En general podemos agrupar los experimentos con animales en tres tipos:

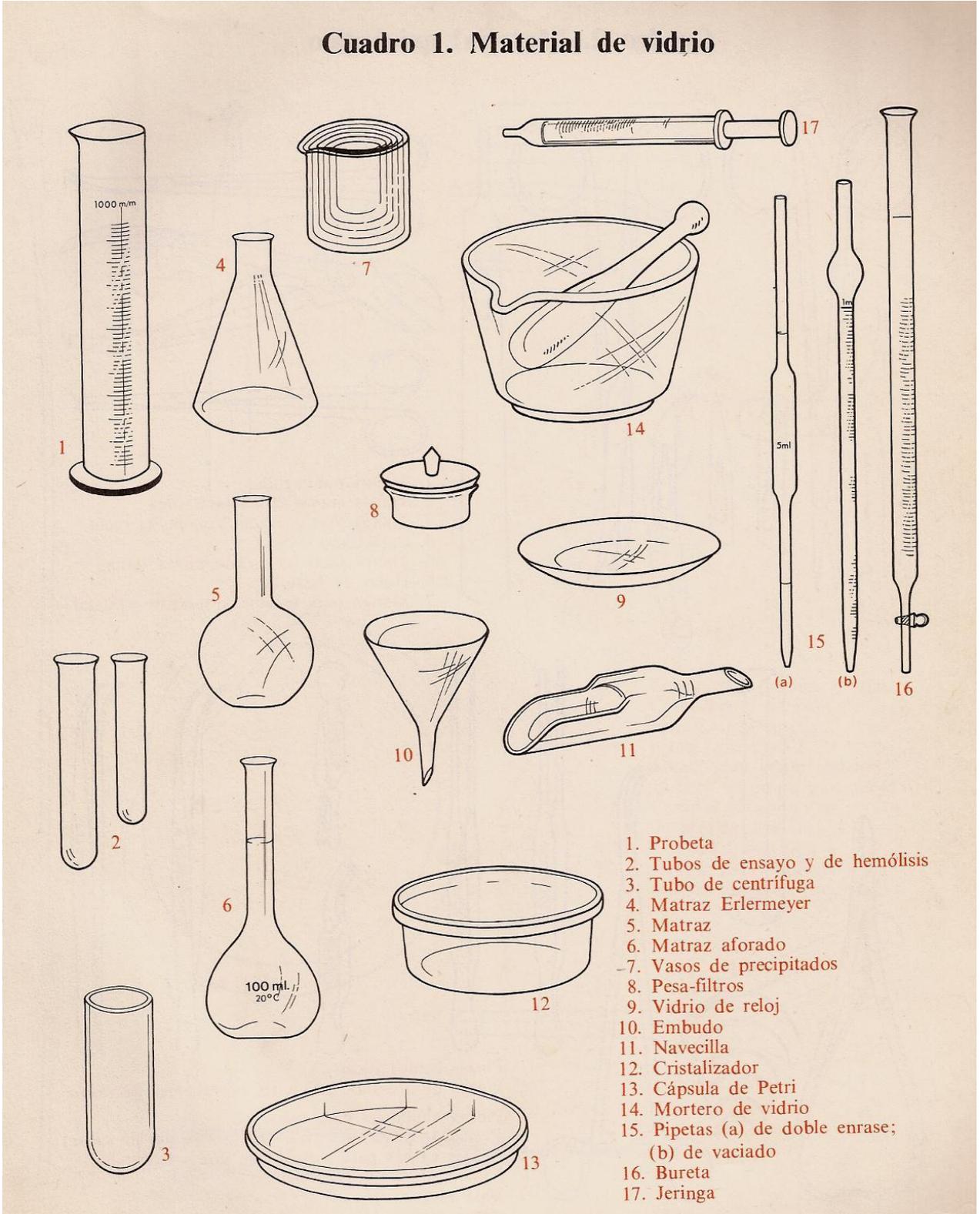
- **In vivo.** Cuando se utiliza al animal íntegro, vivo, consciente o inconsciente para registrar los cambios que ocurren en el animal como un todo.
- **In situ.** Cuando se utilizan animales conscientes o inconscientes, sometidos a cirugía para exponer, sin separar, algunos de sus órganos o tejidos en que se intenta registrar algún efecto. Habitualmente están anestesiados, desmedulados y/o descerebrados, con respiración asistida.
- **In Vitro.** Consiste en obtener de un animal, que fue sacrificado bajo efecto anestésico o sin el, un órgano o un fragmento y mantener dicho órgano en condiciones de temperatura y nutrición similares a las fisiológicas.

BIBLIOGRAFÍA

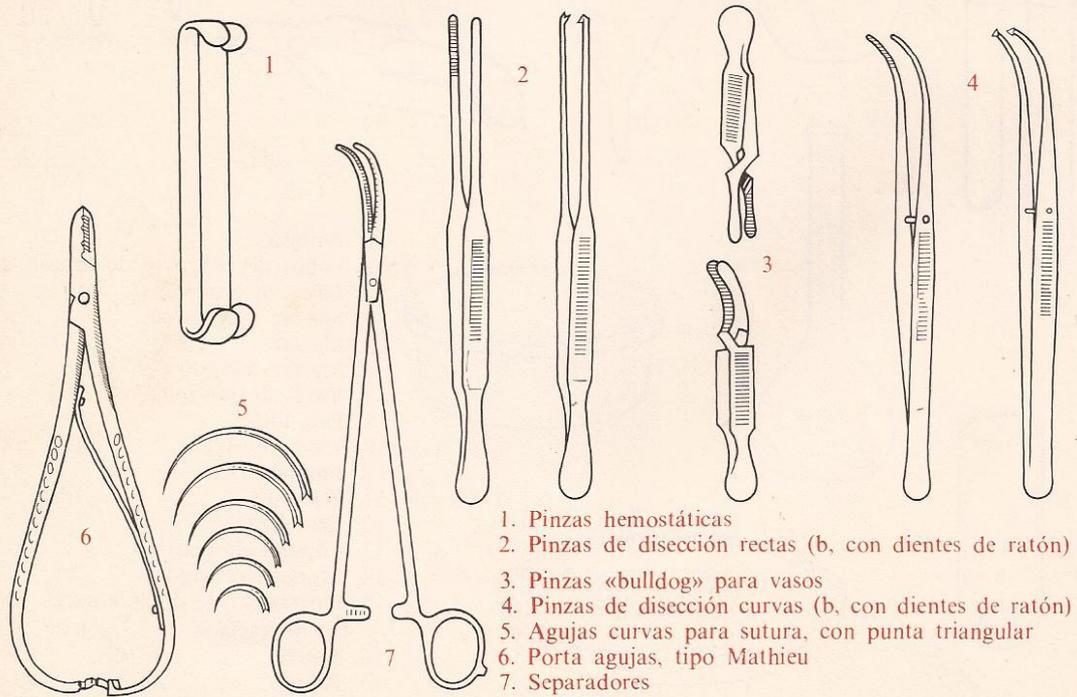
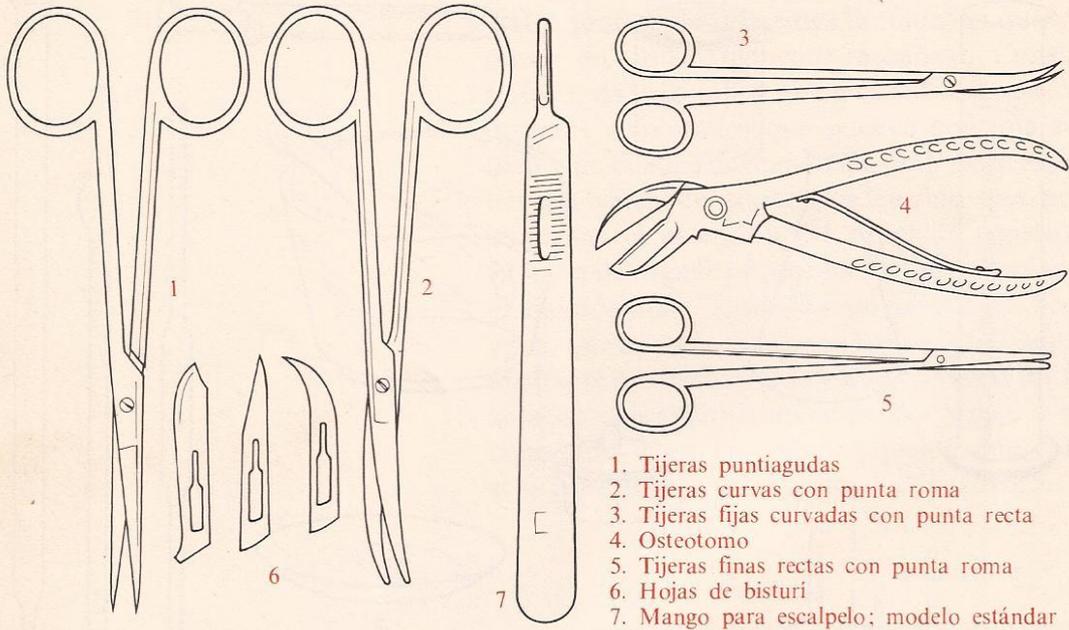
1. López, C. Bioquímica y Biología Molecular. Manuales Departamentales. 1ª edición, México 1999.
2. Quezada Domínguez, Abraham. Introducción de Manejo de Animales de Laboratorio, roedores y pequeñas especies.
3. Slobodanka, (2000). El uso de animales en la Investigación Biomédica. Revista de divulgación y tecnología de la Asociación y ciencia Hoy.

ANEXOS
Equipos y materiales del laboratorio

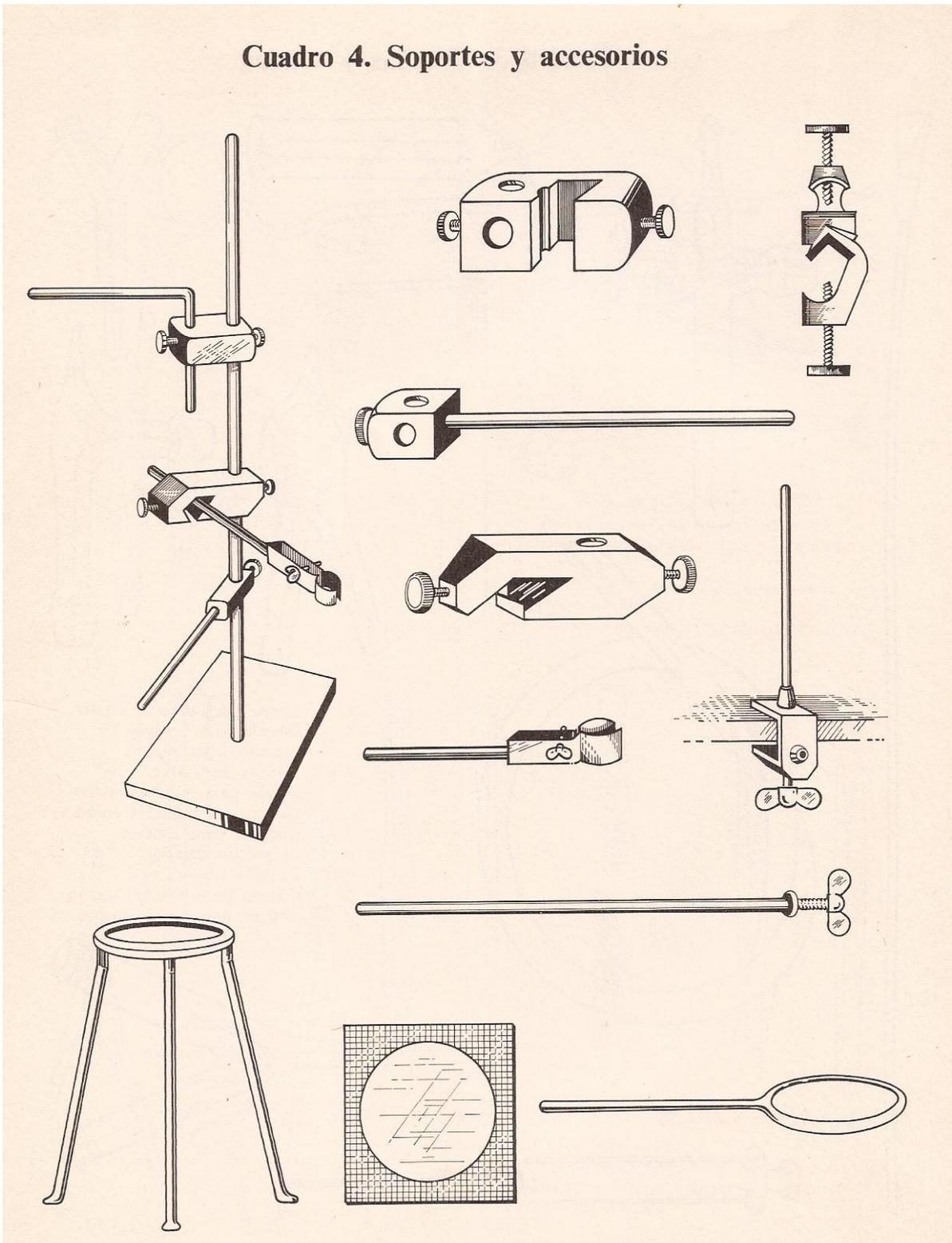
Cuadro 1. Material de vidrio



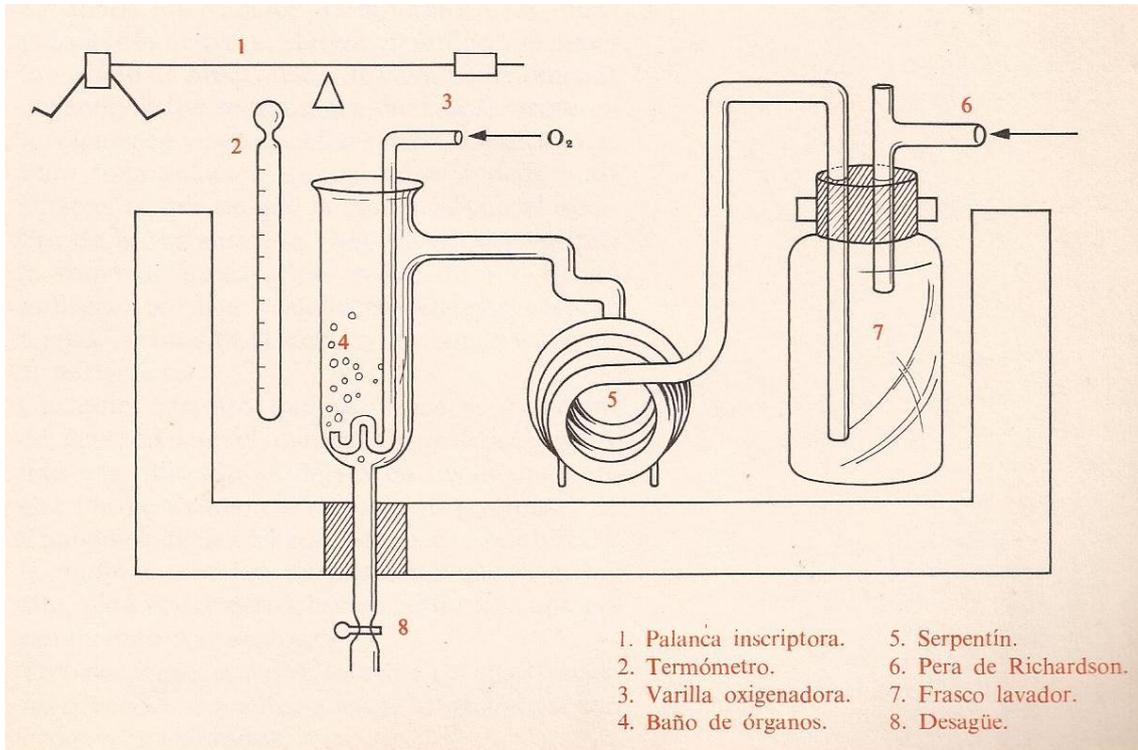
Cuadro 2. Material quirúrgico

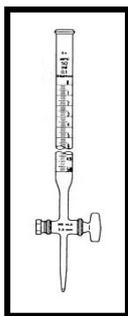


Cuadro 4. Soportes y accesorios



CUADRO 5. BAÑO DE ÓRGANOS





PRACTICA 2

TITULACION DE UNA MEZCLA DE UN ACIDO FUERTE Y UN ACIDO DEBIL

El jugo gástrico consta de una mezcla de HCl libre y ácidos débiles, tales como fosfatos, proteínas y ácidos orgánicos. Una prueba cuantitativa de ambos tipos de acidez puede ser de gran valor en el diagnóstico clínico. Las cantidades relativas de HCl y de ácidos débiles se determinan por titulación usando un indicador que tenga dos límites de pH tal con el azul de timol. Los límites de pH y los cambios de color que los acompañan para el azul de timol son

pH 1.2 – 2.6 Rojo – naranja – amarillo

pH 8.0 – 9.6 Amarillo – Verde- azul

Cuando se titula hasta obtener el primer cambio de color, éste indica la cantidad de HCl libre, mientras que titulando hasta pH 9.6 se determina la acidez total.

OBJETIVO GENERAL

Integrar los conceptos de pH y pK con la acidez y alcalinidad de los líquidos corporales

OBJETIVOS PARTICULARES

-Utilizar los métodos volumétrico y colorimétrico en la determinación de la acidez / alcalinidad.

-Valorar la acidez o alcalinidad de una solución utilizando indicadores.

CONOCIMIENTOS PREVIOS:

Concepto de:

Soluciones	Titulación
Ácido	Base
Sal	Ácido fuerte
Ácido débil	Ionización
Disociación	Indicador
pH	pK
Escala de pH	Acidez libre
Acidez total	

MATERIAL

Soporte Universal	Bureta
Pinza para bureta	Matraz de Erlenmeyer
Agitador de vidrio	Vaso precipitado
Pipetas	

REACTIVOS

HCl 0.1 M
Ácido acético 0.1 M
KOH 0.1 M
Azul de Timol
Agua destilada

PROCEDIMIENTO

El profesor entregará la mezcla simulada de jugo gástrico que fue realizada colocando en un vaso de precipitado de 150 ml lo siguiente:

12 ml de HCl 0.1M
4.5 de ácido acético 0.1 M
13.5 ml de agua destilada.

DETERMINACION DE ACIDEZ TOTAL Y ACIDEZ LIBRE

En un matraz de Erlenmeyer de 125 ml, colocar 10 ml de muestra simulada de jugo gástrico.

Añadir 4 gotas de indicador de azul de timol, mezclar, observar el color.

Titular con KOH 0.1 M hasta que el color rojizo – naranja cambie a naranja – amarillo.

Leer y anotar el volumen de KOH utilizado.

Continuar la titulación hasta que forme un color azul estable y anotar de nuevo el volumen del álcali utilizado.

Repetir de nuevo todo el experimento anotando los volúmenes de KOH usado.

RESULTADOS

Calcula el HCl libre y la acidez total de la muestra en términos de ml 0.1 M /l de ácido en 100 ml de muestra.

VALORES NORMALES PARA EL JUGO GASTRICO:

HCl libre 20 – 30 ml M/l de ácido /100 ml.
Acidez total 30 – 70 ml 0.1 M/l de ácido /100 ml

Compara los resultados obtenidos en la muestra simulada con los esperados según los cálculos teóricos.

DETERMINACION DE pK

MATERIAL

Los mismos utilizados en el procedimiento anterior.

REACTIVOS

Solución de ácidos desconocidos (Proporcionados por los profesores).

KOH 0.1 M

Fenolftaleína

Equipo para medir pH

PROCEDIMIENTO

En un matraz Erlenmeyer de 125 ml marcado previamente, colocar 10 ml del ácido desconocido que se le proporcionará.

Añade 2 gotas de indicador fenolftaleína. Observar si existe cambio de color.

Titula con KOH 0.1 M/l hasta la aparición de color violeta tenue.

Leer y anotar el volumen de KOH 0.1 M/l usado.

Colocar en otro matraz Erlenmeyer de 125 ml, 10 ml de ácido desconocido.

Añadir la mitad del volumen de KOH 0.1 M/l usado en la titulación (que acabas de realizar) y mezclar muy bien la solución.

Medir el pH de la solución obtenida usando el equipo para medir el pH.

Anotar el resultado observando (según las instrucciones de su profesor).

Identificar el ácido que se te proporcionó usando como dato el resultado obtenido y la tabla siguiente:

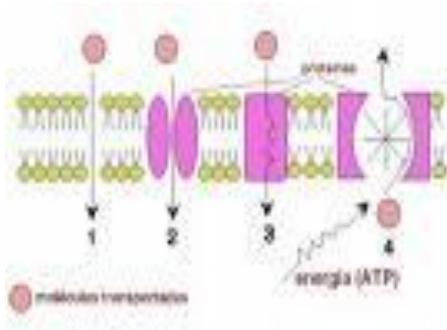
ACIDO	pK
Acetilcetona	± 9.0
Ac. Bórico	± 7.1
Ac. trimetilacético	± 5.0
Ac. tricloroacético	± 2.2
Ac. Acético	± 4.7
Ac. Benzoico	± 4.3
Ac. trifenilacético	± 4.0
Ac. fórmico	± 3.8
Ac. acetilacético	± 3.6
Ac. Mandé lico	± 3.4
Ac. Sulfanílico	± 3.2

RESULTADOS

Escribe el nombre del ácido que se te proporcionó y su pK

BIBLIOGRAFIA

1. Fundamentos de Bioquímica Voet, Voet. 2° ed. 2006 Editorial Médica Panamericana



PRACTICA 3

MECANISMOS PASIVOS DE PASO DE SUSTANCIAS A TRAVES DE MEMBRANAS.

OBJETIVO GENERAL. Correlacionar el paso de sustancias a través de membranas con los mecanismos que siguen las sustancias para moverse en un organismo humano.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Observar los diversos factores que modifican la difusión.
2. Corroborar el efecto de la variabilidad osmótica en las membranas celulares.

CONOCIMIENTOS PREVIOS.

Estructura de membrana.

Características de los procesos que permiten el paso a través de membranas biológicas.

Concepto de Difusión, diálisis, ósmosis.

Propiedades coligativas de las soluciones

Conceptos de: hipotónico, hipertónico, normo tónico, osmolaridad y hemólisis

Método de extracción de sangre.

MATERIAL.

Tubos de ensayo de 10 y de 20 ml.

Vasos de precipitado de 125 ml.

Tubo de ensayo grande.

Pipetas.

Gradillas.

Pinzas de buretas.

Soportes universales

Espectofotómetro

Jeringa

Liga

EQUIPOS

Centrifuga (Consulta el apéndice E del Manual de Prácticas de Laboratorio)

Espectofotómetro

Placa de Calor.

REACTIVOS.

Azul de metileno al 2% y al 8%.

Solución diluida de hidróxido de amonio 2%

Soluciones de NaCl de distintas concentraciones.

Heparina al 10% de 5000 U.I.

Suspensión de grenetina.

PROCEDIMIENTOS

Procedimiento 1. En dos vasos de precipitado, conteniendo azul de metileno a concentración de 2% y 8% respectivamente se sumergen sendos tubos de ensayo llenos con agua, en forma invertida y de tal maneta que su borde esté sumergido aproximadamente 1 cm. (pasada esta distancia se comienza a observar la difusión) de la superficie de azul de metileno. (Para esto después de llenar el tubo de ensayo con el agua des ionizada se coloca un pedazo de papel en el borde libre, se fija con un dedo y se invierte, se fija con una pinza a un soporte universal y se sumerge en el azul de metileno, se retira cuidadosamente el papel con ayuda de un aplicador de madera) Se anota la hora de inmersión y se mide la lectura inicial (**Medir el tiempo de ascenso de la sustancia**).

NOTA: Si existe la posibilidad pegar una tira de papel milimétrico al tubo con una escala a partir de cero con incrementos de 0.5 cm. O señalar la escala con plumón indeleble. Medir el tiempo de ascenso con el cronómetro

Procedimiento 1A. Se repite el procedimiento anterior usando ahora tubos de ensayo de mayor calibre.

Procedimiento 1B. Se repite el procedimiento 1, con solución de azul de metileno a la concentración dada por el maestro.

Se calienta la solución del vaso, colocando éste sobre la placa de calor, puesta sobre la base del soporte universal

Nota. Tener cuidado con el ascenso de la temperatura de la placa de calor.

Procedimiento 1C. Se repite el procedimiento 1, pero ahora en lugar de azul de metileno se usa permanganato de potasio al 2% y 8% respectivamente.

Procedimiento 2. Preparación de la grenetina: Preparar una solución de grenetina al 7% en agua destilada, previamente se calienta el agua y se coloca la grenetina hasta que ésta se disuelva,

Marcar dos juegos de cuatro tubos chicos y colocarlos en una gradilla, añadirles a cada uno 5 ml de la solución de grenetina asegurándose que no presenten burbujas.

Deje enfriar cuatro de los tubos a temperatura ambiente y los otros cuatro en el refrigerador.

Cuando los tubos estén fríos, añada un mililitro de los colorantes en el siguiente orden:

1. Azul de metileno al 2%
2. Permanganato de potasio al 2%
3. Rojo Congo al 2%
4. Ácido pícrico al 2%

Anotar la hora, colocar los tubos a temperatura ambiente y los otros cuatro en el refrigerador

Dejarlos reposar por lo menos 24 hrs. antes de hacer la observación. Medir las distancias que corre el colorante.

Procedimiento 3. Con el fin de valorar de manera indirecta el paso de agua por difusión simple en los eritrocitos, estos se incubarán a diferentes concentraciones de Cloruro de Sodio, el procedimiento está dividido en tres partes:

1. Obtención de sangre

2. Incubación de los eritrocitos
3. Cuantificación de la hemoglobina.

A continuación se describe cada una de las partes.

1. Obtención de sangre.

Se extrae 6.0 ml de sangre de un voluntario sano con una jeringa estéril. Se coloca en un tubo de ensayo que contiene heparina al 10% de 5000 U.I. (0.1ml de heparina por cada ml de sangre), agitar suavemente por inversión.

2. Incubación de los eritrocitos.

Se marcan 8 tubos de ensayo pequeños, se coloca 3.0 ml de cloruro de sodio de distintas concentración a cada tubo de ensayo, posteriormente se le agrega 0.5 ml de la sangre y se deja incubar a temperatura ambiente durante 15 min.

3. Cuantificación de la hemoglobina.

Al terminar el tiempo se centrifugan los tubos a 2000 r.p.m. durante 15 minutos. Se transfiere 1.0 ml del sobre nadante a tubos de ensayo grandes los cuales contienen previamente Hidróxido de amonio. (9.0 ml) a cada tubo.

Se recomienda antes de empezar la práctica numerar los dos grupos de tubos de ensayo, para evitar confusiones.

Una vez realizado lo anterior, se leen las soluciones en el espectrofotómetro a 535 nm contra un blanco de Hidróxido de amonio.

Tubo	1	2	3	4	5	6	7	8
% Transmitancia								
D.O.								
% Hemólisis								

Debe construirse una gráfica del % de hemólisis en función de la os molaridad de las soluciones salinas.

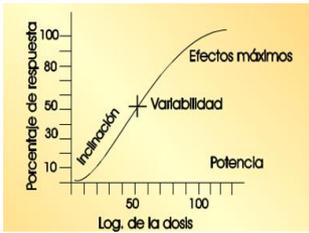
Tubo	1	2	3	4	5	6	7	8
Os molaridad								

D.O. Problema

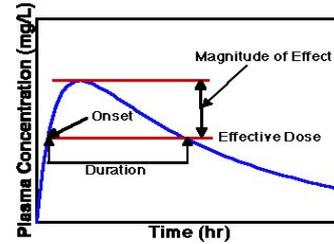
$$\% \text{ de hemólisis} = \frac{\text{D.O. Problema}}{\text{D.O. Blanco}} \times 100$$

BIBLIOGRAFIA

1. Bioquímica con aplicaciones clínicas 4^a ed. Thomas M. Devlin 2004. Edit. Reverte.
2. Tratado de Fisiología Medica Guyton and Hall. 11^a ed. 2006. Editorial Elsever



PRACTICA 4 ANÁLISIS DE LOS DATOS Y GRÁFICOS EN LA FARMACOCINÉTICA Y FARMACOMETRÍA



OBJETIVO GENERAL. Analizar gráficamente los principales procesos de la acción farmacológica que se lleva a cabo en el organismo humano y sirven de base a la terapéutica medicamentosa.

OBJETIVOS PARTICULARES.

3. Comprender los procedimientos realizados para él, estudio de la farmacocinética y la farmacometría.
4. Elaborar gráficos de concentración plasmática v.s. tiempo y de dosis administrada v.s. intensidad del efecto.
5. Realizar el análisis gráfico para obtener los datos de periodo de latencia, vida media plasmática, dosis efectiva media margen de seguridad e índice terapéutico.
6. Correlacionar los procesos farmacológicos con la terapéutica medicamentosa.

CONOCIMIENTOS PREVIOS.

Etapas de la acción farmacológica.
Gráficoado en papel milimétrico.
Conceptos de farmacometría y farmacocinética.
Análisis e interpretación de gráficos.

MATERIAL.

Calculadora científica.
Papel milimétrico y/o semilogaritmico.

PROCEDIMIENTOS:

Análisis de la metodología experimental para los estudios farmacocinéticos.
Análisis de la metodología experimental para los estudios farmacométricos.
Manejo de los datos experimentales farmacológicos

EXPERIMENTOS

Experimento 1.

Con el fin de probar un nuevo fármaco en su capacidad de ser un sedante hipnótico (Fármaco A) se realizará la comparación con una benzodiazepina con actividad sedante hipnótica y ya comercializada (Fármaco B), se utilizará como método de estudio el test para “evaluar la capacidad de potenciación del tiempo de sueño inducido por el barbitúrico hexobarbital en el ratón”.

Una vez realizado el ensayo, los resultados obtenidos indicados como parejas de valores dosis-tiempo y de sueño, han sido los siguientes:

Fármaco A en estudio

dosis mg/kg	Sueño T en seg.
100	6
120	10
140	14
260	36
520	60
900	78
950	80

Fármaco B ya comercializado

dosis mg/kg	Sueño T en seg.
11	16
15	20
30	42
50	58
100	80
120	82
140	82.5

ACTIVIDADES

1. Representar gráficamente las correspondientes curvas dosis-respuesta en Papel milimétrico y/o semilogaritmico y responder a las siguientes preguntas:
 - a.-Cuál es la dosis eficaz cincuenta (DE_{50}) para cada uno de los compuestos ensayados?
 - b.- Actúan ambos fármacos sobre el mismo o distintos receptores? Razonar la respuesta.
 - c.-Cuál de los dos fármacos es más potente y cuál presenta mayor afinidad por el receptor e indicar por qué?

Experimento 2.

Se pretende estudiar la relación estructura-actividad para una serie de agonistas, todos ellos compuestos de amonio cuaternario (**A**: acetilcolina, **B**: bromuro de tetrametilamonio; **C**: bromuro de N-pentiltrimetilamonio; **D**: bromuro de N-heptiltrimetilamonio), para conocer la actividad y la relación molar equipotente (equimolar) de cada uno de estos compuestos en relación a acetilcolina.

Se ensayan las cuatro moléculas utilizando la preparación de intestino (ileon) de ratón, observando así el grado de contracción que ejercen sobre esta preparación de músculo liso a distintas concentraciones obteniendo para cada uno de los cuatro agonistas las siguientes parejas de valores:

ACETILCOLINA

CONCENTRACIÓN (nM)	25	50	100	200	300	400
GRADO CONTRACCIÓN (cm)	2	4	6	8,5	9,5	9,8

COMPUESTO B

CONCENTRACIÓN (nM)	100	400	1000
GRADO CONTRACCIÓN (cm)	2	6,2	9

COMPUESTO C

CONCENTRACIÓN (nM)	300	1000	3000
GRADO CONTRACCIÓN (cm)	1,3	5,5	9

COMPUESTO D

CONCENTRACIÓN (nM)	1000	3000	8000
GRADO CONTRACCIÓN (cm)	1	5	8,5

ACTIVIDADES

- 1.-Representar las correspondientes curvas dosis-efecto utilizando papel milimétrico o semilog.
- 2.-Obtener el valor de la DE_{50} y los pD_2 correspondientes para cada compuesto. Indicar además el orden de potencia relativa para los cuatro compuestos.
- 3.- ¿Cuál es el argumento que se podría esgrimir para decidir si los cuatro compuestos actúan sobre el mismo receptor muscarínico o actúan sobre distintos receptores?.

Experimento 3.

Se han ensayado dos compuestos, acetilcolina y atropina, sobre la contractilidad del ileon de ratón. Los valores obtenidos utilizando el agonista sólo, o el agonista en presencia de una concentración 2.3 nM de antagonista, son los siguientes:

AGONISTA SOLO		AGONISTA EN PRESENCIA DE ANTAGONISTA	
[Acetilcolina] μ M	Contracción, mg de tensión	[Acetilcolina] μ M	Contracción, mg de tensión
0.16	2	1.90	1
0.18	6	2.10	4
0.22	14	2.60	16
0.29	30	5.80	54
0.56	60	9.00	79
1.10	90	12.00	94
1.30	98	13.00	98
1.50	99	-----	----

ACTIVIDADES

1. Representar gráficamente los valores obtenidos en papel milimétrico o semilog.
2. Indicar qué tipo de antagonismo es el que se observa.
3. Señalar qué puntos de las sigmoideas deberían estar en línea recta.
4. Calcular la constante de disociación del agonista y el correspondiente pD_2 .
5. Calcular el pA_2 del antagonista sabiendo que dicho parámetro es igual al log negativo de su constante de disociación.

Experimento 4.

Tras la administración i.v. de 300 mg del antiepiléptico fenitoína, se monitorizan las concentraciones plasmáticas a distintos tiempos, obteniéndose las siguientes parejas de valores correspondientes a tiempo (horas) y concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$), respectivamente:

Tiempo (hrs)	Cp ($\mu\text{g/ml}$)
5	4.70
10	3.65
20	2.40
30	1.45
40	0.93
50	0.65

ACTIVIDADES

- 1.-Representar gráficamente en papel milimétrico, y determinar orden de la cinética.
- 2.-Determinar la k_e , $T_{1/2}$, V_D , CLs , y área bajo la curva (AUC).
- 3.-Suponiendo que realizamos la administración del mismo fármaco p.o. e i.m., y que las respectivas AUCs son 84 y 56 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$, calcular la biodisponibilidad para cada vía de administración.
- 4.-Interpretar los valores obtenidos.

Experimento 5

La fenitoína se administra a un paciente la dosis de 300 mg, pero ahora por vía oral, obteniendo así las siguientes parejas de valores correspondientes a tiempo (horas) y concentración plasmática ($\mu\text{g/ml}$), respectivamente:

Tiempo (hrs)	Cp ($\mu\text{g/ml}$)
1	0.65
2	2.0
5	3.55
10	4.05
15	3.60
20	3.20
30	2.0
40	1.20
50	0.75

ACTIVIDADES

- 1.- Graficar la concentración plasmática (Cp) v.s. tiempo utilizando papel milimétrico
- 2.- Graficar el \log_{10} de Cp frente al tiempo, utilizando papel milimétrico.
- 3.- Observar la elevación y la caída subsiguiente de la Cp con el tiempo. Apreiciar también que la pendiente terminal de la curva es lineal. A partir de ese fragmento de la curva, calcular k_e y $T_{1/2}$.
- 4.- Comparar los valores obtenidos para estos dos parámetros con el resultado obtenido en el ejercicio anterior.

BIBLIOGRAFIA

1. Bioquímica con aplicaciones clínicas 4^a ed. Thomas M. Devlin 2004. Edit. Reverte.
2. Tratado de Fisiología Médica Guyton and Hall. 11^a ed. 2006. Editorial Elsevier
- 3.- Pharmacological Experiments on intact preparations. Staff of the Department of Pharmacology. University of Edinburgh. 1970.
- 4.- Pharmacological Experiments on isolated preparations. Staff of the Department of Pharmacology. University of Edinburgh. 1970.
- 5.- The DOSE-RESPONSE Relation in Pharmacology Tallarida and Jacob. Springer-Verlag N.Y. Heidelberg Berlin 1979.
- 6.- Farmacocinética Clínica Básica. Winter Michael. Universidad de California 2^a Ed. Ed. Díaz de Santos, SA 1998.
- 7.- Biopharmaceutic and Pharmacokinetic an introduction. Notari Robert 2^a ed. Ed. Marcel Dekker N.Y. 1975.
- 8.- Introducción a la Farmacocinética. Carcamo Edison. Departamento de ciencias Farmacológicas. Universidad de Chile. OEA 1982.

SUB UNIDAD IIA
NERVIOSO-LOCOMOTOR



PRACTICA PERFIL NEUROFARMACOLOGICO DE LOS FENOTIACINICOS

OBJETIVO GENERAL.

Analizar el perfil de los fenotiacínicos en un modelo animal.

OBJETIVOS PARTICULARES.

Determinará el perfil neurofarmacológico de la clorpromazina en la rata.

Diferenciará los resultados producidos por la vía oral y parenteral.

CONOCIMIENTOS PREVIOS.

Neurofisiología del sistema límbico.

Concepto de neuroléptico.

Relación de las enfermedades psiquiátricas con el sistema límbico.

Farmacología de las fenotiacinas.

Características del estado cataleptico.

Efecto farmacológico de la Clorpromazina.

Técnica de aplicación de fármacos (Vía oral e intraperitoneal).

MATERIAL BIOLÓGICO

Seis ratas de 250 g aproximadamente. (Por grupo)

INSTRUMENTAL:

Cánulas de administración oral.

Jeringas de 3 ml.

Jeringas para insulina.

Contenedores para observación de las ratas.

Balanza granataria.

REACTIVOS Y/O FÁRMACOS:

Clorpromazina.

PROCEDIMIENTO.

Las tres ratas se marcan de diferente forma para diferenciarlas.

Se pesan las ratas, por separado, anotando el peso de cada una.

Se efectúan los cálculos correspondientes (Para cada rata) para la aplicación del fármaco (Clorpromazina) a razón de 20 mg. por Kg. de peso.

A una de las ratas se le administra el fármaco (Previo calculo de la dosis correspondiente) por vía oral. Anote el tiempo a partir del momento de la aplicación

A otra rata se le administra el fármaco por vía Intraperitoneal. Anote el tiempo a partir del momento de la aplicación

Una tercera rata (A la que no se aplica fármaco) servirá como control.

Se compara la actividad de las ratas experimentales con la de la rata control.

En caso de muerte anote el tiempo transcurrido desde el momento de la administración del fármaco.

Recuerde que la observación y la exploración cuidadosa le permitirán identificar y diferenciar con precisión las diversas manifestaciones de la acción del fármaco.

Para una observación metódica se da a continuación una guía.

NOTA. PARA PODER COMPLEMENTAR LAS OBSERVACIONES DEL EFECTO DE LA CLOROPROMAZINA EN LAS RATAS, LOS ALUMNOS SON RESPONSABLES DE LLEVARSELAS A SUS CASAS.

GUIA PARA LA OBSERVACION Y EXPLORACION DE LAS RATAS.

“Para cada una de las variables anote las observaciones.”

1.- Actividad locomotora.

Observe el desplazamiento espontáneo de las ratas. Para apreciar correctamente esta manifestación, póngalas sobre la superficie de la mesa.

2.- Aumento de la base de sustentación.

Observe la postura de las extremidades de las ratas, es decir si están extendidas o contraídas, si descansa o no sobre su abdomen.

3.- Marcha tambaleante.

Desplazamiento irregular e incordinado.

4.- Temblor.

Movimiento discreto o continuo del cuerpo o de alguna de sus partes.

5.- Inmovilidad.

Permanencia, sin movimientos corporales, para apreciar correctamente esta manifestación, tome a la rata de la cola y dépositela suavemente en otra parte de la mesa.

6.- Pilo erección.

Levantamiento persistente de los pelos del dorso.

7.- Signo de Straub.

Levantamiento persistente de la cola, la cual toma la forma de J.

8.- Estereotipia.

Movimiento repetitivo sin un propósito aparente. (Por ejemplo: acicalamiento, movimientos masticatorios, desplazamientos en círculos, etc.).

9.- Convulsiones.

Movimientos alterados de flexión y estiramiento (Cuando predomina el estiramiento se puede apreciar hiperextensión de la parte posterior y, habitualmente, se presenta la muerte).

10.-Pasividad.

Ausencia de respuesta de estímulo. Sople con fuera sobre la rata y observe su conducta.

11.- Manejo del animal.

Grado de dificultad o resistencia que presenta un animal para ser manipulado.

12.- Fuerza muscular.

Resistencia que opone el animal a la tracción. Para esta maniobra coloque a la rata sobre el contenedor, tómelo de la punta de la cola y tire hacia atrás suavemente.

13.- Plano inclinado.

Desplazamiento a lo largo de una superficie inclinada a 45°. Coloque al animal en el centro de la superficie inclinada. (Los animales no afectados pueden permanecer por más de 5 segundos).

14.- Catatonia.

Inmovilidad en alguna posición forzada. Tome a la rata por el dorso y por la cola y trate de que descansa una de sus patas delanteras sobre una superficie elevada de 3 a 5 cm. (Se permanece en esa posición por mas de 5 segundos anótelo como catatonia.

15.- Reflejo nociceptivo.

Movimiento brusco del animal habitualmente acompañado de chillidos, en respuesta a la aplicación de un estímulo nociceptivo. Coloque al animal sobre el contenedor y haga tracción jalándolo de la cola. Aplique la pinza a 1 cm. de la base y retire rápidamente sus manos. La respuesta es positiva cuando el animal MUERDE la pinza en un periodo de 10 segundos.

BIBLIOGRAFIA

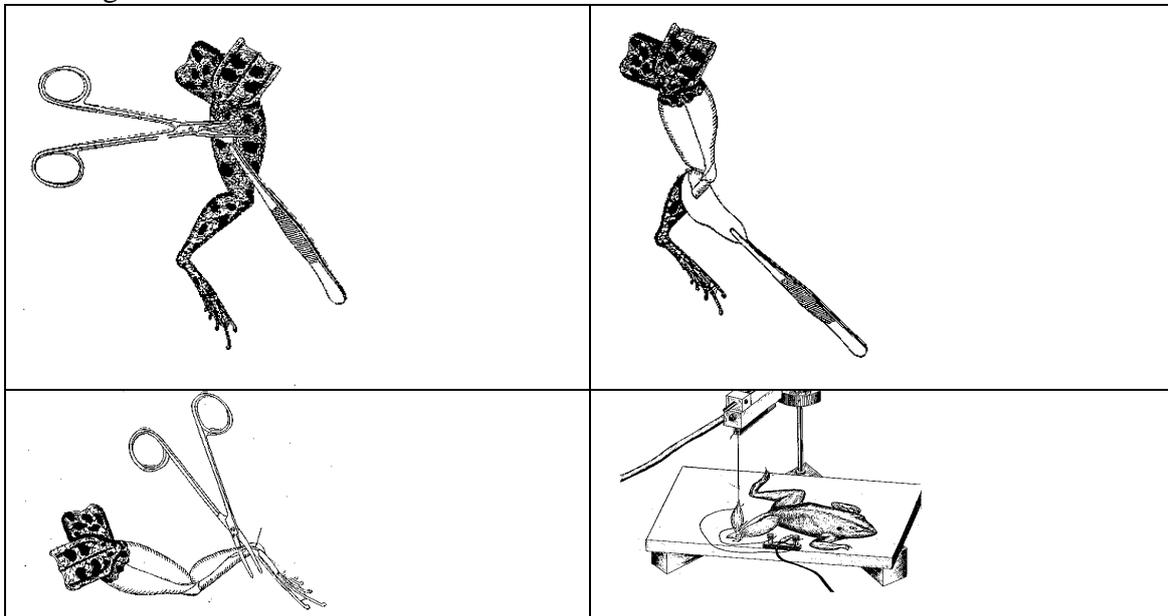
1. Farmacología Básica y Clínica. Velásquez. 17^a ed. Editorial Panamericana
2. Guyton and Hall. Tratado de Fisiología Médica. 11^a edición. 2006 Editorial Elsevier Saunders
3. William F. Ganong. Fisiología Médica. 20^a edición 2005, Editorial Manual Moderna
4. J. A. F. Tresguerres., Fisiología Humana. 3^a edición 2005. Editorial Mc. Graw Hill Interamericana

PROCEDIMIENTO.

- 1.- Corte la cabeza de la rana, con la tijera especial, según las instrucciones de su profesor.
- 2.- Destruya la medula espinal, con un estilete, según las instrucciones de su profesor.
- 3.- Utilizando el equipo de disección quite la piel del muslo y de la pierna con la cual se desee trabajar.
- 4.- Libere el músculo gastronemio, teniendo cuidado de no lesionar el paquete vasculonervioso del mismo.
- 5.- Corte el tendón de Aquiles lo más cerca posible de su inserción.
- 6.- Amarre con hilo de seda el tendón de Aquiles, y el otro extremo del hilo amarrarlo al miógrafo F-2000, para efectuar el montaje.

NOTA: PARA ESTE MOMENTO YA DEBE ESTAR CORRECTAMENTE CALIBRADO EL FISIOGRAFO, SEGÚN LOS CRITERIOS DADOS EN LA PRÁCTICA

Ver figuras.



- 7.- Proceda a insertar los electrodos de aguja, uno en cada extremo de la masa muscular del gastronemio, procurando dañarlo lo menos posible.
- 8.- Ajuste la tensión del montaje para iniciar registro. (Procure no dar mucha tensión al músculo).
- 9.- Conecte los electrodos a los bornes del estimulador.
- 10.- Aplique un estímulo de 12 voltios al músculo a manera de prueba y verifique si el desplazamiento de la pajilla inscriptora es lo suficientemente amplio para poder interpretar el registro. (Si el desplazamiento es escaso, pruebe con otra sensibilidad o se revisa la tensión de amarre del músculo).

Nota: El músculo debe recibir aporte de solución de Ringer para rana para prevenir la desecación.

Una vez obtenido un registro adecuado se procede con lo siguiente:

Procedimiento 1.- Determinación del umbral de estimulación (estimulador Harvard)

Para este registro, se selecciona velocidad de papel de 2.5 mm/seg.; aplique un estímulo de 0 voltios, deje transcurrir 10 segundos y aplique un estímulo de 1 voltio, repita los estímulos cada 10 segundos aumentando en cada ocasión un voltio, hasta llegar a 20 voltios

Procedimiento 2.- Contracción muscular simple, tiempo de latencia, tiempo de contracción máxima y tiempo de relajación (estimulador Harvard).

Verifique que las pajillas inscriptoras del registro del músculo y del marcador de tiempo estén alineadas y registren a la misma altura del papel. Seleccione la velocidad de 5 cm./seg. Tomando en cuenta los datos del procedimiento No. 1. Aplique un estímulo suficiente para provocar una contracción máxima.

Procedimiento 3.- Efecto de la temperatura sobre la contracción muscular simple (estimulador Harvard)

Repita el procedimiento 2 después de haber bañado al músculo con solución de Ringer frío durante 5 minutos.

Procedimiento 4.- Sumación temporal, tetanización. (Estimulador Student polaridad monobásica)

Seleccione la velocidad de 5 cm./seg. aplique estímulos de 20 voltios con frecuencia de uno por segundo, registre las contracciones durante 5 segundos. A intervalos de 3 minutos repita la estimulación con frecuencia de: 4 por segundo, 8 por segundo, 15 por segundo, 30 por segundo y 60 por segundo.

Procedimiento 5.- Fatiga (estimulador Student)

Seleccione la velocidad de 0.5 cm./seg. , Aplique durante 1 minuto estímulos de 20 voltios con una frecuencia de uno por segundo. Deje reposar la preparación durante 5 minutos y estimule de nuevo durante un minuto, pero con frecuencia de 8 por segundo.

Observaciones: Una vez terminado el registro, Apagar fisiógrafo, Retirar el montaje, Sacrificar a la rana para luego colocarla en una bolsa especial de color amarillo, Lavar todo el material y cristalería utilizada, Revisar que todo el laboratorio este ordenado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Guyton and Hall. Tratado de Fisiología Médica. 11ª edición. 2006 Editorial Elsevier Saunders
2. William F. Ganong. Fisiología Médica. 20ª edición 2005, Editorial Manual Moderna

ANEXO: MANEJO DE LOS ESTIMULADORES:

Los estimuladores son dispositivos que sirven para enviar señales eléctricas capaces de estimular células y/o tejidos de un organismo vivo.

Estas señales o estímulos tienen algunas características básicas, como son: la amplitud o **INTENSIDAD** del estímulo, la **DURACIÓN** de dicho estímulo en sí, y la **FRECUENCIA**, es decir cuantas veces se repetirá dicho estímulo en una unidad de tiempo.

ESTIMULADOR HARVARD:

- 1.- Bornes que se conectan a los electrodos, por ellos sale la señal eléctrica.
- 2.- Palanca con la cual se dispara el estímulo. Puede dispararse de dos maneras: hacia abajo (**SINGLE**) dispara un estímulo único. Hacia arriba (**MÚLTIPLE 60 PPS**) dispara estímulos con una frecuencia de 60 por segundo.
- 3.- Selectores de voltaje: el botón superior sirve para seleccionar el voltaje (de 0 a 20 voltios). El botón inferior multiplica el voltaje seleccionado (por 10) con el botón superior, y también sirve para prender o apagar el aparato.
- 4.- Luz indicadora.- Se prende cada vez que sale un estímulo.

ESTIMULADOR STUDENT:

- 1.- Llave de prendido y apagado.
- 2.- Luz indicadora de salida de estímulo.
- 3.- Disparador de estímulos únicos o repetitivos.
- 4.- Selector de corriente directa continua, o de corriente alterna.
- 5.- Selector de estímulos únicos o repetitivos.
- 6.- Botones selectores de **DURACIÓN**, **FRECUENCIA** E **INTENSIDAD** (los botones de la derecha multiplican los valores seleccionados con los botones de la izquierda).
- 7.- Bornes para la salida del estímulo.

NOTA. Ver apéndice H



PRACTICA REFLEJOS EN EL HOMBRE POSTURA Y EQUILIBRIO Y ELECTROENCEFALOGRAMA (EEK)

OBJETIVO GENERAL

Examinar en un individuo íntegro y normal los reflejos que le permitan integrar parte de la función de SNC, los componentes de la postura y el equilibrio así como correlacionar eventos eléctricos del encéfalo con la vigilia y el sueño.

OBJETIVOS PARTICULARES: El alumno:

- Realizara las diversas técnicas para desencadenar los reflejos más comunes
- Correlacionara los conceptos fisiológicos de cada uno de los reflejos realizados, correspondientes al examen neurológico.
- Realizara pruebas de postura y equilibrio.
- Interpretara la respuesta obtenida de cada reflejo estudiado y proceso estudiado.
- Realizara un estudio electroencefalográfico.

CONOCIMIENTOS PREVIOS

- Estructura y función de la neurona.
- Transmisión sináptica.
- Fisiología de receptores.
- Arco reflejo.
- Reflejos mono y poli sináptico.
- Técnicas propedéuticas de la medición de reflejos.
- Receptores de aceleración angular.
- Mecanismos productores del nistagmus.
- Eventos eléctricos de SNC

MATERIAL.

- Biológico:
- Sujetos voluntarios humanos.

INSTRUMENTAL

- | | | |
|----------------------|-----------------------|---------------|
| Martillo de reflejos | Compás estesiométrico | Regla |
| Abate lenguas | Algodón. | Fuente de luz |
| Isopos. | Electroencefalograma. | |

PROCEDIMIENTOS

Realiza las instrucciones que se te indiquen y toma nota del nombre del reflejo correspondiente y tus observaciones.

(Recuerda que antes de cualquier procedimiento exploratorio medico debes de efectuar aseo de manos).

REFLEJO	PROCEDIMIENTO
Conjuntivo o corneal.	Toque la cornea del sujeto en estudio con un algodón limpio.
Palatino	Toque el paladar blando del sujeto en estudio con un abate lenguas.
Faríngeo	Toque la pared de la faringe del sujeto en estudio con un abate lenguas.
Cutáneo pupilar	Pellizque (haciendo presión) la mejilla del sujeto en estudio.
Epigástrico	Deslice suavemente los dedos sobre el abdomen del sujeto en estudio.
Rotuliano	El sujeto en estudio sentado, cruza una pierna, golpee con el martillo el tendón del cuadriceps.
Aquiliano.	El sujeto en estudio flexiona una pierna sobre una silla manteniendo la pierna opuesta en extensión tocando el piso, golpee el tendón de Aquiles de la pierna flexionada con el martillo de reflejos.
Bicipital	La persona que explora sostiene con el brazo izquierdo el brazo derecho del sujeto en estudio, flexionándolo levemente, colocando el pulgar izquierdo de la mano exploradora sobre el tendón del bíceps derecho del sujeto golpee con el martillo sobre el pulgar del explorador.
Supinador	Sujete en pronación el antebrazo izquierdo del sujeto en estudio, de tal manera que descansa sobre el brazo izquierdo del explorador, golpee el tendón del supinador largo.

Foto motor

Tape los ojos del sujeto en estudio con la mano, colóquelo frente a una fuente de luz, retire bruscamente la mano que tapa los ojos, observe las pupilas.

2. DISCRIMINACION DE DOS PUNTOS

Mida cual es la separación de las puntas del compás estesiométrico con la que el sujeto en estudio percibe dos estímulos aislados diferentes en las siguientes zonas del cuerpo: dorso y palma de la mano, frente, nuca y espalda.

Estimule suavemente la piel del sujeto en observación alterando al azar la aplicación de una o dos puntas del compás sin que el sujeto vea el tipo de estimulación que se aplica (Se sugiere iniciar con aberturas de 0.5 cm., e ir incrementando en 0.5 cm. en cada ocasión).

3. SENSACIÓN PROPIOCEPTIVA.

a. Localización en el espacio:

Se mantiene al sujeto en observación con los ojos cerrados y sus brazos semiextendidos. Se le indica juntar los dedos índices de manera que se toque las yemas.

En caso de no coincidir las yemas de los dedos, indique al sujeto que repita dichos movimientos con los ojos abiertos.

Seguidamente, se le indica al sujeto en estudio que cierre los ojos y repita la prueba.

Compruebe si el entrenamiento por repetición mejora el resultado.

b. Sensación vestibular

En un espacio amplio, indique al sujeto en estudio, ponerse de pie e iniciar giros hacia su derecha, a razón de una vuelta por segundo aproximadamente.

Se suspende el movimiento giratorio al completar cinco vueltas, observar si existe o no algún cambio en cuanto al movimiento de los ojos. (Nistagmus).

Repita el procedimiento giratorio en el mismo sujeto, solo que en esta vez dando 10 giros, observe.

Repetir ahora con 15 giros, observe.

Repita el mismo procedimiento con otro sujeto de estudio, solo que en esta vez los giros 5, 10, o 15, son hacia la izquierda.

4.- POSTURA Y EQUILIBRIO:

Puesto que la postura es en sí una resultante del tono y está ampliamente relacionada con el equilibrio, investigaremos que efectos tienen la supresión de aferencias sensoriales como la visión y el aparato vestibular, para lo cual haremos uso de las siguientes pruebas:

A. PRUEBA DE UNTERBERGER.

Indique a un voluntario que camine sobre una línea previamente marcada en el piso bajo las siguientes condiciones:

Con los ojos abiertos y la cabeza en posición normal.

Observe y anote.

Luego con los ojos abiertos y la cabeza inclinada hacia su izquierda.

Observe y anote.

Luego con los ojos abiertos y la cabeza inclinada hacia su derecha.

Observe y anote.

(Seguidamente repita los tres ejercicios anteriores solo que ahora con los ojos cerrados).

Observe y anote.

B. PRUEBA DE BARRÉ.

Indicar a un voluntario que ejecute los siguientes procedimientos:

De pie y con los ojos abiertos.

Parado en un solo pie (Izquierdo) y con los ojos abiertos.

Parado en un solo pie (Derecho) y con los ojos abiertos.

Observe y anote.

Repetir los procedimientos anteriores, solo que ahora con los ojos cerrados.

Observe y anote.

Indique al voluntario que con los ojos abiertos efectúe una rotación hacia su derecha.

Observe y anote.

Indique al voluntario que con los ojos abiertos efectúe una rotación hacia su Izquierda.

Observe y anote.

Repita los 2 procedimientos anteriores pidiendo al voluntario que cierre los ojos.

Observe y anote.

5.- TOMA DE ELECTROENCEFALOGRAMA (EEK)

BIBLIOGRAFÍA

1. Guyton and Hall. Tratado de Fisiología Médica. 11ª edición. 2006 Editorial Elsevier Saunders
2. William F. Ganong. Fisiología Médica. 20ª edición 2005, Editorial Manual Moderna
3. J. A. F. Tresguerres., Fisiología Humana. 3ª edición 2005. Editorial Mc. Graw Hill Interamericana
4. Purves Dale., Neurociencia. 3ª edición 2007. Editorial Médica Panamericano

SUB UNIDAD IIB
ENDOCRINO-INMUNOLOGICO



PRACTICA TIPIFICACIÓN SANGUÍNEA

OBJETIVO GENERAL

Analizar los resultados obtenidos en las pruebas de tipificación sanguínea fundamentándolos en respuesta antígeno-anticuerpo.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Interpretar las reacciones de aglutinación
- Determinar los grupos ABO y Rh (D) en hematíes

CONOCIMIENTOS PREVIOS

- Grupos sanguíneos
- Antígeno
- Anticuerpo
- Aglutinación
- Prueba de Coombs

MATERIAL BIOLÓGICO

- Sangre

INSTRUMENTAL Y/O EQUIPO

- Jeringas de 10 ml.
- Tubos de ensayo
- Gradilla
- Aplicadores de madera
- Portaobjeto
- Lápiz disparador de lancetas
- lancetas
- Centrífuga
- Papel parafilm.

REACTIVOS Y/O FARMACOS

- Sueros tipificadores anti-A, anti-B y anti-D

PROCEDIMIENTO

Determinación del grupo sanguíneo

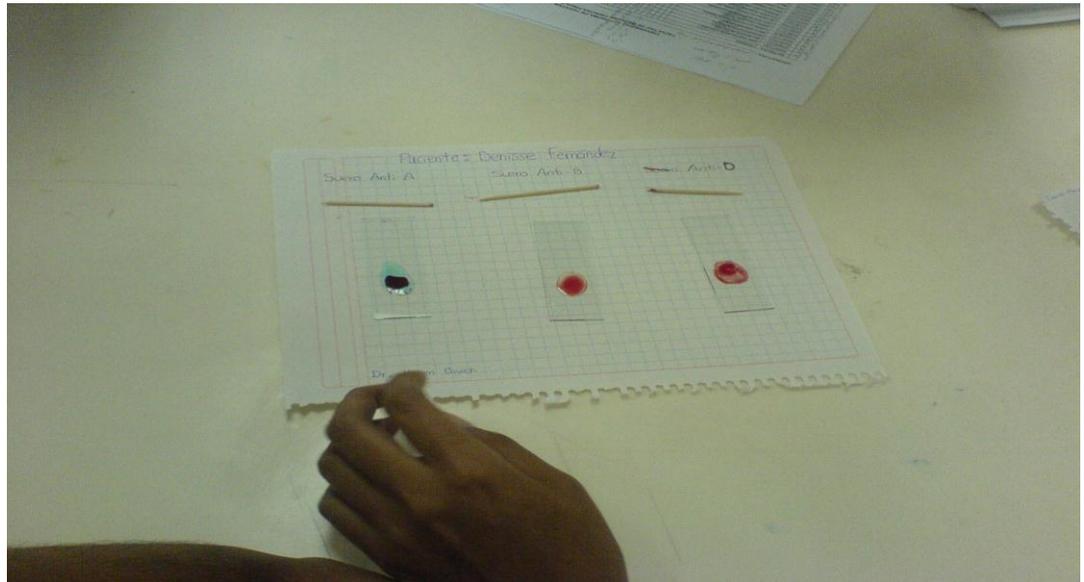
- 1.- Se limpia el dedo con alcohol y algodón.
- 2.- Se pica el dedo con la lanceta.
- 3.- Sobre un portaobjetos limpio, previamente marcado, colocar separadamente tres gotas de sangre (gotas de aproximadamente 0.5 cm. de diámetro).

4.- Sobre una gota de sangre poner suero tipificador anti-A, en otra gota poner suero tipificador anti-B y sobre la tercera gota poner suero tipificador anti -Rh (D).

5.- Mezclar lentamente con un aplicador de madera, haciendo círculos y observar la existencia o no de aglutinación (el tiempo de observación es de aproximadamente 1 minuto).

6.- Determinar la aglutinación e interpretar el resultado. Puede visualizarse en un microscopio en caso de que la reacción sea muy débil.

7.- Determinar la frecuencia de cada grupo sanguíneo en la clase y compararlas con las frecuencias establecidas.



BIBLIOGRAFIA

1. Fisiología Médica, William F. Ganong 20^a ed. 2005. Editorial Manual Moderno
2. Tratado de Fisiología Medica, Guyton and Hall 11^a ed. 2006. Editorial Elsevier Saunders
3. Ferrer AC, Ruiz CM, Peraza GR. Manual de practicas de inmunología, Cap I Determinación de grupos sanguíneos. Titulación de antisueros. Ed. Masson, 2004.

PRACTICA
VARIACIONES CÍCLICAS DE LA TEMPERATURA
CORPORAL Y DETERMINACIÓN DE
GONADOTROPINAS CORIONICA HUMANA.
(PRUEBA DEL EMBARAZO)

Primera etapa

OBJETIVO GENERAL

Con base en los resultados obtenidos durante la toma de temperatura de un mes, analizar las variaciones en las funciones fisiológicas que se presentan bajo las siguientes condiciones: oral y axilar, hombres y mujeres, ovulación.

Del mismo modo se analizará la presencia de gonadotropina coriónica humana en la orina.

OBJETIVOS PARTICULARES.

1. Determinar las variaciones de temperatura que se presentan normalmente durante las actividades diarias.
2. Determinar las variaciones de temperatura que se presentan normalmente en un período no menor de 28 días, en sujetos del sexo femenino
3. Explicar las diferencias y/o semejanzas en las variaciones de temperatura que se presentan normalmente en un período no menor de 28 días en hombres y mujeres.
4. Determinar la presencia de gonadotropina coriónica humana en muestras de orina.

CONOCIMIENTOS PREVIOS.

Metabolismo basal

Temperatura basal

Regulación de la temperatura corporal

Temperatura normal del cuerpo

Mecanismos que regulan la temperatura

Indicadores de la ovulación

Fisiología del ciclo reproductor de la mujer

Cambios hormonales durante el embarazo

MATERIAL.

Termómetro clínico.

Pruebas de embarazo

MATERIAL BIOLÓGICO

Orina de mujer embarazada (una por grupo)

Orina de mujer no embarazada

Orina de hombre

PROCEDIMIENTO

En una sesión previa se dio las instrucciones de la forma y de las condiciones para la toma de temperatura:

- a) Durante un mes tomar la temperatura basal por las mañanas oral y axilar; antes de levantarse, antes de cualquier actividad. Se anota la hora y los dos valores obtenidos.
- b) En un día seleccionado de ese mes determinar las temperaturas bucal y axilar a intervalos señalados por el instructor, para obtener el ciclo diario de temperatura; se anotan la hora y los valores de la temperatura, para cada observación.

Antes de cada determinación de temperatura, asegurar:

1. Que la columna de mercurio del termómetro se encuentre marcando temperaturas menores de 36° C; llevándola a este nivel con sacudidas rápidas.
2. El aseo del termómetro, antes y después de cada determinación; puede hacerse por inmersión del instrumento en una solución germicida.

El procedimiento para la determinación de la temperatura axilar es ya conocido; para la temperatura bucal, la técnica consiste en colocar el bulbo con el depósito de mercurio del termómetro debajo de la lengua y cerrar los labios; para asegurar una lectura precisa, no debe existir un exceso de movimientos y no caminar durante el intervalo que dure la medición (3 a 5 minutos); para el caso de la aplicación bucal, no debe hablarse en el lapso referido.

Al final de toda la actividad, el estudiante contará con una tabla de la temperatura basal y una tabla de registros de las variaciones obtenidas en 24 horas.

REGISTRO MENSUAL DE TEMPERATURA

Día	Temperatura Bucal (° C)	Temperatura Axilar (° C)	Día	Temperatura Bucal (° C)	Temperatura Axilar (° C)	Día	Temperatura Bucal (° C)	Temperatura Axilar (° C)

REGISTRO DE TEMPERATURA DIA _____

Día	Temperatura Bucal (° C)	Temperatura Axilar (° C)	Día	Temperatura Bucal (° C)	Temperatura Axilar (° C)	Día	Temperatura Bucal (° C)	Temperatura Axilar (° C)

Con los datos obtenidos:

- 1) Establecer los límites de temperatura obtenidos.

- 2) Realizar el análisis de estadística descriptiva de las temperaturas basales, que incluye la determinación de la media, la mediana y la desviación estándar.
- 3) Elaborar las gráficas pertinentes con los valores obtenidos del ciclo diurno y del ciclo mensual.
- 4) Interpretar las gráficas.

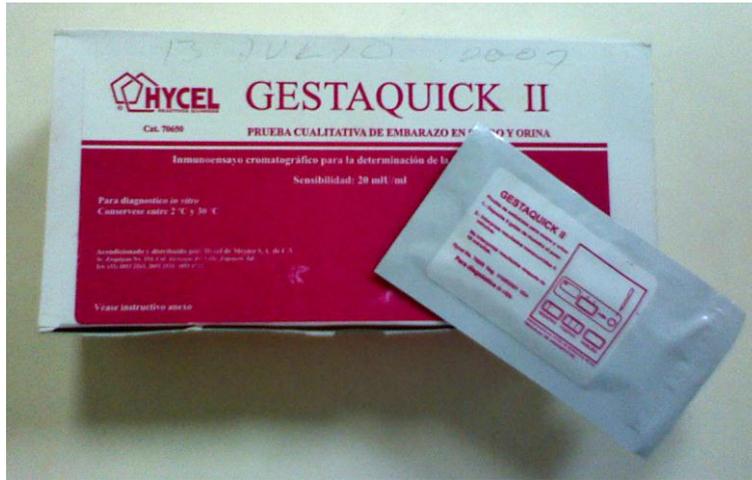
GUÍA DE ESTUDIO:

- a. ¿Qué significa el término “temperatura normal?”
- b. ¿Existen cambios en la temperatura basal de las mujeres del grupo, que no se produzcan al azar?
- c. ¿Permiten las gráficas detectar el momento de la ovulación?
- d. ¿Cuáles fueron los límites de temperatura obtenidos durante un día completo?
- e. ¿Cuál es la explicación de las diferencias de temperatura que se establecen entre un individuo del sexo masculino y otro del sexo femenino durante un día?

Segunda etapa

PROCEDIMIENTO.

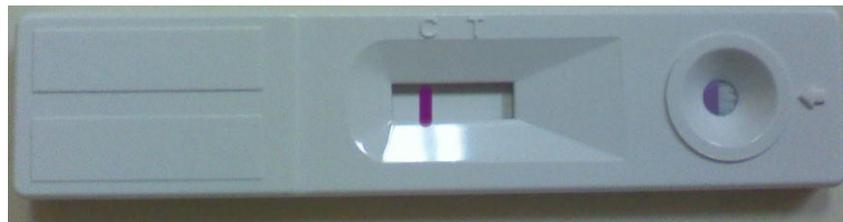
1. Saque el cartucho y la pipeta desechable de su empaque, rotule el cartucho con el nombre del paciente.
2. Llene la pipeta hasta la marca con la muestra de orina o suero.
3. deposite 5 gotas (aproximadamente 0.2ml) de la muestra en el pozo correspondiente
4. Espere a que las bandas de color aparezcan en la zona de la reacción
NO interprete resultados después de 10 minutos



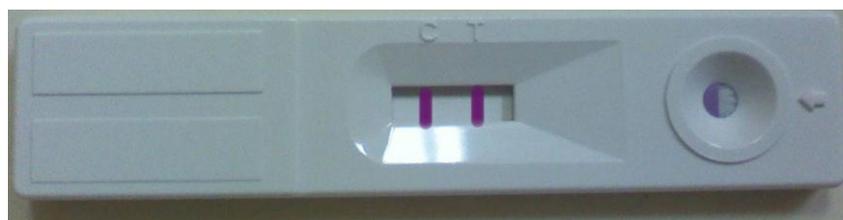
Presentación del kilt



Contenido del kilt



Resultado Negativo



Resultado Negativo



Resultado Invalido

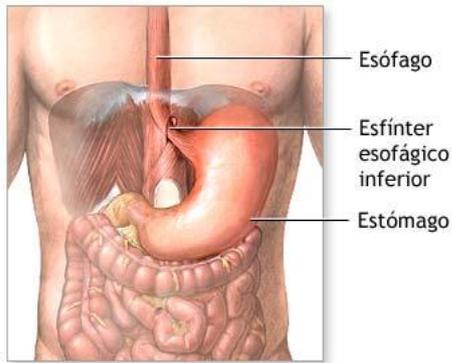
LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. Además del embarazo, existen otras condiciones que dan lugar a niveles elevados de HCG (enfermedades trofoblásticas y ciertos neoplasmas no trofoblásticos), las cuales deberán ser interpretadas en caso de evidencia clínica
2. los títulos elevados de HCG en hombres, son extremadamente útiles tanto en el diagnóstico como en el tratamiento de tumores testiculares.
3. si una muestra de orina se encuentra muy diluida puede no contener niveles representativos de HCG. Si existe sospecha de embarazo deberá usarse la orina procedente de la primera micción del día
4. como ocurre con cualquier prueba de diagnóstico, un diagnóstico clínico definitivo no debe basarse en los resultados de una sola prueba sino en la evaluación que el médico haga de todos los descubrimientos clínicos y de laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA.

- 1.- Ganong W.F., Fisiología Medica, 20ª edición, 2005. Manual moderno
- 2.- Guyton A, Tratado de Fisiología Medica. 11ª edición. 2006 Editorial Elsevier Saunders
3. J. A. F. Tresguerres., Fisiología Humana. 3ª edición 2005. Editorial Mc. Graw Hill Interamericana

SUB UNIDAD IIIA
DIGESTION-METABOLISMO



PRACTICA DIGESTION DE PROTEINAS

ADAM.

OBJETIVO GENERAL:

Conocer los procesos de la digestión de proteínas.

OBJETIVOS PARTICULARES:

Medir el la degradación con respecto al tiempo.

Describir los tres tipos de hidrólisis mencionando las ventajas y desventajas de cada una de ellas

CONOCIMIENTOS PREVIOS

Estructura de las proteínas.

Degradación de proteínas.

Acción enzimática.

Titulación.

Indicadores. (Fenolftaleina).

Tipos de hidrólisis

MATERIALES

Matraz Erlen-Meyer.

Baño de agua a temperatura constante.

Pipetas.

Placa de calor.

Bureta

Pinza para bureta

Soporte universal

Embudo

REACTIVOS:

Tripsina al 0.1% en solución de pH 7.4

Solución de grenetina al 5%. En pH 7.4

Solución de Formol neutralizado.

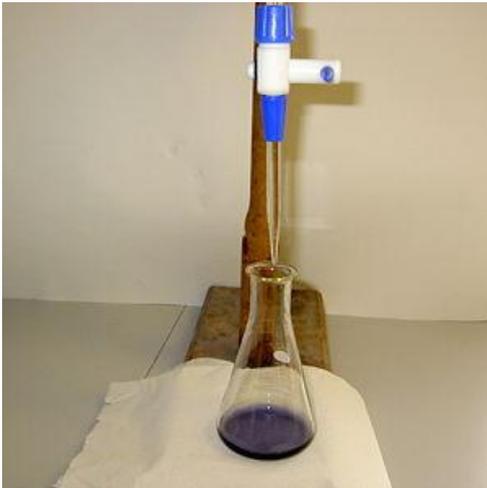
Solución alcohólica de Fenolftaleina.

Hidróxido de sodio al 0.1N

PROCEDIMIENTO:

1. A un frasco esmerilado que contiene 50 ml de solución de grenetina al 5% en pH 7.4 el cual se encuentra en el Baño de agua s 37°C, añadir 10 ml de solución de Tripsina al

- 0.1 % **NOTA. Solo se le agrega una sola vez la solución de Tripsina**
2. Agita por rotación. Este se tomara como el tiempo cero. La mezcla no debe extraerse del baño de agua.
 3. Pipetea 10 ml de la mezcla gelatina-Tripsina y pásalos a un matraz e inmediatamente colócalo en una placa de calor.
 4. Caliente hasta que le contenido comience a hervir, retirar del calor y esperar que se enfríe a temperatura ambiente.
 5. Añadir al mismo matraz 15 ml de solución de Formol neutralizado, mezclar por rotación y agregar **3 gotas de Fenolftaleina** (indicador).
 6. Titúlese la muestra con hidróxido de Sodio 0.1 N, hasta el vire adecuado, anote el gasto de ml de Hidróxido de Sodio.
 7. Repetir los pasos 3, 4, 5 y 6. A los 30, 60, y 90 minutos.



RESULTADOS

Calcular el gasto real, restando el gasto obtenido de hidróxido de sodio del tiempo cero del gasto de cada uno de los otros tiempos.

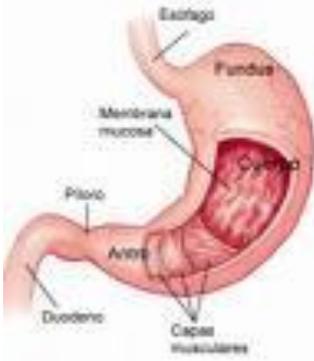
$$\text{Gasto Problema} - \text{Gasto del tiempo cero} = \text{Gasto Real}$$

Elabora una tabla con los gastos reales y tiempos.

Elabora una grafica de los gastos reales y tiempo.

BIBLIOGRAFIA

1. Jhon W. Baynes Marek, Bioquímica Médica. 2^a edición en español, 2006 Editorial Elsevier Mosby
2. Stuart Ira Fox. Fisiología Humana. 7^a edición. 2003. Editorial Mc. Graw Hill Interamericana



PRACTICA FISIOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA DEL MUSCULO LISO

OBJETIVO GENERAL

Analizar las características de contractilidad del músculo liso, así como la respuesta a la exposición de diversos fármacos.

OBJETIVOS PARTICULARES.

En un registro:

1. Identificar la contracción normal del músculo liso del estómago de una rana.
2. Identificar las modificaciones que sufre la contracción del músculo liso del estómago de una rana bajo el efecto de la adaptación a una nueva tensión y de la temperatura.
3. Identificar la respuesta farmacológica del músculo liso del estómago de una rana al ser expuesto a diversos fármacos.

CONOCIMIENTOS PREVIOS:

Características estructurales del músculo liso.

Fisiología molecular de la contracción muscular.

Tipos de músculo liso.

Características mecánicas de la contracción del músculo liso.

Relaciones electro mecánicas de la contracción.

Efectos farmacológicos de la Atropina y Carbacol.

MATERIAL

Caja de Petri

Cámara de preparación para órgano aislado

Tabla para rana

Estilete

Hilo de seda

Estilete

Hilo de seda

Tijera para descerebrar

Piseta

EQUIPOS.

Equipo de disección

Fisiógrafo Narco Biosystems

Transductor F-60

Bomba de circulación a temperatura constante

REACTIVOS

Ringer para rana a temperatura ambiente

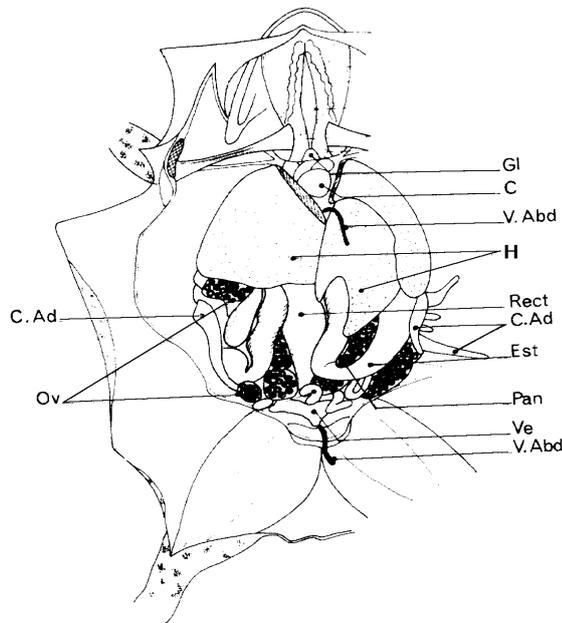
Ringer para rana frío

Atropina 10^{-6} Molar

Carbacol 10^{-6} Molar

PROCEDIMIENTO.

- 1.- Descerebrar a la rana con una tijera de jardín y desmedular con un estilete
- 2.- Se abre al abdomen y se extrae el estómago.



Vísceras en su lugar (hembra). C: Corazón; C.Ad.: Cuerpo Adiposo; Est.: Estómago; H.: Hígado; Gl.: Glotis; Ov.: Ovarios; Pan.: Páncreas; Rect.: Recto; V.Abd.: Vena Abdominal; Ve.: vejiga.

- Se coloca el estómago de la rana en una caja de Petri conteniendo solución de Ringer a temperatura de 37° C para eliminar el exceso de sangre
- 3.- En la misma caja, se disecciona el estómago abriéndolo con un corte en espiral de tal manera que se forme una tira y se corta en fragmentos de tres centímetros.
 - 4.- Se pasa la tira estomacal a una nueva caja de Petri conteniendo solución de Ringer a 37° C

NOTA. Al inicio de la práctica se procede a calibrar el Fisiógrafo.

Montaje

- 1.- Con el hilo de seda se ligan los extremos del fragmento de estómago
- 2.- Se coloca en una cámara de preparación aislada, anudando un extremo en el porta tejido y el otro extremo en el miógrafo.

3.- La cámara de preparación aislada debe contener solución de Ringer para rana a 37° C (para lo cual debe estar conectada la bomba de circulación a temperatura constante) y además, hacerle burbujear gas carbógeno a través del oxigenador.

4.- Una vez montado el tejido en la cámara, se enciende el amplificador del fisiógrafo y se aplica al tejido una tensión aumentándola gradualmente hasta llegar a un gramo. (Comenzarán las contracciones rítmicas).

5.- Reajustar en caso necesario la sensibilidad o la tensión del hilo a manera que obtengamos un registro de varios centímetros de amplitud. Determinar la frecuencia y la amplitud de las contracciones.

6.- Se espera que se estabilicen las contracciones (lo que puede durar alrededor de 5 a 10 minutos) y cada 5 minutos se cambia el Ringer de la cámara de órgano aislado (en total 1 o 2 veces).

Una vez que la contracciones son estables se procede al registro de:

A.- Contracción Espontánea Normal. Con velocidad de papel de 0.1 cm. /seg. , Sensibilidad de 10, se registrará durante 1 minuto

B.- Adaptación a una nueva tensión. Sin parar el registro anterior se aplica 1 gramo de tensión en forma progresiva, se registra durante 3 minutos y se detiene el registro.

C.- Efecto del Carbacol. Se registra la contracción espontánea normal durante 1 minuto, y sin parar el registro se añade a la cámara de preparación aislada 0.2 ml de Carbacol (a la concentración de 10^{-6} M) y se registra durante 1.5 minutos, luego se para el registro. (El registro puede durar mas tiempo para observar todo el efecto del fármaco).

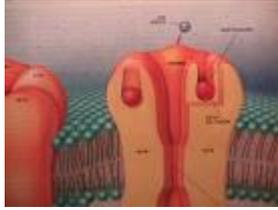
D.- Efecto de la Atropina. Se registra la contracción espontánea normal durante 1 minuto, y sin parar el registro se añade a la cámara de preparación aislada 5 microgramos de atropina (concentración de 10^{-6} M); 4 minutos después y sin parar el registro se agrega al baño 0.2 ml de Carbacol (a la concentración de 10^{-6} M), registrando durante 2 minutos mas, al final de los cuales se para el registro.

E.- Efecto de la temperatura. Nuevamente con la cámara llena de Ringer a 37° C, se inicia registro de la contracción espontánea normal durante 1 minuto y sin parar el registro se agrega paulatinamente el Ringer a 37° C, por Ringer frío (4° C), se registra de 2 a 3 minutos observando los cambios.

NOTA. Entre los registros B y C, C y D, D y E, hay que dar 3 baños (es decir sustituir el ringer de la cámara) uno cada 5 minutos. Al final del tercero se esperan 3 minutos a que se estabilicen las contracciones.

BIBLIOGRAFÍA

1. Guyton and Hall. Tratado de Fisiología Médica. 11ª edición. 2006 Editorial Elsevier Saunders
2. William F. Ganong. Fisiología Médica. 20ª edición 2005, Editorial Manual Moderna
3. Velásquez., Farmacología Básica y Clínica., 17ª edición, 2004. Editorial Médica



PRACTICA ABSORCION DE GLUCOSA POR EL INTESTINO DELGADO

OBJETIVO GENERAL

Analizar la absorción de los carbohidratos en segmentos aislados del intestino delgado de rata

OBJETIVOS PARTICULARES.

Determinar cualitativamente el transporte activo de glucosa a través de la pared intestinal.

Determinar como influye la presencia de oxígeno para la acción óptima de un proceso dependiente de energía

CONOCIMIENTOS PREVIOS

Transporte de sustancias (glucosa, oxígeno, etc.,) a través de una membrana.

Absorción de carbohidratos.

Anatomía del aparato digestivo de la rata.

MATERIAL BIOLÓGICO

Rata.

MATERIAL Y EQUIPO:

Tubos de ensayo

Hilo de seda

Vasos de precipitado de 250 ml

Baño de agua

Pipetas de 10 ml

Termómetro

Cánulas para invertir intestino
constante

Agujas Hematocrito

Cánulas de vidrio.

Caja de Petri.

Estuche de disección.

Pipetas de 5 ml.

Conectores para Carbógeno.

Bomba de circulación de temperatura

FÁRMACOS Y/O REACTIVOS

Solución de Krebs-Ringer bicarbonatada. (KRB).

Glucosa al 0.5 % en solución de Krebs-Ringer bicarbonatada.

Dextrostix. (Tiras reactivas para determinación de glucosa).

PROCEDIMIENTO:

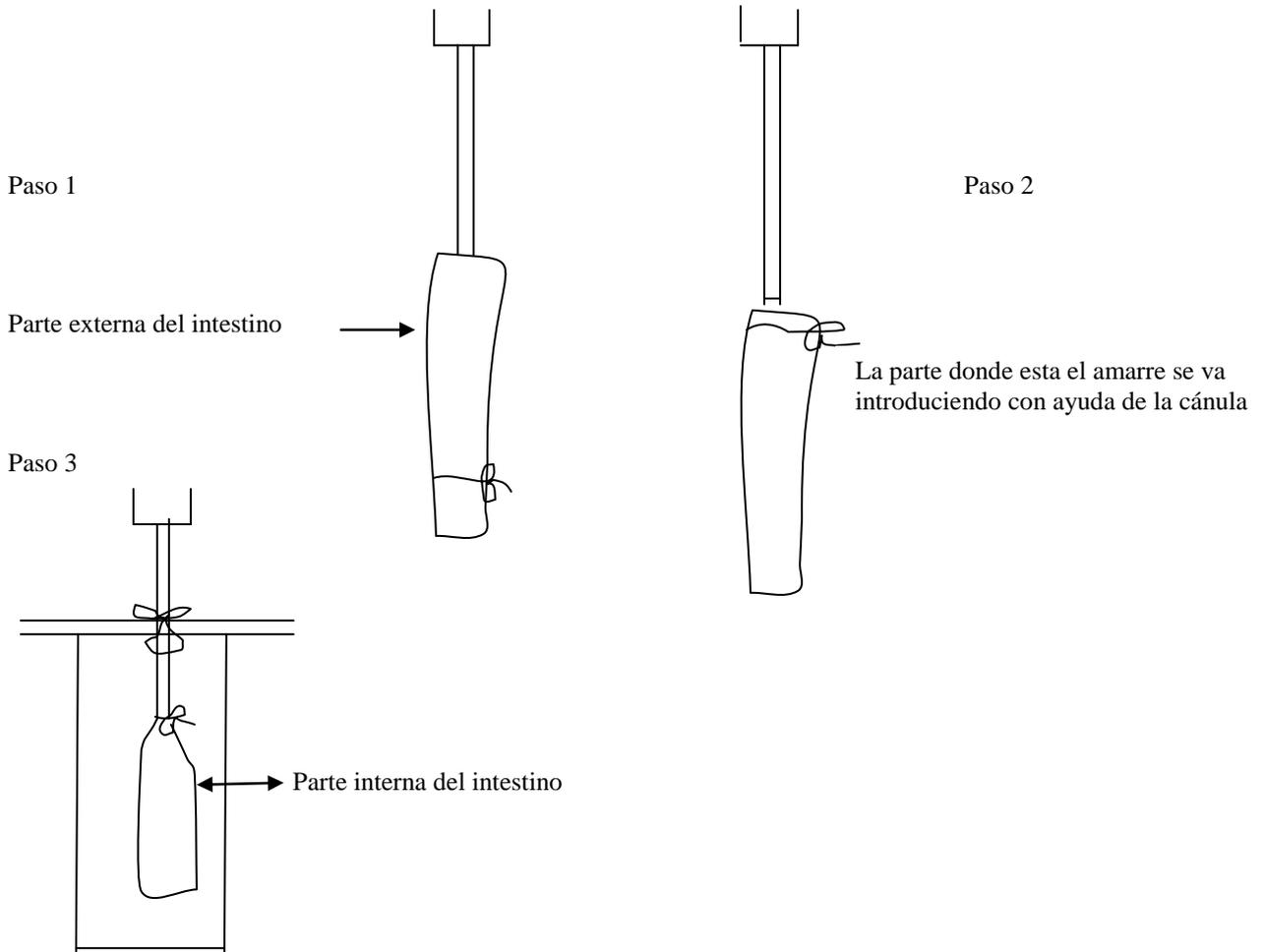
Prepara un baño de agua a 37 C y mantenga las soluciones de KRB a esa temperatura.

Se procede a sacrificar a la rata se administra 3ml de Pentobarbital Sódico por vía intraperitoneal, se abre la cavidad abdominal, se localiza el intestino delgado, ubicando el yeyuno, con tijeras se realizan cortes cerca de la unión duodeno-yeyunal, se lava el intestino con Solución Krebs Ringer Bicarbonatada (KRB), se corta la unión yeyuno ileal, se saca el intestino colocándolo de inmediato en caja de Petri con solución de Krebs-Ringer Bicarbonatada a 37° C.

NOTA: (A partir de este momento **debe de manejarse con mucho cuidado al intestino**, pues la mucosa es sumamente delicada y puede dañarse con facilidad. Para la realización de esta práctica se requieren 3 preparaciones de segmentos intestinales). Quite el exceso de grasa y mesenterio, lave el contenido intestinal con solución de Krebs-Ringer bicarbonatada y realiza cortes de 6 a 7 cm. de longitud.

PREPARACIÓN DEL MONTAJE

1. Introduzca una cánula (puede utilizarse la aguja de hematocrito o una pipeta Pasteur) húmedo con solución de Krebs-Ringer Bicarbonatada en un segmento intestinal, deslizando totalmente el segmento sobre el tubo, al terminar, ate el extremo inferior del segmento con hilo de seda.
2. Ahora invierta el intestino, de manera que la mucosa intestinal quede por fuera (como invertir un calcetín).
3. El extremo del segmento intestinal que queda colgando, átelo también con el hilo de seda para que de esta manera se forme un saco. Coloque un aplicado en la cánula para que sirva de soporte y mantenga el segmento colgando.



En total deben hacerse 3 montajes de segmento intestinal.

Procure mantener la preparación el tiempo que sea necesario en la caja de Petri con solución Ringer-Krebs bicarbonatada a 37° C.

En el baño de agua a 37° C. Coloque tres vasos de precipitado de 250 ml a los que se les pone agua a 37° C. Del mismo baño.

En cada uno de los vasos introduzca un tubo de ensayo grande marcados previamente con los números 1, 2, y 3.

MONTAJE 1

A uno de los segmentos de **intestino** previamente preparados, introduzca con una jeringa **solución de Krebs-Ringer bicarbonatada**, de inmediato sumérgalo en el **tubo**

número 1 que debe tener 15 ml de Solución de Krebs Ringer Bicarbonatada, a temperatura de 37° C.

(Este primer montaje debe estar **con burbujeo de oxígeno** en forma leve y constante, administrado por medio de una cánula o tubo de hule). **Ver montaje 1**

MONTAJE 2

A otro de los segmentos de **intestino** previamente preparados, introduzca con una jeringa **solución de Krebs-Ringer Bicarbonatada**, de inmediato sumérjalo en el **tubo número 2 que debe tener 15 ml de Solución de Krebs Ringer Bicarbonatada con glucosa al 0.5 %, a temperatura de 37° C.**

(Este segundo montaje debe estar **con burbujeo de oxígeno** en forma leve y constante, administrado por medio de una cánula o tubo de hule). **Ver montaje 2**

MONTAJE 3

A otro de los segmentos de **intestino** previamente preparados, introduzca con una jeringa **solución de Krebs-Ringer bicarbonatada**, de inmediato sumérjalo en el **tubo número 3 que debe tener 15 ml de solución de Krebs-Ringer bicarbonatada con glucosa al 5 %, a temperatura de 37° C.** (Este tercer montaje **no lleva** burbujeo de oxígeno) **Ver montaje 3**

Deje incubar cada uno de los montajes durante 30 minutos.

(Tener cuidado de contar el tiempo a partir del momento en que se sumerge el fragmento de intestino dentro del tubo de ensayo respectivo).

Determinación de Glucosa

Al terminar el tiempo de incubación saque una muestra de líquido **del interior del intestino** y colóquelos en una caja de petri, previamente marcada.

En otra caja de petri coloque una muestra de 2 ml de la solución sacada **del tubo de ensayo** del respectivo montaje, márkelo.

Determine la presencia de glucosa en cada tubo anteriormente mencionado, usando una tira para cada tubo. Compare con la tabla de colores y anote la concentración de glucosa.

(Repita el mismo procesamiento para con los montajes 2 y 3)

NOTAS IMPORTANTES:

Deje incubar cada uno de los montajes durante 30 minutos.

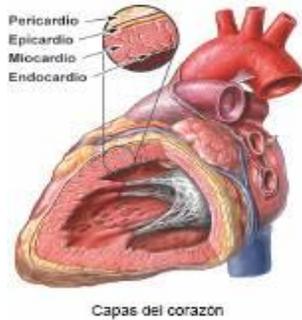
Tener cuidado de contar el tiempo a partir del momento en que se sumerge el fragmento

No mezclar mangueras que tengan residuos de glucosa con las que no lo tienen, esto resultaría falsos positivos

BIBLIOGRAFIA

1. Tratado de Fisiología Medica, Guyton and Hall 11° 2006. Editorial Elsevier Saunders
2. Fundamentos de Bioquímica, Voet, Voet, 2° Ed. 2008 Editorial Médica Panamericana

SUB UNIDAD IIIB
CARDIO-RESPIRATORIO



PRACTICA

FISIOLOGIA Y FARMACOLOGIA DEL MUSCULOS CARDIACO

INTRODUCCION.

La función del sistema circulatorio es la mantener un medio interno óptimo para el desarrollo de las funciones celulares. Este mantenimiento se refiere al equilibrio en las concentraciones de hormonas, de nutrientes, de las tensiones de los gases respiratorios así como la de mantener la temperatura corporal.

El músculo cardiaco presenta dos características importantes, como la fuerte unión que existe entre sus fibras, manteniendo y facilitando la conducción del estímulo de una fibra a otra, provocando la contracción del músculo cardiaco.

En la presente practica estudiaremos el músculo cardiaco, en cual forma parte fundamental del sistema circulatorio. Es posible estudiar algunas de sus propiedades fisiológicas utilizando como modelo el corazón de la rana, debido a su facilidad para ser manipulado, ya que sus respuestas son adecuadas para realizar un registro con los sistemas sencillos del laboratorio.

OBJETIVO GENERAL

Examinar y analizar las características de contractilidad del músculo cardiaco, estableciendo diferencias y semejanzas con el músculo esquelético y con el músculo liso.

OBJETIVOS PARTICULARES.

1. En un registro identificar la contracción normal del músculo cardiaco.
2. Determinar el efecto de los cambios de temperatura sobre la actividad cardiaca.
3. Identifica en un registro las alteraciones producidas por la adrenalina, el carbacol, iones y atropina sobre la actividad cardiaca
4. Describirá las diferencias funcionales de los músculos: cardiaco, esquelético y liso.

CONOCIMIENTOS PREVIOS.

Fisiología molecular de la contracción muscular

Características estructurales del músculo cardiaco.

Características mecánicas de la contracción del músculo cardiaco.

Celular miocárdicas

Automaticidad cardiaca

Efecto farmacológico de la adrenalina, el carbacol, iones y atropina sobre la actividad cardiaca

MATERIAL BIOLÓGICO:

Rana

MATERIAL

1. Hilo de seda
2. tabla para rana
3. Estilete
4. Pipeta
5. Pizeta
6. Tijera de jardín
7. Pipeta de 10 ml

EQUIPOS

Equipo de Disección

Transductor miógrafo F60

Acoplador 7173

Fisiógrafo Narco Biosystems

SOLUCIONES:

Ringer para rana a temperatura ambiente

Ringer para rana a temperatura de 37°C

Ringer para rana frío

Ringer con exceso de iones de potasio (5 gr. de KCl en 50 ml de Ringer)

FARMACOS

Adrenalina 10^{-3} molar

Carbacol 10^{-3} molar

PROCEDIMIENTOS

1. Calibrar el fisiógrafo
2. Descerebrar con una tijera y desmedular la rana o sapo con un estilete.
3. Se fija dorsalmente a una tabla de madera
4. Realizar una incisión en la línea media ventral del tórax y porción superior del abdomen, localizar el corazón
5. Se corta el pericardio
6. Se sujeta con hilo de seda el ápex del corazón al transductor el cual está conectado al Fisiógrafo

Para poder comparar como afectan a la función cardíaca las variables que se estudian, es necesario registrar la actividad del corazón antes de cada procedimiento, esto es con el fin de obtener un registro control, para esto se baña al corazón con ringer para rana a temperatura ambiente durante 5 minutos (este tiempo puede variar dependiendo de la reacción cardíaca).

Nota: Después de cada baño con ringer, se recomienda quitar el exceso de líquido con algodón, teniendo sumo cuidado de no tocar el músculo

Previo a cada experimento

Al término de cada procedimiento debe darle baños al corazón con ringer a 37°C hasta obtener la recuperación del músculo (realizar un registro control)

EXPERIMENTO 1. CAMBIOS EN LA TEMPERATURA

Se baña el corazón con ringer a 37°C durante 5 minutos y se realiza un registro en el fisiógrafo. Se espera la recuperación de las condiciones basales y se repite el procedimiento con solución de ringer frío, bañando al corazón con esta solución durante 2 minutos. Realizar un registro y anotar los cambios observados

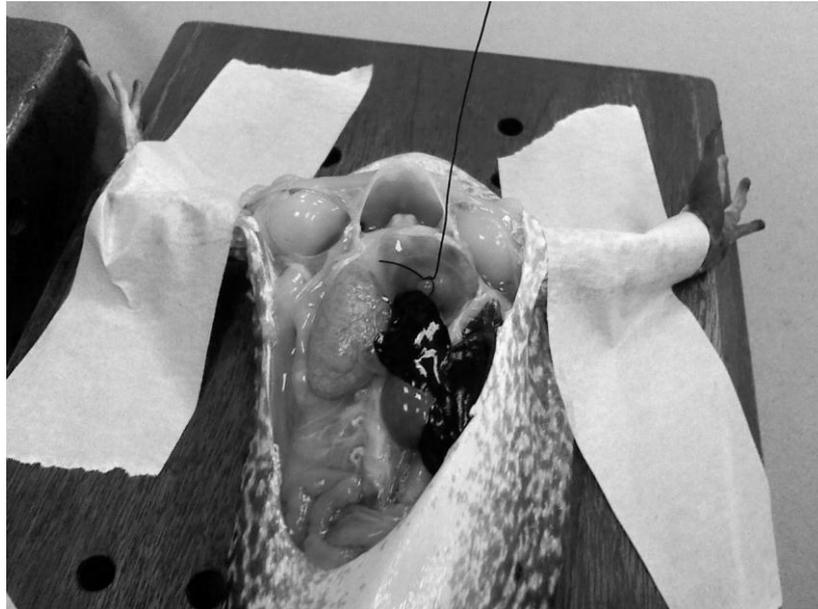
EXPERIMENTO 2. EXCESO DE IONES

Valorar la respuesta cardíaca añadiendo al músculo 0.5 ml de solución ringer con exceso de iones potasio; obtener un registro y anotar los cambios

EXPERIMENTO 3. ESTIMULACIÓN DE RECEPTORES ADRENÉRGICOS Y COLINÉRGICOS

Se baña el corazón con 0.5 ml de Adrenalina 10^{-3} M, obtener un registro y anotar los cambios. De inmediato añadir 0.5 ml de Carbacol 10^{-3} M, obtener un registro y anotar los cambios. En ambas condiciones añadir la solución lentamente

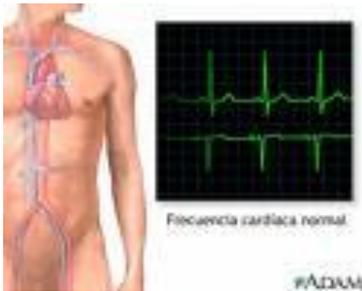
La sensibilidad en el acoplador puede cambiar según las condiciones del músculo. Cuando el corazón no da respuesta originado por algún fármaco o cambio brusco de temperatura se le puede auxiliar con atropina para restablecer su actividad





BIBLIOGRAFIA

1. Guyton and Hall. Tratado de Fisiología Médica. 11^a edición. 2006
Editorial Elsevier Saunders
2. William F. Ganong. Fisiología Médica. 20^a edición 2005, Editorial Manual Moderna
3. Velásquez., Farmacología Básica y Clínica., 17^a edición, 2004. Editorial Médica



PRACTICA ACTIVIDAD ELECTRICA DEL CORAZON HUMANO

INTRODUCCION.

Los potenciales de acción miocárdicos y su propagación como ondas de excitación a lo largo del corazón generan un campo eléctrico en todo organismo.

El electrocardiograma (ECG) registra la diferencia de potencial eléctrico o voltaje entre puntos de ese campo tomados generalmente sobre la superficie corporal.

El electrocardiograma es el registro grafico de la actividad eléctrica del corazo.

El ECG puede ser registrado midiendo la diferencia de potencial entre dos puntos cualesquiera del organismo, que entonces constituyen una derivación electrocardiográfica.

El número de derivaciones posibles es Infinito, pero las derivaciones de las extremidades, recogidas con electrodos en los brazos y las piernas son las más utilizadas.

Einthoven Introdujo las derivaciones de tres extremidades en lo que llamó su esquema triangular equilátero y han sido tan ampliamente usadas que suele designárseles como las derivaciones estándar de las extremidades.

El electrocardiograma se ha convertido en un recurso diagnóstico importante en clínica y resulta especialmente útil para identificar perturbaciones del ritmo cardíaco y de ciertas alteraciones específicas de la estructura y función ventriculares.

A cada electrocardiograma se le estudia:

Ritmo.

Frecuencia.

Eje eléctrico.

Medidas de las deflexiones.

Comparación con el patrón normal.

Semiología de las anormalidades en busca de:

- a.- Trastornos del ritmo.
- b.- Trastornos de la conducción.
- c.- Hipertrofia de cavidades.
- d.- Sobrecargas ventriculares.
- e.- Infartos.
- f.- Trastornos de la re polarización.
- g.- Alteraciones diversas.

OBJETIVOS GENERAL.

El alumno será capaz de efectuar en un voluntario un electrocardiograma con las derivaciones estándar.

OBJETIVOS PARTICULARES.

El alumno:

Realizara un registro de la actividad eléctrica del corazón en un voluntario siguiendo los pasos descritos en la práctica.

Con ayuda del registro realizara los cálculos para la obtención de los eventos fisiológicos dados en la contracción cardiaca.

Con base al registro y los cálculos obtenidos determinará el eje eléctrico del corazón.

Comparará el patrón del eje eléctrico obtenido durante la respiración normal con los obtenidos en una inspiración y espiración máxima, expresando la diferencia en grados, de desviación.

CONOCIMIENTOS PREVIOS

Fisiología cardiaca

Despolarización celular

Electrocardiograma.

Derivaciones electrocardiográficas unipolares y bipolares

MATERIAL

Pasta electrolítica.

Sujetos voluntarios

Algodón y

alcohol.

EQUIPO:

Electrocardiógrafo

Electrodos y cables para ECG.

Canapé

PROCEDIMIENTO.

1. Con el sujeto voluntario acostado en un diván, efectúe aseo de las muñecas y tobillos, aplique una pequeña cantidad de pasta electrolítica en ambas muñecas y tobillos, frote la pasta hasta que la piel quede enrojecida y libre de grasa, polvo u otra sustancia que altera la conducción eléctrica. Aplique una delgada capa de pasta en las superficies cóncavas de los electrodos y sujétalos en las superficies limpias de la piel de las muñecas y tobillos, usando para ello las correas de caucho. Conecta los electrodos a los cables de las derivaciones que están marcadas de la siguiente forma:

RA (Right Arm = brazo derecho)

LA (Left Arm = brazo izquierdo).

RL (Right Leg = pierna derecha).

LL (Left leg-pierna izquierda)

Marque el registro indicando fecha, nombre y edad del sujeto voluntario.

2. Registrará algunos complejos de las derivaciones:

Derivación I (Brazo derecho-brazo izquierdo).

Derivación II (Brazo derecho-pierna izquierda).

Derivación III (Brazo izquierdo pierna izquierda).

3. Determine el efecto de los movimientos respiratorios (diafragma) sobre el eje eléctrico del corazón.

Para tal fin repita alguna de las derivaciones anteriores.

Utilizando la derivación II (DII) realice un registro:

.- Durante

- a.- Una inspiración profunda sostenida.
- b.- Una espiración profunda sostenida.

DETERMINACIÓN DEL EJE ELECTRICO DEL CORAZON

a.- Tomando en cuenta que la calibración de los registros corresponde a: “un cm. de desplazamiento equivale a un mv”, mida el voltaje de la onda R de la derivación D-I, posteriormente mida los voltajes de las ondas Q y S (si están presentes) y sustráigalas del voltaje de la onda R (deflexiones hacia arriba positivas, hacia abajo negativas). Así se obtiene el voltaje del complejo QRS de la derivación D-I. Realice lo mismo en la derivación D-III.

b.- En el triangulo de Einthoven presentado en la figura 1, ente el voltaje neto (mv) en la escala de la derivación D-I, y a partir de ese punto trace una línea perpendicular a la escala correspondiente, repita la operación sobre la escala de la derivación D-III contando el voltaje neto y trazando también una línea perpendicular.

c.- Trace una flecha desde el punto central del triangulo (origen) hasta el punto de intersección de las líneas perpendiculares, este vector es el eje eléctrico del corazón.

d.- Registre los grados del vector prolongándolo hasta el círculo con la escala.

e.- Obtenga ahora los ejes eléctricos del corazón durante la inspiración máxima y la espiración máxima.

f.- Recorte y pegue en su reporte los registros electrocardiográficos.

Las derivaciones:

El corazón se sitúa en el centro de un triangulo imaginario que se construye con los electrodos conectados En el brazo izquierdo, llamado VL (L = Let. = izquierdo).

En el brazo derecho, VR (R = Right = derecho).

En la pierna izquierda FV (F = Foot = pie).

Al lado del triangulo que une VR con VL se le llama DI; Al que une VR con VF se le llama DII; y al que lo hace entre VL y VF se le llama DIII.

RESULTADOS

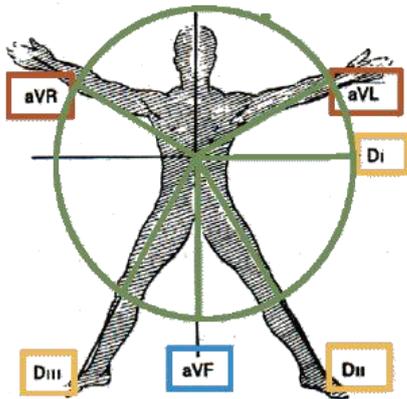
Con ayuda del registro electrocardiográfico que efectuaste saca los siguientes valores:

Eje eléctrico del corazón.

Eje en inspiración máxima.

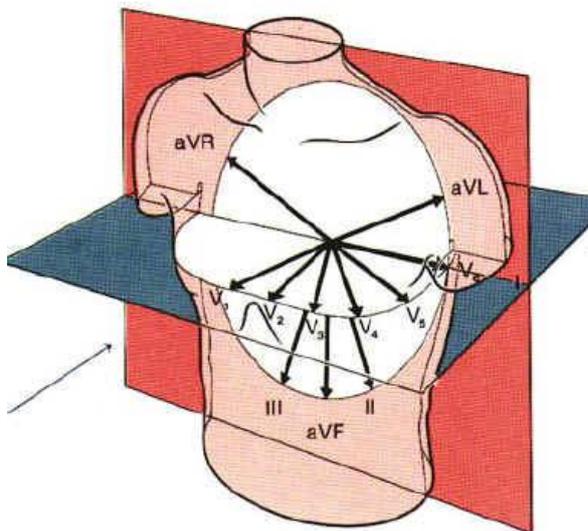
Eje en espiración máxima.

Diferencia (grado de desviación).



Eje del QRS

La **derivación mas positiva** corresponde con el eje. Si es DI el eje es 0° , si es DII el eje es 60° y si es aVF el eje es 90° .
 El eje normal esta entre 0° y 90° .
 En aVL el eje estaría a -30° y sería un eje izquierdo.
 En DIII el eje estaría a 120° y sería un eje derecho. Al nacer el corazón suele tener un eje derecho y en el anciano se hace izquierdo.



Agrupación anatómica

I, II y aVF se suelen denominar derivaciones inferiores o diafragmaticas. Suelen tener alteraciones simultaneas. (Necrosis inferior...). Puede asociarse a alteraciones en V1 V2
I y aVL son derivaciones izquierdas laterales altas y suelen tener también cambios simultaneos. Suelen aparecer alteraciones también en V5 y V6
aVR es una derivación especular que sirve para indicar la colocación correcta de los electrodos.

GUIA DE ESTUDIO

1. ¿Qué eventos del ciclo cardíaco están representados y comprendidos en cada onda componente del ECG?
- 2.- Haga una lista de algunas anomalías que puedan ser determinadas por un ECG en los humanos.
3. Explicar las diferencias que encuentre en la dirección del eje eléctrico del corazón durante la inspiración y espiración.
- 4.- ¿Qué trastornos pueden causar una desviación del eje a la izquierda?
- 5.- ¿Qué trastornos pueden causar una desviación del eje a la derecha?

BIBLIOGRAFIA

1. Fisiología Médica, William F. Ganong 20^a ed. 2005. Editorial Manual Moderno
2. Tratado de Fisiología Medica, Guyton and Hall 11^a ed. 2006. Editorial Elsevier Saunders
3. Fisiología Humana, J. A. F. Tresguerres 3^a ed. 2005 editorial Mc. Graw Hill Interamericana



PRACTICA ESFUERZO FÍSICO (MÉTODO DE BRUCE)

OBJETIVO GENERAL

Analizar los eventos cardio-respiratorios y vasculares de una prueba de esfuerzo físico

OBJETIVOS PARTICULARES

Con base a los resultados obtenidos, registrar las adaptaciones cardio-respiratorias en cada fase de la prueba

CONOCIMIENTOS PREVIOS

Fisiología cardiovascular

Fisiología del aparato respiratorio

Investigar sobre las indicaciones, contraindicaciones de la prueba de Bruce

MATERIAL BIOLÓGICO

Voluntario

EQUIPO

Banda sin fin

Equipo de monitoreo electrocardiográfico

PROCEDIMIENTO

Previo a la prueba de esfuerzo el voluntario, necesita efectuarse unos estudios de laboratorio (biometría hemática, química sanguínea, tipo y rH, EGO y CPS).

La prueba consiste en que el voluntario ejecute el protocolo de Bruce en banda sinfín (este consiste en VI estadios o etapas, cada uno de tres minutos de duración sin períodos de descanso) en el Departamento de Medicina del Deporte bajo la supervisión de los doctores y maestros, siguiendo las indicaciones para el voluntario que se anexan a continuación

Indicaciones para el voluntario

1. Presentarse el día y la hora indicada
2. no estar cursando con enfermedad aguda
3. Ayuno de 3 horas
4. No ingerir bebidas alcohólicas 24 horas antes de la prueba
5. No fumar 24 horas antes de la prueba
6. No haber realizado actividad física intensa 24 horas antes de la prueba
7. Rasurarse la parte anterior del tórax antes de la prueba
8. No portar objetos metálicos al momento de la prueba
9. Traer lo siguiente el día de la prueba:
 - a. Toalla

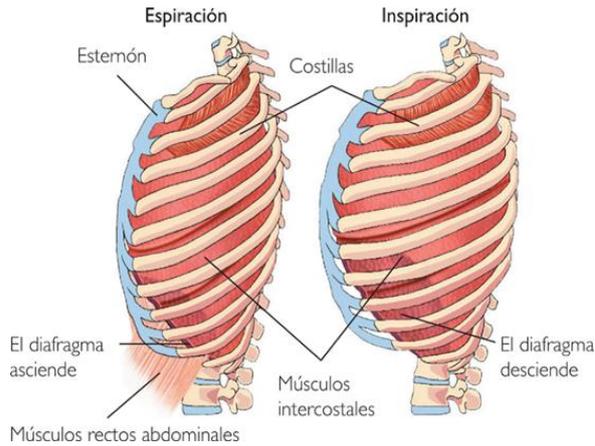
- b. Zapatos deportivos
- c. Pantalón corto
- d. Top (sexo femenino)
- e. Resultado de los análisis de laboratorio (solicitados 3 días antes de la prueba)
- f. Peso y talla

Utilidad para el diagnóstico

1. Detección de una coronariopatía latente en sujetos asintomáticos, con o sin factores de riesgo coronario aumentados
2. Diagnóstico de coronariopatías en pacientes con síntomas precordiales activos y/o cambios electrocardiográficos inespecíficos en el reposo
3. Confirmación objetiva del diagnóstico clínico de cardiopatía, especialmente cuando coexiste patología que tenga semejanza clínica con la enfermedad coronaria.
4. Diagnóstico del llamado “síndrome del corazón irritable”, o bien comportamiento de algunas arritmias, como la enfermedad del nodo sinusal, aunque se prefiere universalmente el método de grabación de Holter para estudiar estas alteraciones
5. Diagnóstico de “labilidad vascular” (hipertensión arterial sistemática del trans al post-esfuerzo)

BIBLIOGRAFIA

1. Fisiología Médica, William F. Ganong 20^a ed. 2005. Editorial Manual Moderno
2. Tratado de Fisiología Médica, Guyton and Hall 11^a ed. 2006. Editorial Elsevier Saunders
3. Fisiología Humana, J. A. F. Tresguerres 3^a ed. 2005 editorial Mc. Graw Hill Interamericana



PRACTICA MOVIMIENTOS RESPIRATORIOS

OBJETIVO GENERAL

Analizar las características de los movimientos respiratorios.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Registrar el patrón respiratorio normal.
- Registrar diversos factores como: hiperventilación, lectura, atención, toser, etc.
- Interpretar en su registro como influyen esos factores en el patrón respiratorio.

CONOCIMIENTOS PREVIOS

- Hiperventilación.
- Respuesta al exceso de oxígeno.
- Respuesta al anhídrido carbónico.
- Respuesta a los cambios de pH.

MATERIALES

- Voluntario.
- Equipo Power Lab
- Transductor neumógrafo.
- Mascarilla.

PROCEDIMIENTO

Ajustar el neumógrafo alrededor del pecho del sujeto.

Conectar el transductor al Fisiógrafo.

El marcador de tiempo y evento debe de acompañar al registro de los movimientos respiratorios.

REGISTRAR:

Respiración normal (o registro control).

Registrar la respiración normal (control), con el sujeto en reposo (sentado), durante 3 o 4 minutos.

Anotar:

Patrón respiratorio.

Frecuencia respiratoria.

La amplitud de la respiración.

Respiración retenida:

Registrar el tiempo, en que el sujeto puede retener la **respiración en inspiración**.

(A una señal dada el sujeto retendrá la respiración en inspiración el tiempo máximo que pueda, seguidamente reiniciara su respiración tal como le pida su organismo, (El registro se detiene hasta que su respiración sea normal.

Registrar el tiempo, en que el sujeto puede retener la **respiración en espiración**. (A una señal dada el sujeto retendrá la respiración en inspiración el tiempo máximo que pueda, seguidamente reiniciara su respiración tal como le pida su organismo, (El registro se detiene hasta que su respiración sea normal.

Anotar:

Patrón respiratorio.

Frecuencia respiratoria.

La amplitud de la respiración.

Hiperventilación

Registrar la respiración normal (control), con el sujeto en reposo (sentado), durante 3 o 4 minutos.

A una señal dada indicar al sujeto que respire lo más profundo que pueda durante 1 o 2 minutos, (pudiendo disminuir el tiempo de dicho tipo de respiración en caso de presentar vértigo, mareos, parestesias, etc.), El registro se detiene hasta que la respiración del sujeto sea normal.

Anotar:

Patrón respiratorio.

Frecuencia respiratoria.

La amplitud de la respiración.

Oclusión de vías aéreas

Registrar la respiración normal (control), con el sujeto en reposo (sentado), durante 3 o 4 minutos.

A una señal dada, indicar al sujeto que ocluya sus vías aéreas presionando las fosas nasales durante 1 a 2 minutos (pudiendo disminuir el tiempo de dicho procedimiento en caso de necesitar reiniciar la respiración), El registro se detiene hasta que la respiración del sujeto sea normal.

Anotar:

Patrón respiratorio.

Frecuencia respiratoria.

La amplitud de la respiración.

Toser

Registrar la respiración normal (control), con el sujeto en reposo (sentado), durante 3 o 4 minutos.

A una señal dada indicar al sujeto que comience a toser lo más intenso que pueda durante 1 o 2 minutos, (pudiendo disminuir el tiempo de dicho procedimiento si se presentara alguna molestia al sujeto en estudio), El registro se detiene hasta que la respiración del sujeto sea normal.

Anotar:

Patrón respiratorio.
Frecuencia respiratoria.
La amplitud de la respiración.

Lectura

Registrar la respiración normal (control), con el sujeto en reposo (sentado), durante 3 o 4 minutos.

A una señal dada indicar al sujeto que inicie la lectura de un párrafo de texto, leído en voz alta, durante 2 minutos. El registro se detiene hasta que la respiración del sujeto sea normal.

Anotar:

Patrón respiratorio.
Frecuencia respiratoria.
La amplitud de la respiración.

Respiración de aire con exceso de CO₂

Registrar la respiración normal (control), con el sujeto en reposo (sentado), durante 3 o 4 minutos.

A una señal dada indicar al sujeto que comience a respirar dentro de una bolsa de plástico herméticamente adaptada a las vías aéreas, durante 3 a 5 minutos, (pudiendo disminuir el tiempo de dicho procedimiento si se presentara alguna molestia al sujeto en estudio), El registro se detiene hasta que la respiración del sujeto sea normal.

Anotar:

Patrón respiratorio.
Frecuencia respiratoria.
La amplitud de la respiración.

Atención

Registrar la respiración normal (control), con el sujeto en reposo (sentado), durante 3 o minutos. A una señal dada indicar al sujeto que inicie la lectura mentalmente (en silencio), de un párrafo de texto, durante 2 minutos. El registro se detiene hasta que la respiración del sujeto sea normal.

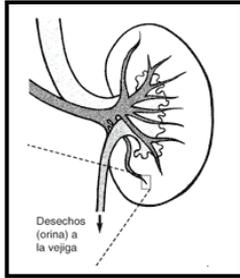
Anotar:

Patrón respiratorio.
Frecuencia respiratoria.
La amplitud de la respiración.

BIBLIOGRAFIA

1. Fisiología Médica, William F. Ganong 20^a ed. 2005. Editorial Manual Moderno
2. Tratado de Fisiología Medica, Guyton and Hall 11^a ed. 2006. Editorial Elsevier Saunders
3. Fisiología Humana, J. A. F. Tresguerres 3^a ed. 2005 editorial Mc. Graw Hill Interamericana

SUB UNIDAD IIC
NEFROLOGIA – HEMATOLOGIA



PRACTICA

CAPACIDAD DE CONCENTRACION Y DILUCION URINARIA

INTRODUCCION

Los riñones son los responsables del mantenimiento de la homeostasis, comprendiendo la regulación de los líquidos corporales, del equilibrio ácido-base, del equilibrio electrolítico y la excreción de los productos de desecho. También forman parte importante en el mantenimiento de la presión arterial y en la eritropoyesis. La formación de orina comprende procesos de filtración de la sangre, reabsorción y secreción tubular de ciertas sustancias. Por otra parte, los diuréticos ejercen sus efectos en proteínas de transporte de membrana específicas en la superficie luminal de las células epiteliales tubulares renales. Otros ejercen efectos osmóticos que previenen la resorción de agua en los segmentos permeables de la nefrona o interfieren en la acción de receptores hormonales en las células epiteliales renales.

Las anormalidades en el volumen líquido y la composición de electrolitos son problemas clínicos comunes importantes que pueden poner en peligro la vida del paciente si no son tratados. En la actualidad, para tratamiento de estos trastornos, los fármacos que bloquean las funciones de transporte de los túbulos renales son importantes herramientas clínicas.

OBJETIVO GENERAL

Valorar la capacidad renal de diluir, concentrar y eliminar la orina.

OBJETIVOS PARTICULARES

Calcular el flujo urinario por minuto y la densidad urinaria de los sujetos voluntarios.

Explicar el mecanismo renal involucrado en cada uno de los voluntarios.

CONOCIMIENTOS PREVIOS

Fisiología renal

Equilibrio hidroeléctrico

Osmolaridad, Osmol, Densidad, Tensión superficial.

Agentes diuréticos

MATERIAL BIOLÓGICO

Voluntarios humanos (se recomienda traer un examen general de orina y que no tengan problemas de presión arterial).

INSTRUMENTAL

Probetas de 50 ml, 250 ml y 500 ml

Uro densímetros

Vasos de precipitado

Potes de peltre

Guantes de látex

REACTIVOS Y/O FARMACOS

Tabletas de Furosemida

INDICACIONES PREVIAS

Todos los voluntarios deberán recolectar la orina por lo menos durante 12 horas previas al inicio de la práctica. Se sugiere que desde las 5 de la tarde del día anterior se inicie la recolección de la orina.

Se recomienda a los voluntarios que antes de iniciar la recolección de las muestras deberán vaciar su vejiga, anotando la hora, y a partir de este momento recolectar todas las muestras cada vez que tenga ganas de orinar, la recolección terminará con la primera emisión de orina que efectúen en la mañana del día de la práctica, anotando la hora de la última toma.

El día de la práctica traerá la orina recolectada, debidamente rotulada

Los voluntarios deben presentarse el día de la práctica con un ayuno de 4 horas como mínimo.

Indicaciones generales

1. Al inicio de la práctica, a indicación del profesor, todos los voluntarios orinarán en los potes de Peltre hasta vaciar completamente la vejiga, colectando la muestra y anotará la hora, esta muestra de orina será considerada como tiempo cero.
2. Se procederá a ingerir la solución y/o fármaco que le corresponda a cada voluntario (se recomienda que el total de la solución se ingiera en un tiempo máximo de 10 minutos).
3. Los voluntarios después de ingerir lo que les corresponda, deberán orinar cada 30 minutos, recolectando las muestras para ser procesadas (las muestras de orina deberán ser 6 en total incluyendo la del tiempo cero).
4. Durante el tiempo de recolección de las muestras los voluntarios no deberán ingerir ningún tipo de alimento y/o líquido.

Indicación para cada voluntario

Voluntario	Variable	Indicación
1	Hipotonicidad	Ingerir agua destilada equivalente al 1% de su peso corporal (60 kg = 600mL)
2	Isotonicidad	Ingerir NaCl al 0.9% equivalente al 0.5% de su peso corporal (50 kg = 250 mL)
3	Hipertonicidad	Ingerir NaCl al 2% equivalente al 0.3% de su peso corporal (60 kg = 180ml)
4	Diurético	Ingerir tabletas de furocemida (si pesa 50kg o más ingerir 20mg, si es menos, 10 mg)

A la muestra de orina colectada en los domicilios se les medirá la densidad y el volumen, y servirá para calcular el flujo urinario comparándolo con las muestras obtenidas durante la práctica.

DURANTE LA PRACTICA

A cada una de las muestras recolectadas de orina, se les medirá el volumen utilizando probetas graduadas y la densidad (utilizando el uro densímetro)

El uro densímetro es un hidrómetro calibrado para medir la densidad de la orina a una temperatura específica, por lo general 25°C.

1. La muestra de orina recolectada debe ser ligeramente mezclada y luego se coloca en una probeta calibrada por la general se requiere de unos 15 ml para poder efectuar la lectura.
2. Es necesario eliminar la espuma que pueda existir porque las burbujas interfieren con la lectura del menisco.
3. El uro densímetro no debe contactar con el fondo ni con las caras de la probeta. Si el uro densímetro toca el fondo se deberá agregar más orina hasta que flote libremente. Es necesario girar el instrumento de modo que flote en el centro de la probeta graduada.
4. Hacer la lectura a nivel de la parte inferior del menisco con el uro densímetro a la altura del ojo.
5. Observar y anotar el color de la orina (turbio, claro, rojo, amarillo, ámbar etc.)
6. Con los valores obtenidos (densidad y volumen) obtener el flujo y la osmolaridad urinaria de cada una de las muestras de orina de los voluntarios

Para el calculo de la osmolaridad de la orina se utiliza una curva de calibración. Para la elaboración de la curva de calibración se debe utilizar los siguientes valores:

<i>DENSIDAD</i>	<i>OSMOLARIDAD</i>
1.000	0
1.016	600
1.032	1200

Explica el mecanismo renal involucrado en cada uno de los voluntarios.

Explica el mecanismo de acción de la furosemida.

NOTA: El valor de la mayoría de los uro densímetros es de 1.035, aunque algunos están calibrados a 1.045. Si la densidad es demasiado elevado y resulta imposible determinar su valor, es necesario hacer una dilución 1:2 de la orina utilizando agua destilada y multiplicar los últimos dos dígitos del valor de la lectura por 2 para obtener la densidad real. Del mismo modo se hará la dilución si el volumen de la orina es menor a 15 ml.

GUIA DE ESTUDIO

Calcula la osmolaridad de cada una de las muestras de orina de los voluntarios

Explica el mecanismo renal involucrado en cada uno de los voluntarios

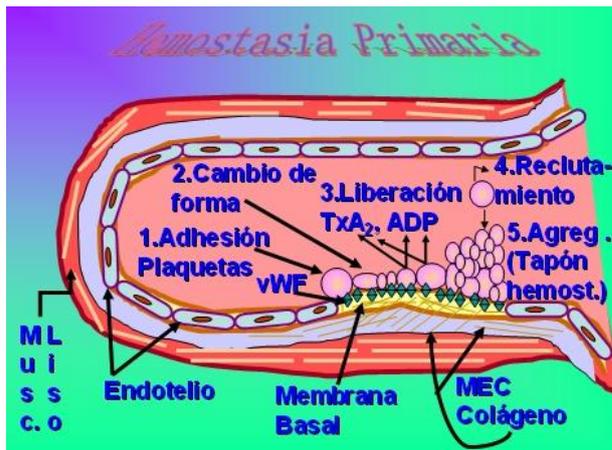
Explica el mecanismo de acción de la furosemida

Explicar las diferencias de volumen y osmolaridad entre los voluntarios



BIBLIOGRAFIA

1. Guyton, and Hall., Tratado de Fisiología Medica. Editorial Elsevier Saunders, 11^a edición. 2006.
2. William F Ganong., Fisiología Médica. Editorial Manual Moderno 20^a edición 2005



PRACTICA ANTICOAGULANTE S

OBJETIVO GENERAL

Analizar los resultados obtenidos en las pruebas de coagulación en una muestra de sangre.

OBJETIVOS PARTICULARES

Realizar determinación del tiempo de coagulación en muestras de sangre sin anticoagulante.

Realizar determinación del tiempo de coagulación en muestras de sangre utilizando diferentes anticoagulantes.

CONOCIMIENTOS PREVIOS

Cascada de coagulación

Anticoagulantes: Heparina, Citrato de Sodio.

MATERIAL BIOLÓGICO

Sangre

INSTRUMENTAL Y/O EQUIPO

Jeringas de 10 ml.

Tubos de ensayo

Gradilla

REACTIVOS Y/O FARMACOS

Solución Heparina al 1%

Solución de Citrato de Sodio al 3.8%

Solución Cloruro de Sodio al 0.9%

Solución de Cloruro de Calcio al 5%

PROCEDIMIENTO

Determinación del tiempo de coagulación

1.- Con una jeringa desechable obtener 10 ml de sangre venosa de un voluntario.

- 2.- Colocar directamente en dos tubos de ensayo chicos sin anticoagulante, 2 ml de sangre en cada uno y taparlos herméticamente con papel parafilm.
- 3.- Uno de los tubos se deja en la gradilla y cada minuto inclinarlo suavemente a 45 grados para ver si se formo el coagulo.
- 4.- El otro tubo debe mantenerse tibio (es decir agarrado de la mano y con el puño cerrado) y cada 15 segundos invertir el tubo totalmente hasta observar la formación del coagulo.
- 5.- Para esta prueba, el tiempo de ambas muestras debe tomarse desde el momento en que comienza a fluir la sangre al interior de la jeringa durante el proceso de extracción.

Estudio de anticoagulantes in Vitro

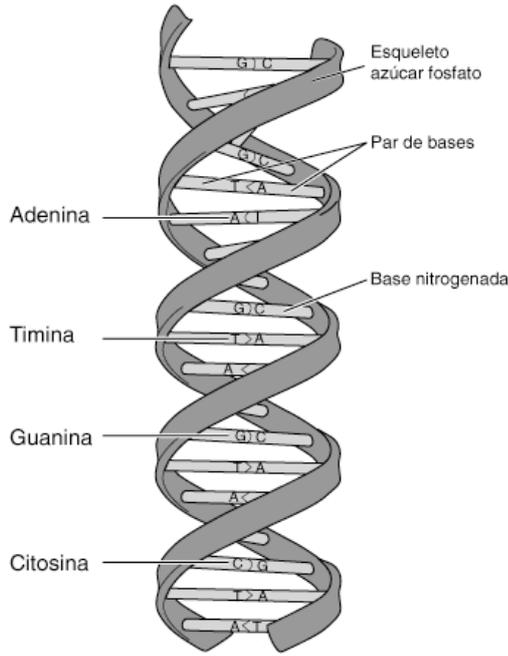
- 1.- Marcar tres tubos de ensayo del 1 al 3 y colocarlos en una gradilla.
- 2.- A cada tubo añadirle lo siguiente:

Tubo numero 1 añadir 0.2 ml de solución salina al 0.9%
Tubo numero 2 añadir 0.2 ml de solución de Citrato de Sodio al 3.8%
Tubo numero 3 añadir 0.2 ml de solución de Heparina al 1%
- 3.- Posteriormente añadir a cada uno de los tres tubos marcados previamente, 0.8 ml de sangre, se tapan con el papel parafilm y se mezcla cada tubo por rotación.
- 4.- Dejarlos reposar por 15 minutos y al cabo de ese tiempo observar y anotar lo ocurrido.
- 5.- Añadir 0.2 ml de cloruro de Calcio al 5% a los tubos 2 y 3.
- 6.- Mezclar los tubos por rotación suave, sellarlos y dejar reposar otros 15 minutos.
- 7.- Observar y anotar al cabo de ese tiempo lo ocurrido.

BIBLIOGRAFIA

1. Guyton A.C... Tratado de Fisiología Medica. 11ª edición, 2006. Editorial Elsevier Saunders
2. Ganong W.F... Fisiología Médica. 20ª edición, 2005. Editorial Manual Moderno

SUB UNIDAD IV
CRECIMIENTO-DESARROLLO-MUERTE



PRACTICA

EXTRACCION DE ADN Y LECTURA DEL CODIGO GENETICO

		Segunda base do códon					
		U	C	A	G		
Primera base do códon	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } SER UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA } UAG }	UGU } Cys UGC } UGA } UGG } Trp	U C A G	
	C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } Arg CGC } CGA } CGG }	U C A G	Tercera base do códon
	A	AUU } AUC } Ile AUA } AUG } Met	ACU } ACC } Thy ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U C A G	
	G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	U C A G	

Primera etapa

OBJETIVO GENERAL

Analizar los conceptos teóricos relacionados con los resultados obtenidos de la extracción de ADN

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener ADN de sangre obtenida de un voluntario
2. Extraer DNA por medio de un método de obtención de ADN comercial
3. Verificar que la extracción de ADN se realizó satisfactoriamente

INTRODUCCION

ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO

Frecuentemente abreviado ADN (y también DNA, del inglés *Deoxyribonucleic Acid*), constituye el principal componente del material genético de la inmensa mayoría de los organismos, junto con el ARN, siendo el componente químico primario de los cromosomas y el material en el que los genes están codificados. En las bacterias, el ADN se encuentra en el citoplasma mientras que en organismos más complejos, tales como plantas, animales y otros organismos multicelulares, la mayoría del ADN reside en el núcleo celular

Los componentes del ADN (polímero) son los nucleótidos (monómeros); cada nucleótido está formado por un grupo fosfato, una desoxirribosa y una base nitrogenada. El ADN lo forman cuatro tipos de nucleótidos, diferenciados por sus bases nitrogenadas divididas en dos grupos: dos purínicas (o púricas) denominadas adenina (A) y guanina

(G) y dos pirimidínicas (o pirimídicas) denominadas citosina (C) y timina (T). La estructura del ADN es una pareja de largas cadenas de nucleótidos. Una larga hebra de ácido nucleico está enrollada alrededor de otra hebra formando un par entrelazado. Dicha hélice mide 3,4 nm de paso de rosca y 2,37 nm de diámetro, y está formada, en cada vuelta, por 10,4 pares de nucleótidos enfrentados entre sí por sus bases nitrogenadas. El rasgo fundamental es que cada base nitrogenada de una hebra "casa" con la base de la otra, en el sentido de que la adenina siempre se enfrenta a la timina (lo que se denomina A-T) y la guanina siempre a la citosina (G-C). La adenina se une a la timina mediante dos puentes de hidrógeno, mientras que la guanina y la citosina lo hacen mediante tres puentes de hidrógeno; de ahí que una cadena de ADN que posea un mayor número de parejas de C-G es más estable. Se estima que el genoma humano haploide tiene alrededor de 3.000 millones de pares de bases. Dos unidades de medida muy utilizadas son la kilo base (Kb) que equivale a 1.000 pares de bases, y la mega base (Mb) que equivale a un millón de pares de bases.

El modelo de doble hélice permite explicar las propiedades que se *esperan* del ADN:

- Capacidad para contener información: lenguaje codificado en la secuencia de pares de nucleótidos.
- Capacidad de replicación: dar origen a dos copias iguales.
- Capacidad de mutación: justificando los cambios evolutivos.

La función principal del ADN es codificar las instrucciones esenciales para fabricar un ser vivo idéntico a aquel del que proviene o casi similar, en el caso de mezclarse con otra cadena como es el caso de la reproducción sexual. Las cadenas de polipeptídicas codificadas por el ADN pueden ser estructurales como las proteínas de los músculos, cartílagos, pelo, etc., o bien funcionales como las de la hemoglobina o las innumerables enzimas del organismo. La función principal de la herencia es la especificación de las proteínas, siendo el ADN una especie de plano o receta para nuestras proteínas.

CONOCIMIENTOS PREVIOS

Estructura de los ácidos nucleicos propuesta por Watson y Crick

Lisis celular

Proteínasa K

Electroforesis en gel

MATERIAL Y EQUIPO

Micro pipetas

Tubo Eppendorf de 1.5mL

Micro centrífuga

Baño de agua

MATERIAL BIOLÓGICO

Sangre Humana

REACTIVOS

- Kit comercial de extracción de ADN: DNA tissue kilt (Quiagen)

MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS

1. Extraer 2ml de Sangre de un voluntario

2. Colocar la sangre en un tubo con anticoagulante
3. Colocar en un tubo de 1.5ml, 20µl de proteinasa K, 100 µl de sangre
4. Al mismo tubo agregar 100µl de PBS y 200µl de Buffer de lisis. Agitar vigorosamente.
5. Incubar la muestra a 70°C por 10 minutos
6. Agregar al tubo 200 µl de Etanol absoluto
7. Colocar la muestra en la columna de purificación
8. Centrifugar por 1 minuto a 8,000rpm
9. Cambiar el tubo colector
10. Agregar 500 µl de buffer de lavado 1
11. Centrifugar por 1 minuto a 8,000rpm
12. Cambiar el tubo colector
13. Agregar 500 µl de buffer de lavado 2
14. Centrifugar por 1 minuto a máxima velocidad
15. Colocar la columna en un tubo limpio de 1,5ml
16. Agregar 100 µl de buffer de elusión
17. Incubar la muestra a temperatura ambiente durante 5 minutos
18. Centrifugar la muestra por 1 minuto a 8,000rpm
19. Desechar la columna de purificación
20. La muestra ya está lista para trabajar
21. Cuantificar el ADN utilizando el espectrofotómetro



BIBLIOGRAFIA

1. Trudy Mckee, James Mckee. Bioquímica. La Base Molecular de la Vida. 3^a edición, 2003. Editorial Mc- Graw Hill Interamericana.
2. Colman Rohm. Bioquímica Texto y Atlas. 3^a edición revisada y ampliada. 2004. Editorial Médica Panamericana.

Segunda etapa

OBJETIVO GENERAL

Conocer los principios así como técnicas básicas utilizadas en biología celular aplicada a la medicina

OBJETIVOS PARTICULARES

Describir las técnicas básicas de biología molecular

Utilizar el software interactivo de reconocimiento de secuencias nucleotídicas BLAST

Con base en la secuencia proporcionada determinar el nombre común de cada una de las especies identificadas en la búsqueda

CONOCIMIENTOS PREVIOS

Reacción en cadena de la polimerasa

Clonación de ADN

Enzimas de restricción

Extracción de ADN

EQUIPO

Computadora con Internet

PROCEDIMIENTO

Utilizando el BLAST, determinar a que corresponden a cada una de las secuencias proporcionadas, así como definir el nombre común de cada uno de las especies identificadas en la búsqueda

Secuencia 01

```

1  ccctaaccct aaccctaacc ctaaccctaa ccctaaccag tacagtagca caccgtagca
61  ccagtagcgt agtacaccgt cagcaccg tccagggtga gagggtgctg ctgtgcaagg
121 aatcagtgga gatataaacc ctaaccctaa ccctaaccct aaccctaacc agtacagtag
181 cacaccgcta caccagtaca gtagtacacc gtcacgcacc cgtccagggtg gagagggtgt
241 cgctgtgcaa ggaatcagtg gagatataaa ccctaaccct aaccctaacc ctaaccctaa
301 ccctaaccct aaccctaacc agtacagtag cacaccgta caccagtaca gtagtacacc
361 gtcacgcacc cgtccagggtg gagagggtgt cgctgtgcaa ggaatcagtg gagatataaa
421 ccctaaccct aaccctaacc ctaaccctaa ccctaaccct aaccctaacc agtacagtag
481 cacaccgcta caccagtaca gtagtacacc gtcacgcacc cgtccagggtg gagagggtgt
541 cgctgtgcaa ggaatcagtg gagatataaa ccctaaccct aaccctaacc ctaaccctaa
601 ccctaaccct aaccctaacc ctaaccctaa ccagtagcgt agcacaccg tacaccagta
661 cagtagtaca cgtcagcga cccgtccagg tggagagggt gtcgctgtgc aaggaatcag
721 tggagatata aaccctaacc ctaaccctaa ccctaaccct aaccctaacc ctaaccctaa
781 ccagtagcgt agcacaccg tacaccagta cagtagtaca cgtcagcga cccgtccagg
841 tggagagggt gtcgctgtgc aaggaatcag tggagatata aaccctaacc ctaaccctaa
901 ccctaaccct aaccctaacc agtacagtag cacaccgta caccagtaca ctagtacacc
961 gtcacgcacc cgtccagggtg gagagggtgt cgctgtgcaa ggaatcagtg gagagagaac
1021 cctagcccgt gctgtacgc atacacctac tctacatatc cctgcagcac acagcacagc
1081 cgcacttaca cgcgccacag caacgcgcc actcagtcac cagagcagc ccaccgctc
1141 aagcttgcc cgcacacatc cgccccccc cgccgaggtc gcctcgaga cgctcccatt
1201 gtcccaccca gcacgcctgt caccgcgct gctggcactc aggctcccct caccaccagc
1261 acagtcaggg cggctgaga tgcgctccag gcgcccgcac acttcgcca tcatatcagc
1321 cgcacacagc tgcacaggt cgcaggtgac gccggcgcaa caccatcctc gacatggcgg
1381 ccgacaccag cagcgatgca cagctccgac atccccctac gtcgtagggtg cttgaccccg
1441 tcaccatcag aggtggctcc ggcagcagc agggatagcg gggctgctcg gcttcctcac
1501 agactgaaaa tacacggcgc cctgtcatac cagcgcgtga gtgtcccag tgtcatccgg
1561 ggggtggaga gcagaagcaa gagaaaagca agaagcaggg caaagaatat atctatggat
1621 gtgtgcaaga gcaactgctg cgcacgacgc gtctctgtag agtatgtggc cttgcttgca
1681 gagggcgcgc atgacatcgc acgcagtcac gctcttcgag tgtgttctcc atgttgcca

```

1741 tgcggaagcc ccagagggag gataaaggca tgcagaaccg tcttctcggg cttctggcga
 1801 tcctcggcag aagcgaagcg attttcctgg gccacgggtg atgcttgtgg ttgtgtgtgg
 1861 tgggaatggc atgtgaaagg gaacaaaagg tcagcgatgg tctgcggggc ggtgcgatca
 1921 aagcacaaga cagcgaggcg ggtgtaaagg ggggacgagt gcgaatgat gaaagaccg
 1981 agggaaggcg cggagatgac gacggggcac gccacgcggt tgcctaaagc agcctgttct
 2041 aagagatgcc gcgagcctgt gccctccttc tggcacgtca aggagggagg cggcccat
 2101 ctgctttctt ttccgggatg gtgaagcagg acagttgttg tgagaacaac cggtgaggcc
 2161 tcgcagggaa gcaaaactag tgcagagtgc aacacaggag tgcattgacc agctctgcta
 2221 gttttctgtc cattacacgg ggtagcgtta agaggaaaag aacacgaaag acgatgcaaa
 2281 gggccacgcc gtgtggcggc tatgtcgggg agtccatcgt gaggcgaagg ctgacccca
 2341 tgccctgtag ctcttgata agtagcttga aggcgtagg catgttcacc ttggaggtag
 2401 tccccttggg tttgcagtac gtacagcgat tgtttagacc gaggttaccg cacacgtggc
 2461 aaatgtccgc cgtgaacatg tcggagctga tgagaagtgc ctgcttgagg aggttggacg
 2521 caccgtagcc aaccatgcag tcgcgctcca tttaccaac gcggagacca cactgcgag
 2581 accgaccctc ggttggctgg cgagtgcga tcgaccgtgg cccggtcgag cgggctgca
 2641 tcttgtctgt gaccatgtgc ttaaggcgtt ggtagtaaat gggcccaaag aaaacgtagc
 2701 cctgcattaa ctgcgccgtg atgcccgaat aaaagacatc cttgccgtgg tagttgtagc
 2761 caaaggagag gagctgctgg ctgatgctgt ctgccgattc gccgccgaaag gctgtgccgt

Secuencia 02

1 caagtgcgagc ggagtagcaa tacttagcgg cgaacgggtg agtaacacgt gggtaatctt
 61 cctccgaatc tgggataact ttccgaaagg aaagctaata ccggatagtt ctattggatc
 121 acaggatttg atagataaag gtttactgtt cggagatgag cccgcggcgg attagctagt
 181 tgggtgaggta atggctcacc aaggcgacga tcggtagccg gcctgagagg gtgtccggcc
 241 acaatggaac tgagacacgg tcatactcc tacgggaggc agcagttaag aatcttgctc
 301 aatgggcgca agcctgaagc agcgcgccc cgtgaacgaa gaaggctctc ggattgtaaa
 361 gttcagtaag cagggaaaaa taagcagcaa tgtgatgatg gtacctgcct aaagcaccgg
 421 ctaactacgt gccagcagcc gcggtaatac gtatgggtga agcgttgttc ggaatcattg
 481 ggcgtaaagg gtgcgtaggc ggacatgtaa gtcagggtgtg aaaactgggg gctcaaccct
 541 cagcctgcac ttgaaactat gtgtctggag tttgggagag gcaagtggaa ttccagggtg
 601 agcggtgaaa tgcgtagata tctggaggaa caccagtggc gaaggcagct tgctggctca
 661 aaatgcagc tgaggcacga aagcgtgggt agtaaacggg attagatacc ccggtaatcc
 721 acgccctaaa cgttgtctac cagttgttgg gggttttaa cctcagtaac gaacctaacg
 781 gattaagtag accgcctggg gactatgtct gcaagagtga aactcaaagg aattgacggg
 841 ggtccgcaca agcggtgagg catgtggttt aattcgatga tacgcgaaaa acctcacctg
 901 ggcttgacat ggagtggaat catatagaga tatatgagcc ttcgggccc cttcacaggtg
 961 ctgcatgggt gtgcctcagc cgtgtcgtga gatgttgggt taagtcccgc aacgagcgra
 1021 acccctatcg tatgttgcta ccatttagtt gggcactcgt acgaaactgc cggtgacaaa
 1081 ccggaggaag gcggggatga cgtcaaactc tcattggcctt tatgtccagg gccacacacg
 1141 tgctacaatg gccgatacag agggttgcca actcgcaaga gggagctaat ctctaaaagt
 1201 cgggtcccagt tcggattgga gtctgcaact cgactccatg aagtcggaat cgctagtaat
 1261 cgcggatcag catgccgcgg tgaatacgtt cccggacctt gtacacaccg cccgtcacac
 1321 cacctgagtg gggagcaccg gaagtggg

Secuencia 03

1 tctcaccctg gaagaagcgg tgcgtggcgt gaccaaagag atccgtattc cgacgctgga
 61 ggagtgcgac gtttgccacg gcagcggcgc gaaagctggt acgcaaccgc aaacctgtcc
 121 gacctgtcat ggttctggtc aggtacagat gcgccaggga ttctttgtctg tacagcagac
 181 ctgcccacac tgtcagggcc gcggtagcct gatcaaagat ccgtgccata aatgtcacgg
 241 tcoatggcgt gttgaaaaga gtaaaactct gtccgttaaa atcccggcgg gcgtggatc
 301 cggcgatcgt attcgtctgg caggcgaggg cgaagcgggc gagcatggcg caccggcagg
 361 cgacttgtac gttcaggtcc aggtgaaaca acaccctatt ttcgagcgtg aaggcaataa
 421 tctttattgc gaagtgccga tcaactttgc gatggcggcg ctccggcgtg aattgaagt
 481 gccgacgtta gatggtcggc tgatgctgaa agtaccgagc gaaacacaaa cgggcaagct
 541 gttccgtagt cgcggcaaa ggcgtgaagtc cgtacgcggt ggcgcgcagg gcgatttct
 601 gtgccgtgtg gtagttgaaa cgccggctcg tctgagcga aaacagaagc aattgctaaa
 661 agatcttcag gaaagttttg gcggcccgc gggagagaaa aacagcccgc gttcaaaaa

Secuencia 04

1 tgggggcagg gctgactgtt gaattgcat ggccaggagc gagtcctcca ccatcgggcc
 61 cttctactgc tatacatggc attgttggag gcgtggagag ccaactccaa gctaggtctc

```

121 tgaggataat tcacagatgc acacagccaa gatggtttct caaggaaaac agttaactct
181 ctcacatccc tgagggtcag ggatcaagag gccatatatg acactaccgt gaaggggttg
241 ggaggtgcc atcaaagact cccaacaagc atatgcctgg tggccagaca ctgcaatgct
301 attgctgagg gaagccactc tcctcccaa cacaccgacc ctcctgtctg cagcctttcc
361 agggagcaag aaaacagtga gcagaagaag acagctctgg ttgcacttct gctttctgga
421 tctctccagt tctatctatt ggcagagcag cacatctaga ccctggctg caggcatgtc
481 ttagaaatgt ggcccttgca atccactgag tgtgacatag acattgagca cacagtccac
541 cctagagaga ggtagaaaaa aatgctgaac acttgttgta aaccaaacac aaatctgcag
601 ttgggcctga cttgaattct tttcatgttt tgatTTTTTT taatatttat ttttztatgt
661 atttcacata taagtactgt atttatataa tttccccttc ttctcctccc tccaactctt
721 gagttctttg ctacacatac tcctcaaatt catggcctct tcttcctctt tttttaaata
781 aaagattttac ttatctgtgt attttatgta tacaggttct ttgtctttgt gtacatctga
841 ataccagaaa aggacatcag atcctgtttg agggagctgt gggttgcacg tgagtgtctga
901 gaatctaact tagggcctgt ggaagagcat ccaggactcc ttaccattga atcatctctc
961 tagcccctgg cctcttattc tttattattg ttacacatat acatatgcat ttataaatac
1021 atcctctgag ataactgagt gttgctcata tgtggttagg aatgacctct tgggattgga
1081 tagcctatca gggggctcat cccaggagaa gactaattct tggtttctca gcaactata
1141 attgcccctc gttctccatc taggggtgga gccttgtag aattccccca cccatgcggt
1201 catgtctata ggtgctgtca tttttcaggt cttgtttctg caacaacatg gttgccattc
1261 cctgggtgct gcttccctgt cgtatagaag acatggctcc ccagcagatg ttctggtcct
1321 ctggTTTTTA taatctttct gtcccctcta cctctatggt atgtgaacct taggagttgg
1381 ggttgtgttg tagatgtatc agttggggtt gggttccccg tggtcctggt tctgttgttc

```

Secuencia 05

```

1 tgcttacaat aatatccacc acccaagcaa gttagtgtg agagcagact tacattgttt
61 caagcataaa attgagccaa agtgggaaga tcctgtatgt gccaatggag ggacatggaa
121 aatgagtttt tcaaagggtg aatctgatac cagctggcta tatacgggat gccgaggata
181 ctgccatcca gctcgtagtg attggctact ctagtaatat tattttctgt taagctataa
241 tctcaactct tgttttctca tatgggatta ttgtagctgc ttgcaatgat tggacatcaa
301 ttcgatcatg aagatgaaat ttgtggagca gtagtttagt tcagaggtaa gggagaaaaa
361 atatctttgt ggaccaagaa tgctgcaaat gaaacggctc aggttaattt gtttttattt
421 atgggtgtcga tgaccggggt tgctattttt ggggatcaaa cggacagata ttttctttgt
481 gtacataact tagtgctgac gtttatttca gatataccat gatatacatc gtactattga
541 ggatattaga agttaagagg ggaagtcac agttatatca cgtggtttca ctattattta
601 tattcttagg taatagagga tatctcaaac ttcgccacac tgtgtgtttg tccaacttta
661 ttgcttttga tagtgaatta ctatcatgag taaaagattt agctggtagc taaaagaaa
721 tatgcttata gatgaagggg agtgggtt

```

BIBLIOGRAFIA

3. Trudy Mckee, James Mckee. Bioquímica. La Base Molecular de la Vida. 3^a edición, 2003. Editorial Mc- Graw Hill Interamericana.
4. Colman Rohm. Bioquímica Texto y Atlas. 3^a edición revisada y ampliada. 2004. Editorial Médica Panamericana.

APENDICES

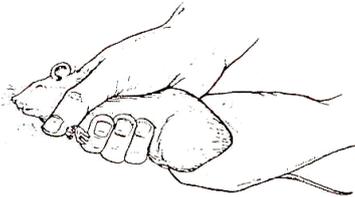
APENDICE A

MANEJO DE ANIMALES.

El manejo adecuado facilita la recolección de datos, tanto de los animales control como de los tratados; es decir, antes, durante y después de la manipulación. Si el manejo no es el indicado, este solo hecho puede condicionar a respuestas anómalas o alteradas a los fármacos.

Habitualmente, los animales para experimentación se obtienen en un bioterio, sitio en donde se producen, cuidan y domestican; sin embargo se deben manipular con calma y precaución para evitar que ataquen por temor o desconfianza. Al manipular animales se debe tener en cuenta que la conducta social en cautiverio es distinta a la conducta del estado libre, debido a la influencia directa del medio ambiente. Los animales de laboratorio, confinados en jaulas, están imposibilitados para procurarse agua y alimento y de vivir en el medio ambiente que más les beneficie. Ello suele inhibir una de las conductas de supervivencia más características de todas las especies biológicas libres, la agresividad; que también disminuye por el contacto cotidiano con las personas que los cuidan y alimentan. A pesar de ello ninguna de las indicaciones específicas que se describen para cada especie son innecesarias.

Por otro lado, cuando se efectúa un experimento con varios animales es necesaria su identificación. Para los experimentos cuya duración es solo de varias horas, el procedimiento más sencillo es una mancha de tinta en diversas zonas del cuerpo. En los experimentos crónicos es preferible el sistema de perforación o cortes en las orejas.



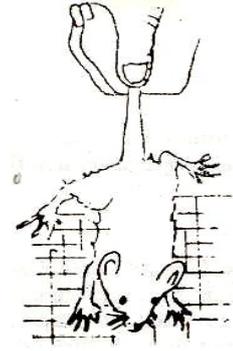
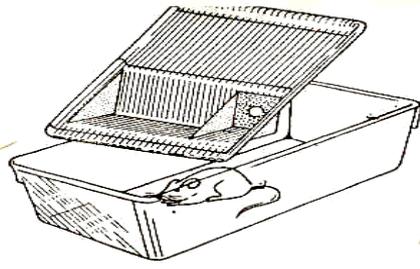
1. Manejo de la Rata.

Es recomendable cambiar de sitio la jaula en donde se encuentran los animales de experimentación, dejarlos libres para permitir que los animales se asomen y capten el hecho de que van a ser manipulados. Una recomendación, tener las manos limpias para que el olor de sustancias químicas, alimentos y de otros animales no los inquieten.

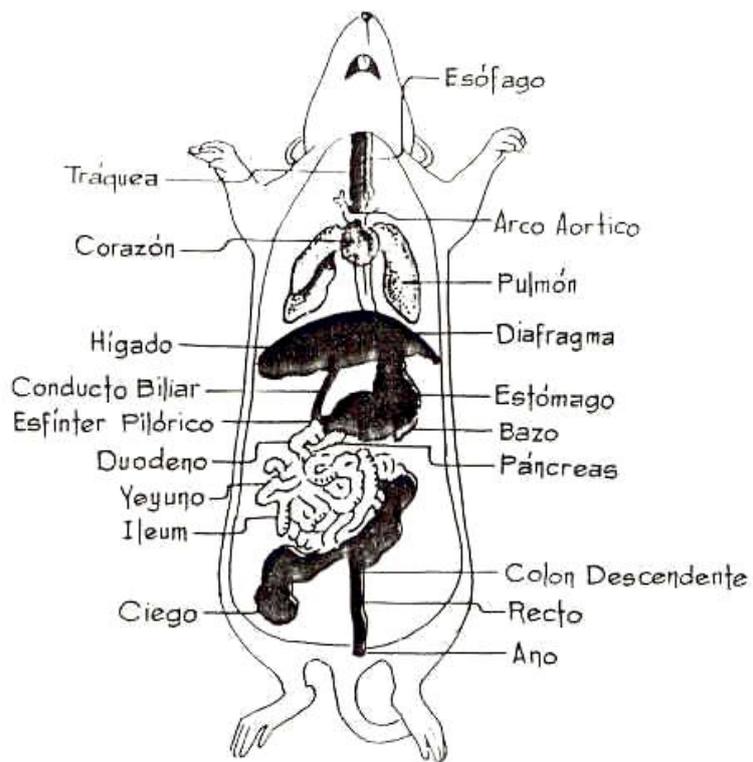
Para sacar una rata de la jaula se le debe tomar suavemente del cuerpo o de la cola; si se inquieta, apoyarla en el otro brazo o en una superficie rugosa. Dejarla ahí un momento para que se tranquilice y luego colocar la palma de la mano sobre el dorso del animal y cerrar los dedos pulgar, índice y medio alrededor del cuello; el anular y el meñique alrededor del tórax para sostenerla, se debe presionar firme pero suavemente y evitar brusquedades y no producirles asfixia.

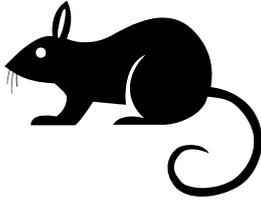
Si el animal opone resistencia, deslizar el dedo pulgar hacia la mandíbula inferior y al presionarla se cierra el hocico para evitar que muerda. Se recomienda no manejar animales muy inquietos o agresivos.

El sexo del animal se determina al levantar a este; en el macho se aprecia la bolsa escrotal, que contiene los testículos, y que está ausente en la hembra.



ANATOMÍA DE LA RATA.





2. Manejo del ratón

El ratón es un animal muy sensitivo, nervioso y rápido; siempre trata de no ser atrapado y arremete cuando se siente amenazado. Es capaz de detectar inmediatamente a una persona extraña manipulándolo. Se recomienda no introducir bruscamente la mano en la jaula.

Para sacarlo de la jaula se puede introducir la mano y colocar los dedos por debajo de su cuerpo para que suba a la palma de la mano o cogerlo por la cola. Con esta maniobra se determina el sexo como se hizo con la rata.



3. Manejo de la rana

Las ranas son animales de piel lisa y suave, ojos saltones que pueden ver casi en cualquier dirección y tímpanos auditivos externos. Los adultos carecen de cola. La mayoría de ellas tienen patas traseras largas, que les permiten dar grandes saltos, y pies palmeados que las convierten en excelentes nadadoras.

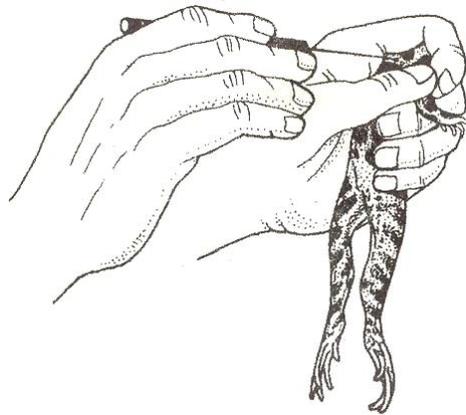
Las ranas viven en diferentes hábitats, pero la mayoría de ellas prefiere las regiones húmedas. Aunque respiran aire, las ranas pueden permanecer sumergidas durante largos periodos, absorbiendo oxígeno a través de la piel.

Las ranas se alimentan principalmente de insectos, gusanos, arañas y ciempiés, aunque las acuáticas a veces comen otras ranas, renacuajos y peces pequeños, mientras que las ranas más grandes pueden comer animales del tamaño de los ratones o las serpientes acuáticas recién nacidas. En ocasiones pueden capturar presas demasiado grandes para comérselas de una sola vez, en cuyo caso las dejan sobresalir de la boca y las ingieren gradualmente, atragantándose o regurgitándolas.

Los sapos difieren, en su aspecto externo, de las ranas en que su piel es más seca y con frecuencia está cubierta de verrugas; además, la mayoría de ellos pasa la mayor parte de su vida en tierra.



Método para descerebrar a las ranas.



Para este procedimiento se debe tomar en cuenta las siguientes consideraciones:

Se debe sujetar firmemente a la rana y de tal manera que se le pueda flexionar la cabeza hacia delante con el dedo índice. (ver figura A).

La punción se efectúa en un punto en donde se cruzan dos líneas imaginarias:

Una de las líneas une los bordes posteriores de las ventanas auriculares.

La otra línea corresponde al eje céfalo caudal (el equivalente a la línea vertebral del humano). (Ver figura B)

Para destruir la médula espinal:

Se introduce el estilete en dicho punto, hasta sentir que ya se cae en canal medular.

Para destruir los hemisferios cerebrales:

El estilete, se dirige hacia los lados, haciendo movimientos circulares.

Método para desmedular a la rana:

Se corta con una tijera parte de la cabeza, de un solo tajo y de forma transversal a través de la boca, y por detrás de los ojos. Posteriormente limpiar el exceso de sangre y se observa el canal medular.

Se destruye la medula espinal, introduciendo el estilete a través del canal medular, efectuando movimientos rotatorios.

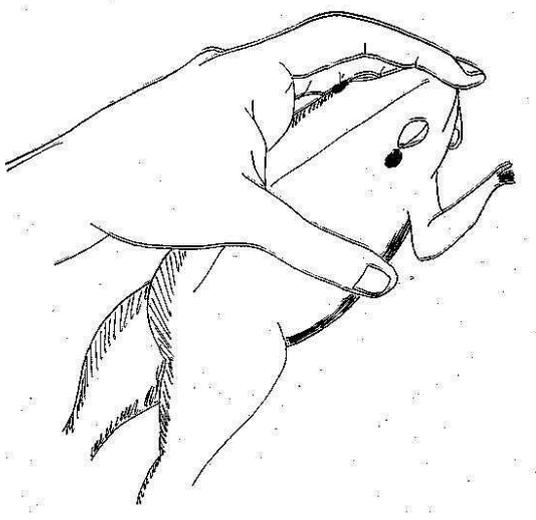


Figura A

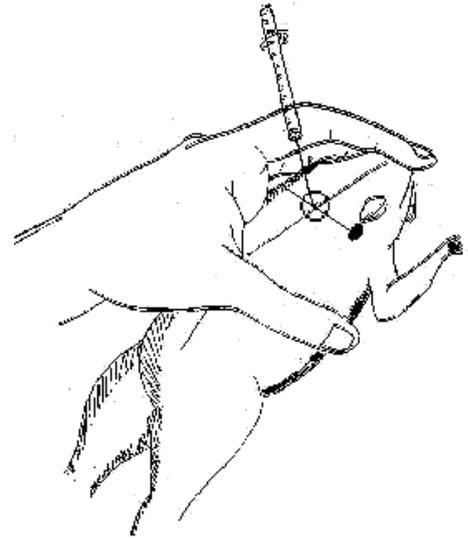
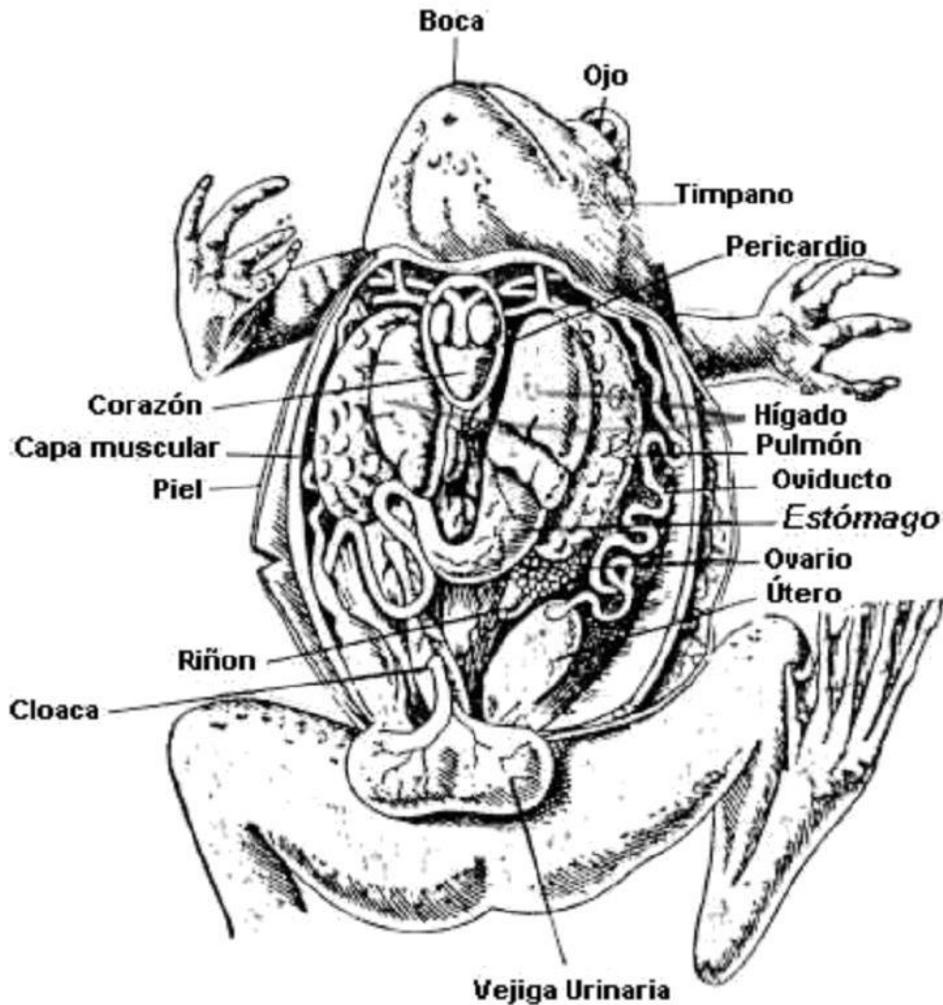


Figura B

PROCEDIMIENTOS.

Manejo de animales. El profesor demostrará el manejo adecuado de los animales que se utilizan en el laboratorio, posteriormente los alumnos manejarán los distintos animales; el profesor verificará directamente si cada uno de los integrantes de las mesas de trabajo llevan a cabo satisfactoriamente las maniobras para el manejo de los animales.

Descerebrar y disecar una rana. Con el conocimiento previo de esta técnica descerebrar una rana y posteriormente abrirla por la parte ventral para conocer su anatomía interna.



Dosificación. Se llama dosis a la cantidad de fármaco necesario para que se presenten determinadas reacciones en el sujeto de estudio. A la rama de la terapéutica que trata de las dosis en que deben administrarse los medicamentos se le denomina Posología. Se efectuarán ejercicios de cálculo de dosificación para un fármaco específico en función de dosis indicadas por el profesor y el peso de las ratas.

Administración de fármacos en la rata.

Vía Oral. Se cubre el cuerpo de la rata con un paño desde el cuello hasta las extremidades inferiores, una vez que la rata este bien sujeta e inmóvil se le introduce al hocico una cánula (previamente insertada a una jeringa que contenga el fármaco), si el animal tose o se torna cianótico probablemente la cánula esta en la traquea, si esto ocurre retirarla de inmediato, si no hay contratiempo administrar el fármaco.

Vía Intraperitoneal. Se sujeta firmemente a la rata por la parte posterior del cuello y del dorso, se presenta el abdomen, y otra persona le administra el fármaco (inyectando con aguja especial) en el cuadrante inferior a la izquierda de la línea media del abdomen, la aguja debe formar un Angulo de aproximadamente 10° con la superficie de la piel, para evitar penetrar la vejiga o un asa intestinal.

APÉNDICE B

UNIDADES DE MEDIDA

Los resultados de los experimentos de laboratorio derivan de mediciones, las cuales se realizan manualmente o con equipo, éstos consisten de un número y una unidad; es importante manejar unidades que sean reconocidas universalmente.

Por tal motivo utilizaremos un sistema de unidades bien definidas y valederas en todas partes; la Oficina Internacional de Pesas y Medidas ha desarrollado un sistema de unidades universalmente reconocido, que es el **Sistema Internacional de Unidades (SI)**, que define con precisión las unidades, éste sistema es una ampliación del sistema métrico decimal

Las unidades de peso y medida mas empleadas en los cálculos de las prácticas de laboratorio son:

Unidad de longitud	metro	(m)
Unidad de tiempo	Segundo	(seg.)
Unidad de masa	gramo	(g)
Unidad de volumen	metro cúbico	(m ³)
Unidad de superficie	metro cuadrado	(m ²)
Cantidad de Sustancia	mol	mol
Intensidad de corriente eléctrica	ampere	A
Concentración de sustancia	mol/metro cúbico	mol/m ³
Velocidad	metro por segundo	m/s

Los submúltiplos de estas unidades son:

Unidad de longitud

Metro:	Símbolo	Equivalencia
decímetro	dm	0.1 m = 10 ⁻¹ m
centímetro	cm	0.01 m = 10 ⁻² m
milímetro	mm	0.001 m = 10 ⁻³ m
micra	μ	0.001 mm = 10 ⁻³ mm
milimicra	mμ	0.001 μ = 10 ⁻⁶ mm

Unidad de masa

Gramo:

decigramo	dg	$0.1 \text{ g} = 10^{-1} \text{ g}$
centigramo	cg	$0.01 \text{ g} = 10^{-2} \text{ g}$
miligramo	mg	$0.001 \text{ g} = 10^{-3} \text{ g}$
microgramo	mcg	$0.001 \text{ mg} = 10^{-6} \text{ g}$
Nanogramo	ng	$0.001 \text{ mcg} = 10^{-9} \text{ g}$
Pico gramo	pg	$0.0001 \text{ ng} = 10^{-12} \text{ g}$

Unidad de cantidad de sustancia expresada en gramos = Mol.

Mol		
milimol	mmol	0.001 mol
micromol	μmol	0.000 001 mol

Conversiones de Unidades de un sistema a otro.

1 m	=	3.28 pies
1 m	=	1.093 yardas
1 pie	=	30.48 cm
1 pie	=	12 pulgadas
1 pulgada	=	2.54 cm
1 milla	=	1.609 km
1 libra	=	0.454 g
1 kilogramo	=	2.2 libras
1 cm ³	=	1 ml
1 litro	=	1000 cm ³
1 galón	=	3.785 litros

Conversiones de escala: Celsius, Kelvin y Fahrenheit

Para convertir de grados Celsius a grados Kelvin:

$$^{\circ}\text{K} = ^{\circ}\text{C} + 273$$

Para convertir de grados Kelvin a grados Celsius:

$$^{\circ}\text{C} = ^{\circ}\text{K} - 273$$

Para convertir de grados Celsius a grados Fahrenheit:

$$^{\circ}\text{F} = 1.8 ^{\circ}\text{C} + 32$$

Para convertir de grados Fahrenheit a grados Celsius:

$$^{\circ}\text{C} = \frac{^{\circ}\text{F} - 32}{1.8}$$

1.8

Para expresar concentraciones

La *concentración de sustancias* cuya **masa molecular se conoce** se expresa en forma de cantidad de sustancia, es decir, en moles por litro o en submúltiplos.

La *concentración de sustancias* cuya **masa molecular se desconoce o es dudosa** se expresa en Kg./l o en submúltiplos.

La concentración en forma de cantidad de sustancia no debe ser denominada “concentración molar”

Actividad Enzimática. La unidad de actividad catalítica es el mol por segundo: mol/seg. (También llamado Katal) y corresponde a la cantidad de sustrato transformado por segundo.

Concentración de iones hidrógeno. La concentración de hidrogeniones en los líquidos biológicos se expresa en nmol/l, así como en unidades de pH.

TEORÍA DE PH

Ionización y Disociación

En 1887 Arrhenius dio a conocer la clasificación de las sustancias de acuerdo a la posibilidad de que éstas, al disolverse en agua dieran origen o no, a soluciones conductoras de la corriente eléctrica.

Las sustancias solubles en agua y cuyas soluciones son capaces de conducir la corriente eléctrica se llaman ELECTROLITOS, a diferencia de aquellas cuyas soluciones no tienen propiedades conductoras llamadas NO ELECTROLITOS. Esta propiedad se debe a la presencia de partículas con carga eléctrica en el seno de la solución.

Ionización. Formación de iones.

Disociación. Liberación de iones ya formados.

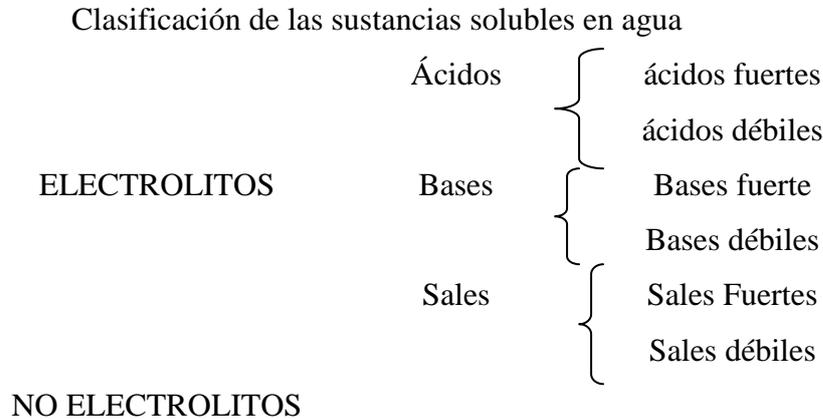
Los ácidos, bases y sales son sustancias que al disolverse dan iones.

IONES.

Al disolverse un electrolito ocurren los siguientes fenómenos: si el electrolito está ya ionizado, se produce la DISOCIACIÓN ELECTROLÍTICA o separación de los iones; si el electrolito no está ionizado, ocurre primero la IONIZACIÓN o formación de iones y simultáneamente éstas se separan (disociación).

Clasificación de Electrolitos

De acuerdo con el grado de disociación que presentan los electrolitos, éstos se clasifican en FUERTES y DEBILES; ELECTROLITO FUERTE es aquel cuyo grado de disociación es muy alto; ELECTROLITO DÉBIL es aquel que presenta bajo grado de disociación.



Ácidos, bases y sales.

Un ácido es un electrolito, por lo consiguiente es un productor de iónes. A continuación se presentan tres definiciones diferentes para la caracterización de lo que es un ácido.

- Arrhenius. Es una sustancia con sabor a vinagre, que enrojece el papel tornasol azul y desprende hidrógeno al reaccionar con metales.
- Bronsted – Lowry. Sustancia donadora de protones
- Lewis. Sustancia aceptora de pares electrónicos no compartidos.

Ejemplo:



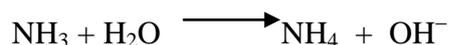
Este ejemplo se ajusta a las tres definiciones.

Siguiendo las mismas ideas, en cuanto a las bases, tenemos:

- Arrhenius. Sustancia con sabor a lejía, que deja azul el papel tornasol tojo y que forma sales con los ácidos.
- Bronsted – Lowry. Sustancia aceptora de protones o lliberadora de oxhidrilos.
- Lewis. Sustancia donadora de pares electrónicos.

Ejemplo:



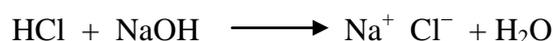


Además como los ácidos ceden protones y las bases lo captan, el lógico que a cada ácido le corresponda una base; esto es:



En la fórmula 1 el ión cloruro es la base conjugada de HCl.

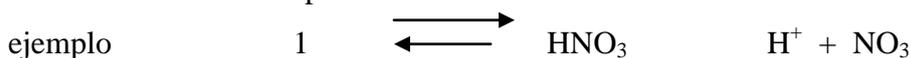
En cuanto a las sales, es un hecho muy conocido que resultan de la reacción entre un ácido y una base. Ejemplo:



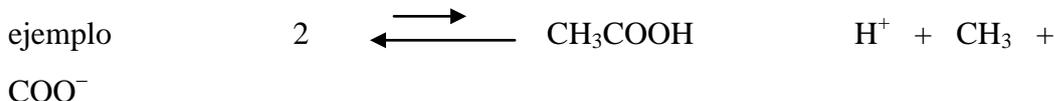
Fuerza de ácidos y bases.

La fuerza de un ácido se mide por su mayor o menos tendencia a perder protones.

Un ácido fuerte es aquel que pierde su protón con bastante facilidad; un ácido débil retiene con fuerza a su protón.

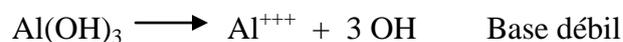


La magnitud de las flechas nos indica que en el equilibrio casi todas las moléculas de ácido nítrico han perdido un protón. Grado de disociación alto.



En este caso, es mayor el número de moléculas de ácido sin disociar. Ácido débil típico.

Por otra parte, una base fuerte tiene una fuerte atracción para un protón; las bases débiles tienen poca atracción por los protones. O bien, base fuerte disocia gran cantidad de oxhidrilos y base débil, muy pocos, ejemplo:



Por último, debemos considerar que una misma sustancia puede ser ácido o base, según la reacción en la que interviene. Siempre que un ácido cede un protón o exista una base que lo acepta. Esto se puede ejemplificar:



Constante de Disociación.

Es un valor que nos indica el grado de disociación de un electrolito. La fórmula de la constante (K) de un ácido es:

$$K = \frac{[A^-][H^+]}{[HA]}$$

HA = molécula sin disociar

H⁺ = hidrogenión

A⁻ = anión

Como puede observarse, representa la reacción que se da entre la concentración de los iones disociados de un electrolito y la concentración de las moléculas del mismo que quedan sin disociar.

Por observación puede deducirse que el valor de K aumenta o disminuye proporcionalmente a la fuerza del electrolito.

Con el objeto de manejar cantidades de magnitud aceptable la K suele convertirse en un logaritmo negativo, al cual se le llama PK.

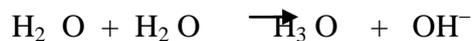
Ejemplo para el ácido acético.

$$K = 1.74 \times 10^{-5}$$

$$PK = -\log K = -\log (1.74 \times 10^{-5})$$

$$PK = 4.76$$

Ionización del agua y producto iónico. A pesar de que el agua es una molécula fundamentalmente neutra, tienen cierta tendencia a ionizarse. Para poder entender esta reacción se observa que el agua puede actuar como un ácido y también como una base.



Una molécula de agua puede transferir un protón a otra molécula para dar un ión hidronio

(H₃O⁺) y un ión hidroxilo (OH⁻), de modo que el agua es el donador del protón y el aceptor del protón al mismo tiempo. Todas las sustancias que pueden liberar los dos tipos de iones del disolvente y se llaman anfóteras o **anfólitos**



Para efectos prácticos, es suficiente escribir la ecuación anterior, siempre que recordemos que un protón *nunca* se encuentra en una solución acuosa como Ion libre, sino que siempre está asociado a una o más moléculas de agua.

El equilibrio descrito en la ecuación anterior puede expresarse mediante el **producto iónico**

(K_w) del agua, que a 25°C es de 10⁻¹⁴ M: (M indica moles por litro)

$$K_w = [H^+][OH^-]$$

Puesto que el producto iónico es una constante y no pueden variar independientemente. Si modificamos $[H^+]$ o bien $[OH^-]$ añadiendo sustancias ácidas o básicas al agua, la concentración cambia en función del de ello. Una solución con una $[H^+]$ alta tiene una $[OH^-]$ baja, y viceversa.

Si tomamos agua pura a la que no se han añadido sustancias ácidas ni básicas, todos los iones H^+ y OH^- deben proceder de la disociación de la propia agua. En estas condiciones, las concentraciones de H^+ y OH^- son iguales, de modo que a $25^\circ C$ Y se dice que la solución es neutra.

El producto iónico del agua K_w aumenta apreciablemente con la temperatura.

$$K_w = [H^+][OH^-] = 10^{-14}$$

Como los ácidos liberan hidrogeniones y las bases, a su vez, hidroxiliones, podemos incluir ambos grupos de sustancias en una escala única de medida.

En consecuencia, una disolución será ácida cuando la concentración de iones hidronio sea superior a los iones hidroxilo, es decir, superior a 10^{-7} ; neutra cuando sea igual a esta cifra, y básica o alcalina, cuando sea menor que 10^{-7} .

LA ESCALA DE pH Y LOS VALORES FISIOLÓGICOS DE pH

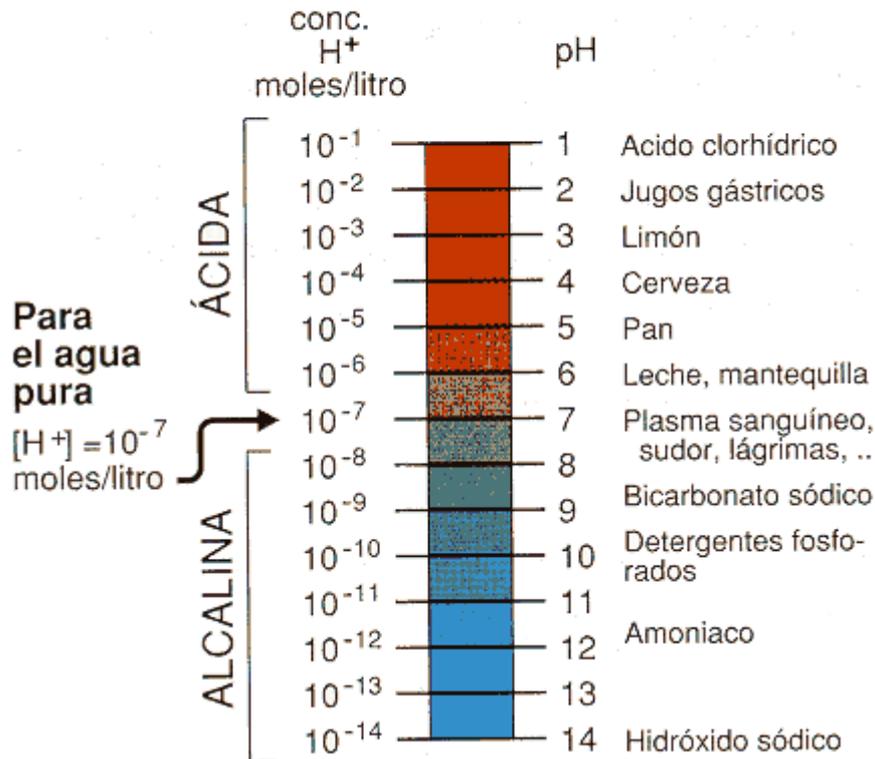
Para no tener que trabajar con las potencias negativas de 10, casi siempre tiene que expresar la concentración del ión hidrógeno como pH, definido como

$$pH = -\log [H^+]$$

Cuanto más alta sea la $[H^+]$ en una solución, menor será el pH, de modo que un pH bajo corresponde a una molécula ácida. Por otro lado, una $[H^+]$ baja debe ir acompañada de una $[OH^-]$ alta, de modo que un pH alto corresponde a una solución básica.

El pH del agua es 7 y lo consideramos neutro. Valores mayores serán básicos o alcalinos y valores menores ácidos.

$$\text{pH} = -\log_{10} [\text{H}^+] \quad (\text{Tomado de Biología COU - Anaya})$$



Como la escala de pH es una escala logarítmica con base 10, el pH cambia a una unidad por cada cambio de potencia de 10 en la sustancia $[\text{H}^+]$.

También se observa que el pH disminuye al aumentar la $[\text{H}^+]$.

Es decir, cuando el pH tiene valor mas bajo la solución es más ácida y cuando el pH es mas alto quiere decir que la solución es básica.

Con frecuencia se mide el pH de la solución mediante un pH-Metro que es un dispositivo electrónico con un electrodo que se inserta a una solución de pH desconocido.

También se suele emplear papel indicador para medir el pH de la solución si no se requiere tanta precisión.

Para usar el papel indicador del pH se coloca una gota de la solución sobre este papel especial, el cual cambia de color de inmediato a un color característico asociado con un pH determinado.

Se emplean escalas logarítmicas similares a las del pH para representar a otras cantidades

LOGARITMO.

El logaritmo de un número es el exponente o potencia a la que un número fijo, llamado base, se ha de elevar para dar un número dado. Por ejemplo, en la expresión $10^2 = 100$, el logaritmo de 100 en base 10 es 2. Esto se escribe como $\log_{10} 100 = 2$. Los logaritmos fueron originalmente inventados para simplificar los procedimientos aritméticos de multiplicación, división, potencias y extracción de raíces, pero actualmente tienen muchas aplicaciones tanto en las matemáticas puras como en las aplicadas.

	Número	Base	Potencia	Logaritmo
$1000 = 10^3$	1000	10	3	3
$100 = 10^2$	100	10	2	2
$10 = 10^1$	10	10	1	1
$1 = 10^0$	1	10	0	0

GRAFICAS

La importancia creciente que está adquiriendo la aplicación de los métodos cuantitativos en la práctica médica hace necesario que el estudiante posea algunos conocimientos de estadística.

El estudiante debe estar capacitado para saber seleccionar, de una gran cantidad de información, aquella que le será de verdadero valor. Por otra parte es indispensable que el médico pueda representar esquemática y objetivamente las distintas variaciones que sufre el organismo por medio de gráficas

Una gráfica es la representación esquemática de las variaciones que sufren las distintas magnitudes que intervienen en fenómenos físicos, químicos, biológicos o de cualquier índole. Las graficas tienen por finalidad demostrar rápidamente la relación que guardan las magnitudes comparadas.

Requisitos generales de una gráfica:

- ✓ Debe ser sencilla y auto explicativo, conteniendo los datos de identificación como son título, escalas numéricas, unidades y leyendas.
- ✓ Debe presentar fielmente los hechos.

- ✓ La variable dependiente (la que cambia como resultado de alteraciones hechas a otra) se colocará a lo largo del eje vertical (ordenadas) y la independiente a lo largo del eje horizontal (abscisa).
- ✓ Las escalas deben escogerse en tal forma que los puntos queden lo mas espaciados posible sobre la página de papel.

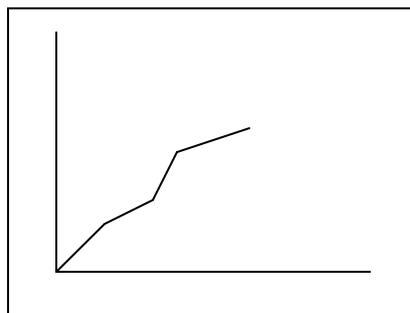
Partes principales de una gráfica

- a) *Título*. Característica que describe el contenido de la gráfica, se debe escribir en la parte superior de la hoja. Número de gráfica (cuando existe mas de una gráfica en el trabajo)
- b) *Diagrama*. Tipo de trazo empleado: barras, líneas, sectores circulares, etc.
- c) *Escala*. División de las variables a comparar, de acuerdo al sistema de coordenadas rectangulares.
- d) *Fuente*. La fuente de los datos con los cuales fue construida la gráfica, se escribe en la parte inferior derecha
- e) *Claves explicativas o leyendas*. Cuando se representa gráficamente más de una variable, cada una debe estar claramente diferenciada por medio de leyendas o aclaraciones

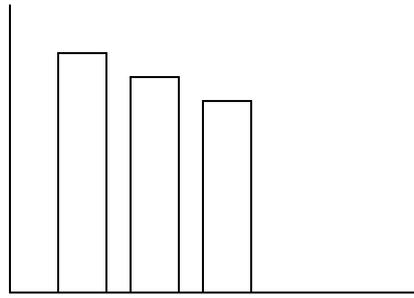
Entre las diferentes clases de gráficas que existen, las más importantes son:

- ❖ Gráfica poligonal. En este tipo de gráfica las variaciones de los fenómenos se representan por medio de puntos los cuales se unen para representar la marcha de dicho fenómeno. Para su elaboración

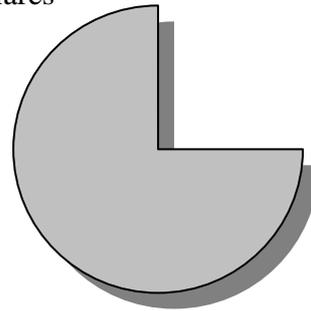
se utiliza papel de preferencia milimétrico en el cual se trazan dos rectas perpendiculares entre sí que se cortan en cero



❖ Diagrama de Barras



❖ Gráfica de sectores circulares



APÉNDICE C.

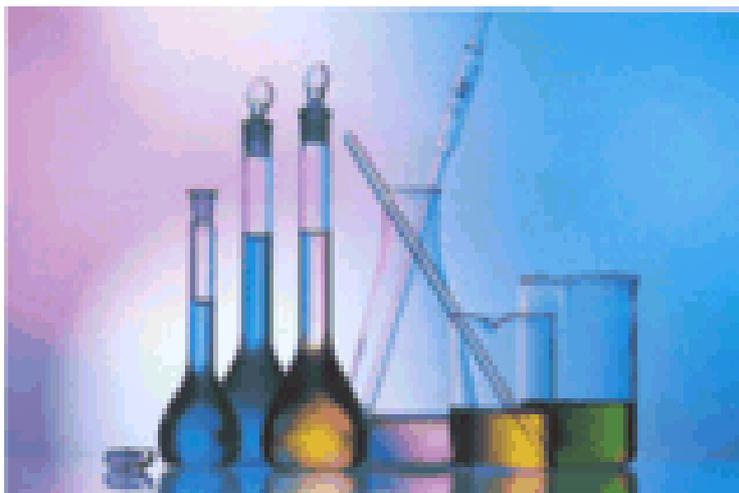
SOLUCIONES

Las soluciones o dispersiones se consideran como la combinación y mezcla de dos o más sustancias. También se puede definir como la interposición de las partículas de una sustancia en el seno de otra.

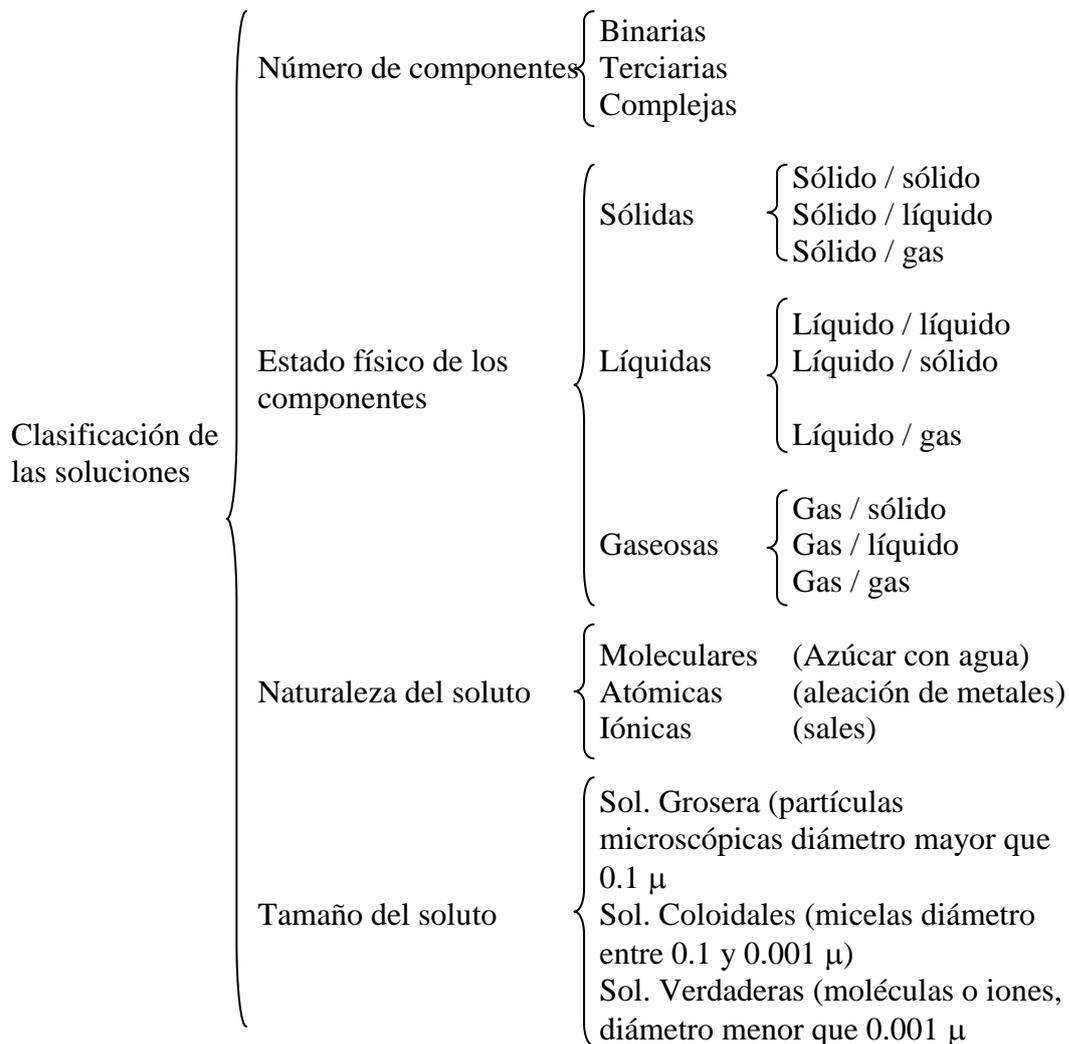
Toda solución o dispersión consta de dos fases o partes principales:

Soluto o fase dispersa. Sustancia dispersa en el medio de dispersión. Esta fase es discontinua, se encuentra en menor cantidad, se llama también fase interna.

Solvente o fase dispersante. Es el medio de dispersión (separa las partículas del soluto en una solución. Esta fase es continua, se encuentra en mayor cantidad, se llama también fase externa.



Clasificación de las soluciones:



Tamaño del soluto.

Soluciones Groseras. Son dispersiones en las cuales las partículas dispersas son invisibles a simple vista pero visibles al microscopio ordinario, poseen un diámetro mayor de 0.1 μ

Son sistemas heterogéneos en los cuales las partículas se sedimentan por influencia de la gravedad, se pueden separar por procedimientos ordinarios de filtración, no son estables y no atraviesan membranas permeables. Ejemplo: emulsiones y suspensiones.

Sistemas Coloidales. Son dispersiones en las cuales las partículas dispersas se llaman micelas

El tamaño de las partículas de un sistema coloidal es mucho mayor que el de las de una solución verdadera, su diámetro oscila entre 0.1 y 0.001 micras y el número de ellas por unidad de volumen es mucho menor.

Debido a que las partículas son demasiado pequeñas no son visibles al microscopio ordinario, pero son visibles al ultramicroscopio (fondo oscuro) ya que manifiestan cierta opalescencia con una iluminación lateral sobre fondo oscuro, la presencia de ellas está indicada algunas veces por la turbidez.

Los sistemas coloidales son **heterogéneos** por que hay dos fases presentes en ellos.

Aunque las partículas no se sedimentan por influencia de la gravedad, se pueden separar por medios físicos como la ultra centrifugación (10 000 ó 100 000 r.p.m.) y la filtración a través de filtros especiales de porosidad extremadamente finos llamados ultra filtros, a este proceso se le denomina ultra filtración. No atraviesan membranas dialíticas (celofán, colodión. Ejemplo: las proteínas de la sangre o de la leche.

Con base en lo anterior puede definirse una solución coloidal como la dispersión heterogénea de por lo menos dos fases inmiscibles.

Soluciones Verdaderas. Son dispersiones en las cuales las partículas dispersas a través del disolvente pueden ser moléculas o iones. Estas partículas disueltas le dan a la solución propiedades específicas, como color y conductividad eléctrica; no son visibles a ningún microscopio, son estables a la gravedad y atraviesan las membranas permeables, dialíticas, pero no las semi permeables como pergamino, tegumentos, etc.

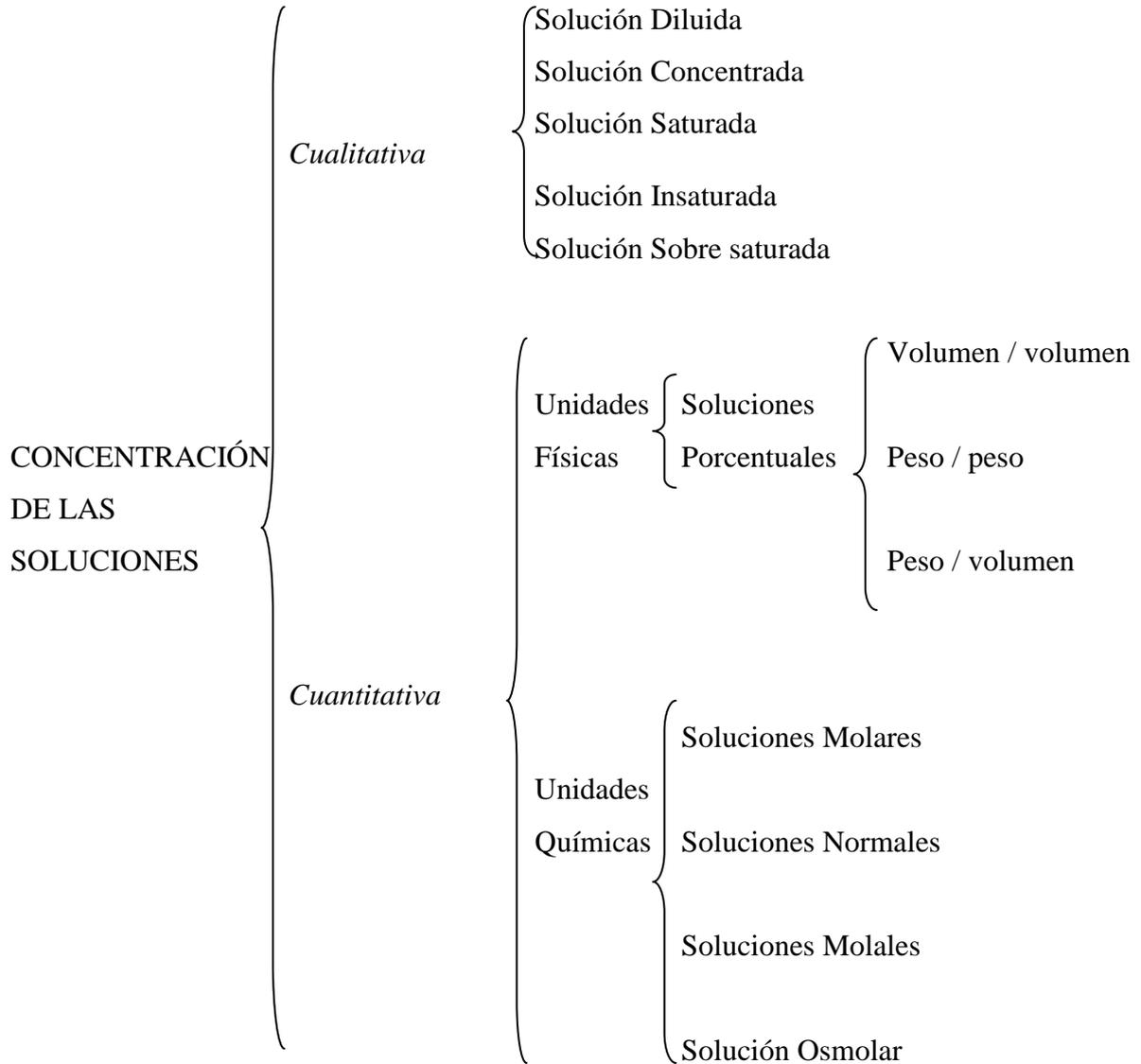
El tamaño de las partículas es extremadamente pequeño (diámetro menor de 0.001μ) y, por consiguiente, el número de partículas por unidad de volumen es elevado.

Estas dispersiones iónicas y moleculares producen un sistema **homogéneo** ya que no se puede detectar la presencia de más de una fase por los métodos físicos de los que se dispone hoy en día.

En el laboratorio trabajaremos con soluciones verdadera.

Expresión de la concentración de una solución

Concentración de una solución. Es la cantidad precisa de soluto contenido en una cantidad dada de solución. Las concentraciones de soluciones pueden expresarse en distinta forma.



En las soluciones cuyas concentraciones se expresan en forma cualitativa, la cantidad del soluto o Fase dispersa no se mide por ningún tipo de unidades, es decir, no se sabe la cantidad precisa que esta presente en ellas. En cambio en las soluciones expresadas en forma cuantitativa sí se sabe la cantidad precisa de soluto que esta presente y puede ser medido en unidades físicas y químicas.

UNIDADES FÍSICAS

Soluciones Porcentuales

Expresan la concentración del soluto en 100 partes de solución final. Se pueden dividir en tres tipos diferentes:

- De volumen en volumen (v / v)
- De peso en peso (p / p)
- De peso en volumen (p / v)

DE VOLUMEN EN VOLUMEN (v / v) Se refiere a las soluciones de líquido en líquido. Para preparar una solución porcentual consideremos a las sustancias como “químicamente puras”, es decir, que tienen un 100% de pureza; para fines prácticos se emplean 100 ml como volumen final de la solución y la cantidad en mililitros de soluto empleada en la solución se expresa en forma porcentual. Por ejemplo: si tenemos una solución de alcohol de 96%, queremos decir que por cada 100 ml de solución, 96 ml son alcohol puro y el resto (4 ml) es agua y otro solvente.

Se pueden preparar soluciones porcentuales diluidas, partiendo de una más concentrada, aplicando una regla de tres simple que permite calcular los volúmenes del soluto. Por ejemplo:

¿Cuántos mililitros de alcohol al 96% se necesitan para preparar 100 ml de alcohol al 15%?

$$\begin{array}{rcccl} \text{Solución} & 96 & \text{—————} & 100 & & & \\ & 15 & \text{—————} & x & & \frac{15 \times 100}{96} & = 15.6 \text{ ml} \end{array}$$

Por lo cual, para preparar 100 ml de alcohol al 15% a partir de una solución al 96%, se toman 1.6 ml de esta última y se completa el volumen a 100 ml

DE PESO EN PESO. Este tipo de solución porcentual expresa el número de gramos de soluto en 100 gramos de solución final. En general este tipo de soluciones son preparadas en el ámbito industrial y conviene conocerlas ya que algunos de los reactivos empleados en

nuestras prácticas son envasados en forma de soluciones p/p. Así, los ácidos clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico, etc., son de este tipo.

El significado porcentual es el siguiente: el clorhídrico viene preparado con una concentración de 36%, esto quiere decir que de cada 100 gramos de solución, 36 gramos son de ácido puro y el resto en gramos, es agua u otro solvente.

DE PESO EN VOLUMEN. Estas soluciones nos expresan el número de gramos del soluto en 100 ml de solución final, independientemente de cuál sea el solvente. Este tipo de soluciones porcentual es la más usada. Los ejemplos más claros son las soluciones de sales como Hidróxido de sodio al 10%, que indica que la solución contiene 10 g del hidróxido en 100 ml de volumen.

UNIDADES QUÍMICAS SOLUCIONES MOLARES

Un concepto indispensable en las soluciones Molares es el de MOL. Es bien conocido el hecho de que los átomos de los diferentes elementos poseen diferentes pesos entre sí. Esto obliga a la búsqueda de una unidad que expresa esta situación. La unidad tomada es un valor convencional que recibe el nombre de PESO ATOMICO. El Peso Molécula de una sustancia es igual a la suma de los pesos atómicos de sus constituyentes. Así el peso molecular del Cloruro de Sodio será:

NaCl

Peso del átomo de sodio = 23

Peso del átomo de cloro = 35.5

58.5

Por lo tanto el Peso Molecular del Cloruro de Sodio = 58.5

Si expresamos el peso molecular en gramos, obtenemos el valor de un MOL de NaCl.

En otras palabras, un mol o molécula gramo de una sustancia, es el peso molecular de la misma expresada en gramos. Un MILIMOL es, la milésima parte de un mol y se expresará en miligramos.

Con los conceptos anteriores, podemos definir una solución molar como: **aquella que contiene un Mol de sustancia disuelta en un volumen de un litro de solución final.**

Ejemplo: consideramos la preparación de una solución molar de NaCl, pesamos 58.5 g de sal (1 mol), y lo disolvemos en solvente hasta tener un litro de solución.

No necesariamente se prepara soluciones de 1000 ml, y las concentraciones pueden variar.

Esto trae consigo una serie de cálculos que se simplifican aplicando la fórmula siguiente:

$$\frac{V \times \text{P.M.} \times M}{1000} = \text{gramos de sustancia para el volumen deseado}$$

donde:

V = Volumen que se desea preparar

P.M. = Peso molecular de la solución problema

M = Molaridad deseada

Ejemplo: Preparar 750 ml de una solución 0.25 M de NaCl

V = 750 ml M = 0.25 P.M. = 58.5

$$\frac{750 \times 58.5 \times 0.25}{1000} = 10.98 \text{ g}$$

Es decir, se pesan 10.98 g de NaCl y se disuelven hasta un volumen de 750 ml. De esta manera, se obtiene 750 ml de una solución 0.25 M de NaCl.

En algunas ocasiones la sustancia problema viene preparada como una solución de peso en peso, por lo cual debemos considerar otros datos de la misma que son: su concentración y su densidad. Esto trae consigo el uso de la fórmula de **densidad** para transformar gramos en mililitros (masa en volumen):

Ejemplo: Preparar 100 ml de solución 0.2 M de H₂SO₄

V = 100 ml M = 0.2 P.M. = 98 Conc. = 98% D = 1.84

$$\frac{100 \times 98 \times 0.2}{1000} = 1.96 \text{ g}$$

Como el H₂SO₄ no es 100% puro, se aplica la siguiente regla de tres:

$$\begin{array}{l} 98 \text{ ----- } 100 \\ 1.96 \text{ ----- } X \end{array} \quad x = 2 \text{ g (masa)}$$

Por último se aplica la fórmula para convertir masa en volumen:

$$D = \frac{M}{V} \quad \text{se despeja } V \text{ y queda:} \quad V = \frac{M}{D}$$

Es decir,

$$V = \frac{2}{1.84} = 1.08 \text{ ml}$$

Por lo tanto, se mide 1.08 ml de H_2SO_4 y se completa a 100 ml

SOLUCION NORMAL

Son aquellas que contienen un EQUIVALENTE QUÍMICO GRAMO de la sustancia en un litro de solución final. Se entiende por **Equivalente Químico Gramo**, el peso de una sustancia que corresponde a un gramo de hidrógeno y se obtiene dividiendo el peso en gramos de la sustancia entre su valencia, es decir:

$$\text{Eq} = \frac{\text{P.M.}}{\text{Valencia}}$$

VALENCIA. Es la propiedad que tienen los átomos de combinarse entre sí para integrar moléculas. La valencia no está en relación con el peso atómico o molecular, sino con el número de electrones combinables (electrones de valencia); un átomo puede ceder o aceptar electrones en su última capa adquiriendo así una carga electrónica (positiva o negativa) de la cual se deduce su valencia.

Se pueden encontrar átomos con gran capacidad de combinación y que pueden pesar menos que otros átomos de mayor valencia, ejemplo:

Sodio	Na	peso atómico = 23	valencia = 1
Oxígeno	O	peso atómico = 16	valencia = +2
Aluminio	Al	peso atómico = 27	valencia = +3

Como puede apreciarse, existe una gran desproporción entre peso atómico y valencia de los distintos elementos. Esto crea la necesidad de encontrar una unidad que nos permita comparar la carga por número y no por peso. Esta unidad de actividad química es el EQUIVALENTE QUÍMICO.

Ejemplo: si comparamos 1000 Kg en peso de niños con 1000 Kg en peso de niñas no podríamos asegurar que hay la misma cantidad de niños que de niñas, pues ellos pesan en general mas que ellas; en tanto que si no tomamos en cuenta el peso, sino el número

y comparamos 10 niños con 10 niñas, tendremos la seguridad que la cantidad de niños será equivalente a la de las niñas.

Aplicando esta idea a los átomos y moléculas tenemos que el *equivalente químico de un ácido es igual a su peso molecular dividido entre el número de hidrógenos* que posee,

ejemplo:

$$\text{HCl} \quad \text{Eq} = \frac{\text{P.M.}}{1}$$

$$\text{H}_2\text{SO}_4 \quad \text{Eq} = \frac{\text{P.M.}}{2}$$

$$\text{H}_3\text{PO}_4 \quad \text{Eq} = \frac{\text{P.M.}}{3}$$

El equivalente químico de una base es igual a su peso molecular dividido entre el número de oxhidrilos (OH) que posee, ejemplo:

$$\text{NaOH} \quad \text{Eq} = \frac{\text{P.M.}}{1}$$

$$\text{Al(OH)}_3 \quad \text{Eq} = \frac{\text{P.M.}}{3}$$

El equivalente químico de una sal es igual a su peso molecular dividido entre la valencia del metal que posee o bien la del ácido del que proviene, ejemplo:

$$\text{NaCl} \quad \text{Eq} = \frac{\text{P.M.}}{1}$$

$$\text{BaSO}_4 \quad \text{Eq} = \frac{\text{P.M.}}{2}$$

En el laboratorio se prefiere emplear el mili equivalente. Ejercicios:

¿Cuántos mili equivalentes (mEq) representan 69 gr de Na?

$$\text{P.M. del Na} = 23 \quad \text{Sí } 23 \text{ g} \text{ ----- } 1 \text{ Eq}$$

$$\text{Valencia} = +1 \quad 69 \text{ g} \text{ ----- } x = 3 \text{ Eq}$$

$$\text{Eq} = \frac{23}{1}$$

$$3 \text{ Eq} = 3000 \text{ mEq}$$

Respuesta: 69 g de Na son 3000 mEq

CALCULO DE SOLUCION NORMAL.

Para saber la cantidad de sustancia necesaria para preparar un determinado volumen de una solución de cualquier normalidad, se aplica la fórmula siguiente:

$$\frac{V \times Eq \times N}{1000} = \text{gramos requeridos}$$

V = Volumen deseado

Eq = Equivalente químico

N = Normalidad requerida

Ejemplo: Preparar 300 ml de solución 0.1 N de CaCl_2

P.M. = 111 g

Valencia = +2

$$Eq = \frac{111}{2} = 55.5 \text{ g}$$

$$\frac{300 \times 55.5 \times 0.1}{1000} = 1.665 \text{ g}$$

Respuesta: se pesa 1.665 g de la sal y se diluye hasta un volumen de 300 ml

Si la sustancia en cuestión es líquida, se procede de la misma manera, pero tomando en cuenta la concentración y la densidad. Ejemplo: Preparar 100 ml de una solución 0.1 N de HCl

P.M. = 36.5

Valencia = -1

Concentración = 36%

Densidad = 1.19

$$Eq = \frac{36.5}{1} = 36.5$$

$$\frac{100 \times 36.5 \times 0.1}{1000} = 0.365 \text{ g (masa)}$$

$$\begin{array}{l} \text{Sí } 36 \text{ g} \text{ ----- } 100 \text{ g} \\ 0.365 \text{ g} \text{ ----- } x = 1.01 \text{ g (masa)} \end{array}$$

$$V = \frac{M}{D} \qquad V = \frac{1.01}{1.19} = 0.84 \text{ ml}$$

Resultado: se mide 0.84 ml de HCl y se completa a 100 ml

SOLUCIONES OSMOLARES

El fenómeno de la ósmosis se presenta cuando una solución está separada de su solvente por una membrana semipermeable. La osmosis es la difusión de solvente a través de la membrana desde la parte de menor a la de mayor concentración.

La presión osmótica es la presión que debe aplicarse sobre la solución de mayor concentración a fin de impedir el paso de solvente (osmosis) a través de la membrana.

Las membranas biológicas tienen permeabilidades distintas y se dice que son semipermeables, es decir, que son permeables para las moléculas del solvente o pequeñas moléculas, pero no permiten el paso libre de todas las moléculas disueltas.

Las mediciones cuantitativas demuestran que la presión osmótica es proporcional a la concentración molar (para sustancias no disociables) del soluto, por lo que ***una solución osmolar es aquella que contiene un mol de la sustancia en gramos en un litro de solución.*** Un osmol es una unidad de actividad osmótica. La concentración sé expresada en osmol por litro se llama ***osmolaridad***; tomando en cuenta que la concentración de solutos en los líquidos corporales, las dos medidas son tan cercanas que son intercambiables.

La presión osmótica depende del número de partículas y no de su carga, ni de su masa; la misma fuerza osmótica es ejercida por una molécula grande, como una proteína, con peso molecular de varios miles y muchas cargas.

Por ejemplo el cloruro de sodio en solución acuosa se disocia casi completamente en iones sodio (Na^+) y cloruro (Cl^-). Por lo tanto, cada molécula da origen a dos partículas osmóticamente activas, y una solución osmolar contiene media molécula gramo (peso molecular expresado en gramos) por litro, o sea:

$$1 \text{ osm/l} = 58.5/2 = 29.25 \text{ g/l} \text{ o también:}$$

$$1 \text{ mol de NaCl} = 2 \text{ osm/l}$$

En cambio, la glucosa en solución no se disocia y para esta sustancia la solución osmolar contiene un mol en gramos por litro.

$$1 \text{ mol de glucosa} = 180 \text{ g/l} = 1 \text{ osm/l}$$

La mayoría de los líquidos corporales tiene una presión osmótica que concuerda con la de una solución de cloruro de sodio al 0.9% y se dice que esta solución es isosmótica con los líquidos corporales.

Si tomamos en cuenta que la concentración osmolar de una solución que contiene una mezcla de electrólitos y no electrólitos es igual a la suma de las concentraciones osmolares individuales de todos sus componentes, es fácil convertir la concentración sérica de los solutos en osmolaridad. Una fórmula sencilla que ofrece una buena utilidad clínica es:

$$\text{Osmolaridad} = 2(\text{Na}^+ + \text{mmol/l}) + \text{glucosa mmol/l} + \text{NUS mmol/l}$$

$$O = 2(\text{Na} + \text{meq/l}) + \frac{\text{Glucosa mg/dl}}{18} + \frac{\text{NUS mmol/l}}{2.8}$$

donde: el factor 2 se debe a que se consideran los aniones asociados al Na^+ (Cl^- y HCO_3^-); 1 mosm de glucosa equivale a 180 mg/l – 18 mg/dl -, y 1 mosm de nitrógeno ureico NUS a 28 mg/l – 2.8 mg/dl- corresponde a la masa molecular de dos átomos de nitrógeno en la urea.

Los electrolitos Na^+ , Cl^- y HCO_3^- contribuyen en mas de 92% a la osmolaridad del suero; los otros electrólitos, junto con las proteínas séricas, glucosa y urea que son responsables del restante 8%.

BIBLIOGRAFÍA

1. López C. A. Bioquímica y Biología Molecular. Manuales Departamentales. Edit. McGraw Hill Interamericana. 1999-2000, Mexico.
2. Canales F. H., Alvarado E. L. Metodología de la Investigación. Manual para el desarrollo de personal de Salud. Edit. Limusa. 1986, México

APÉNDICE D

FISIOGRAFO. Narco Biosystem.

Fisiógrafo. Instrumento capaz de registrar fenómenos fisiológicos.

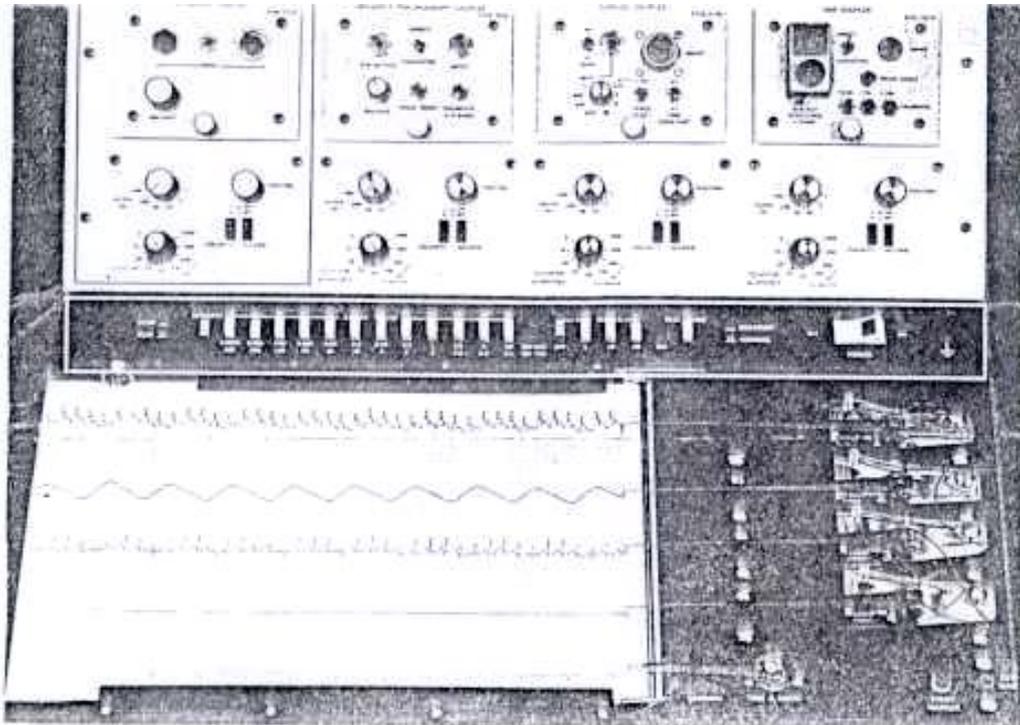
En el Laboratorio de Ciencias Fisiológicas se requiere del registro de fenómenos fisiológicos que allí se manejan, lo cual es posible mediante ciertos aparatos electrónicos entre los cuales se encuentra el Fisiógrafo. Así pues, se puede definir el Fisiógrafo como un aparato electrónico diseñado para el registro gráfico de los fenómenos fisiológicos.

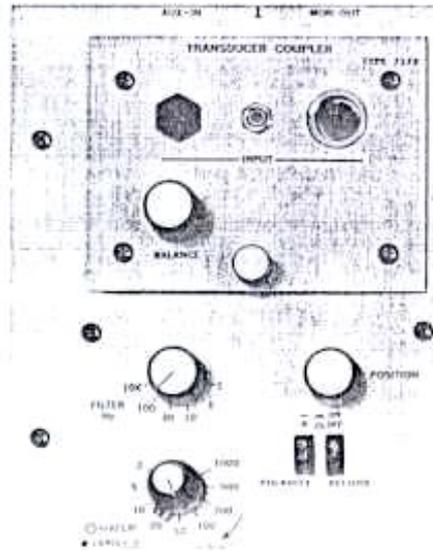
Este instrumento está compuesto por un grupo de canales de registro y una unidad accesoria, los cuales pueden ser operados en un gabinete o mueble principal.

Debido a esto se pueden registrar varias variables fisiológicas simultáneamente dependiendo del número de canales que posea el Fisiógrafo.

Un canal de registro consta de tres partes: el transductor, el amplificador y el inscriptor (canal de registro).

Fisiografo





ACOPLADOR DEL TRANSDUCTOR

AMPLIFICADOR

El Transductor convierte el fenómeno fisiológica en una señal eléctrica. Se conecta al animal experimental o al sujeto de estudio, es el encargado de recibir directamente el estímulo fisiológico y transformarlo en una señal eléctrica proporcional (fenómeno = contracción muscular, presión sanguínea, movimiento intestinal, la respiración, etc), dado que en ocasiones la señal recibida es leve es necesario amplificarla, por lo que se conecta al amplificador.

Algunos ejemplos de transductores son: el miógrafo, el colector de pulsos fotoeléctricas, micrófono de ruidos, etc.

El acoplador. Esta unidad s utilizada para conectar la señal proveniente del transductor o de la preparación biológica, con el amplificador y para calibrar y modificar la sensibilidad del sistema de registro.

El Amplificador. *Esta unidad funciona para amplificar la señal eléctrica proveniente del acoplador, con la ventaja de que retiene o conserva las relaciones proporcionales entre la señal eléctrica y la actividad de la variable fisiológica que presenta.*

Su función es incrementar la fuerza de la señal de entrada en un grado considerable capaz de poner en movimiento al motor d la plumilla de registro. El amplificador puede ser utilizado con una amplia variedad d acopladores, aceptando las señales provenientes de los transductores, d otros aparatos electrónicos de registro y de preparaciones biológica y sujetos de experimentación directamente; además posee los controles e interruptores necesarios para el procesado adicional de las señales de entrada, tales como los siguientes:

- **Botón de encendido (POWER).** Se utiliza para encender el amplificado, lo cual es indicado con una luz roja.
- **Botón de registro (RECORD).** Se utiliza para permitir la entrada de señales eléctricas al amplificador (provenientes de los elementos procedentes del canal), para su procesamiento posterior. Su encendido esta indicado con una luz amarilla.
- **Perilla de sensibilidad:** Este es un control giratorio con 10 posiciones (3 cm ADJ., 2, , 10, 20, 0, 100, 200, 00 y 1000 mV/cm). Es utilizada para seleccionar la sensibilidad del pre amplificador dentro del amplificador y por lo tanto, la sensibilidad del canal de registro y la amplitud del desplazamiento de la plumilla. De estas posiciones, la de máxima sensibilidad s de 2 mV / cm (la cifra numérica de cada posición indica la cantidad de energía en mV que debe llegar al amplificador, para mover el motor de la plumilla de registro, una distancia de 1 cm).
- **Perilla de variable:** Es un control giratorio localizado en la parte superior dela perilla de sensibilidad y cuya función es modificar la sensibilidad del amplificador, dentro de un rango señalado entre 2 de las posiciones adyacentes de la perilla de sensibilidad. Cuando se gira hasta el tope en sentido de las manecillas del reloj, se dice que la “variable está cerrada” e indica que el canal de registro está calibrado a la sensibilidad indicada por la perilla de sensibilidad.
- **Control de ajuste a 3 cm (3 cm ADJ):** Este control está representado por un *tornillo* cuya localización es señalada por una posición adicional en el movimiento de la perilla de sensibilidad (siendo la última posición de esta perilla, cuando es girada en sentido contrario de las manecillas del reloj). Este control proporciona una ganancia del poder del amplificador, asociado con su respectivo motor de la plumilla.
- **Perilla de posición (POSITION):** Este es un control que gira en ambos sentidos y está localizado en el cuadrante superior derecho del amplificador. Su función es mover la plumilla del canal en cualquier posición y permite colocarla en cualquier línea de referencia elegida (línea basal).
- **Perilla de filtro (FILTER):** Localizada en el cuadrante superior izquierdo del amplificador y tiene 7 posiciones (1, 2, 3, 10, 30, 100 Hz y 10 KHz), las cuales señalan diferentes frecuencias. Este control es utilizado para eliminar

todo tipo de energía electromagnética ajena a la señal proveniente de la preparación y que puede interferir con el registro de ésta.

- **Palanca de Polaridad (POLARITY):** Es un control de dos posiciones, utilizada para seleccionar la polaridad de la señal registrada. De esta manera, cuando la palanca está en posición de (+), todos los registros positivos serán hacia arriba de la línea basal.
- **AUX – IN:** Esta es una entrada para cualquier señal externa. Cuando se inserta un conector (plug), se desconecta automáticamente la señal proveniente del pre amplificador.
- **AUX – OUT:** Proporciona una señal de salida del pre amplificador y del filtro y no es afectada por la polaridad o por el control de posición.
- **MON – OUT:** Proporciona una señal de salida del amplificador, para su distribución a otros sistemas de registro y monitoreo, las cuales pueden ser manejadas con los controles de posición y polaridad del amplificador.

SISTEMA DE REGISTRO.

También llamado **Reproductor**. Este elemento del canal está compuesto de un motor de la plumilla (galvanómetro) y de una plumilla metálica. La función del motor es la de convertir la energía eléctrica proveniente del amplificador en un movimiento rotatorio, de modo que la excursión de la plumilla sobre el papel de registro, es proporcional a la energía de la variable fisiológica registrada. Existe una plumilla de registro por canal. En general, la función de este elemento es producir, una representación gráfica permanente de la actividad de la preparación biológica en cuestión, susceptible de ser captada por nuestros sentidos.

OTROS ELEMENTOS DEL Fisiógrafo

- a. **Interruptor General:** Cuando es accionado, proporciona la energía eléctrica que alimenta a los diferentes canales de registro.
- b. **Unidad de desplazamiento del papel:** Formada por una superficie plana y lisa, limitada por un par de vías o correderas que funcionan como guías para el papel de registro. Además, cuenta con un rodillo tensor del papel, el cual al hacer presión sobre una polea acoplada a un motor, pone en movimiento al papel. A su vez, la velocidad con la cual se desplaza el papel, es controlada por medio de una perilla incluida dentro del gabinete principal (paper speed), la cual cuenta con 12 posiciones.
- c. **Sistema Alimentador de la Plumillas:** Compuesto por 5 depósitos de tinta.

- d. Plumilla Marcadora del Tiempo y Eventos (Time & Event):** Localizada en posición lateral con respecto a las plumillas de registro y está sincronizada con un botón rojo incluido en el gabinete (Event Marker), cuya función es producir la deflexión (desviación) de la plumilla, para indicar el inicio o el final de una maniobra experimental. Esta plumilla también está acoplada con un cronómetro, el cual produce la deflexión de la plumilla a diferentes intervalos de tiempo (1, 5, 30 y 60 seg).
- e. Unida accesoria:** El mueble del Fisiógrafo posee un compartimiento adicional, en el cual se puede ensamblar un módulo accesorio, tal como un respirador o un canalizador de pulsos eléctricos (estimulador).

CALIBRACIÓN DEL CANAL

Se hace de acuerdo a los siguientes pasos:

1. Checar que todos los botones estén apagados (OFF) antes de conectar el Fisiógrafo a la toma de corriente.
 2. Checar que haya papel.
 3. Verificar que los tinteros tengan tinta.
 4. Insertar el acoplador del transductor
 5. Prender el fisiógrafo (ON)
 6. Presionar el botón de encendido del amplificador RECORD, (destellará una luz) al encenderlo.
 7. Verifique el funcionamiento del marcador de tiempo.
 8. Checar el funcionamiento del selector de velocidad del papel.
 9. Presione el botón RECORD para apagarlo.
 10. Coloque POLARITY + en el amplificador.
 11. Ajuste el FILTER a 10 KHz en el amplificador.
 12. Gire el control VARIABLE del amplificador en el sentido de las manecillas del reloj, presione el botón y gire para cerrarlo.
 13. Ajuste el control mV / cm a 10 mV / cm en el amplificador.
- Comprobar el libre desplazamiento de la plumilla de registro utilizando la **perilla de posición**, por lo menos 5 cm, colóquela 3. Cm por debajo del centro del trazo..
14. Seleccionar una línea Basal o de Referencia colocando la plumilla de registro con la perilla de posición.
 15. Calibrar el amplificador, colocando la perilla de MV / CM en la posición de 3 cm ADJ y comprobar que en realidad la plumilla desplaza 3 cm por arriba de la línea

basal. En caso de que la plumilla sobrepase esa longitud o se desplace menos, se deberá girar el tornillo de ajuste hacia la derecha para incrementar el desplazamiento o hacia la izquierda para disminuirlo, según el caso, hasta que la plumilla desplace exactamente 3 cm. Con esta maniobra queda calibrado el amplificador.

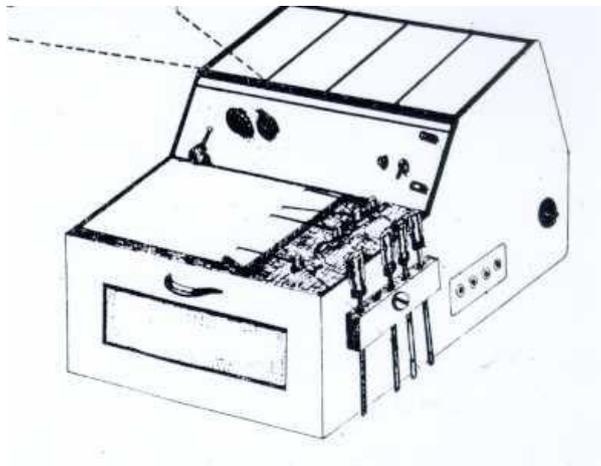
NOTA . Hasta este paso (del 1 al 16), es la calibración general del Fisiógrafo. Los siguientes pasos corresponden a la calibración del transductor MIÓGRAFO.

16. Presione el botón RECORD para encender el amplificador

17. Si es necesario reajuste la plumilla con el control BALANCE en el acoplador

NOTA. En algunos casos el transductor cuenta con una calibración interna, en estos casos siga las siguientes instrucciones:

- ❖ En el transductor presione el botón CAL según la calibración deseada y defina muy bien en su registro la distancia recorrida. Se sugiere un trazo de aproximadamente 5 cm de amplitud. Ayúdese con el control variable del amplificador.
- ❖ Libere el botón CAL, la plumilla debe retornar a la línea basal.
- ❖ Presione el botón RECORD para apagar el amplificador
- ❖ Ahora ya puede amarrar el tejido al transductor.
- ❖ Se recomienda prender el botón RECORD únicamente cuando sea necesario ver el registro.



BIBLIOGRAFÍA

Apuntes de los maestros de Laboratorio.

APÉNDICE E

MANEJO DE BURETAS TITULACIÓN

La titulación es un método de análisis que le permite determinar el punto final de una reacción y por consiguiente la cantidad exacta de un reactivo en el frasco de la titulación. Se usa una bureta para liberar el segundo reactivo al frasco y un indicador o el pH-Metro para detectar el punto final de la reacción.

Una Bureta es un tubo de vidrio graduado, generalmente de una capacidad de 25 ó 50 ml, subdividida en décimas de ml. Es usada para liberar una solución en volúmenes moderadamente precisos y variables. Se emplea principalmente para titulación, Para llenar una Bureta, cierre la llave de paso completamente y use un embudo. Puede separar el embudo ligeramente, para dejar que la solución fluya libremente.

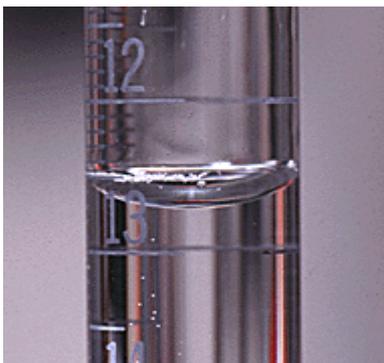
Las buretas son dispositivos para medir cualquier volumen hasta su capacidad máxima. La bureta tiene una llave que puede ser de vidrio esmerilado o de teflón, esta debe estar cerrada antes de colocar una alícuota en el interior de la misma aforándola por encima de cero y se eliminan las burbujas de aire que se forman haciendo girar con rapidez la llave, se hace descender la solución por debajo de la marca de cero y se toma una lectura inicial.



Verifique que no aparezca una burbuja de aire en la punta de la bureta. Elimine la burbuja de aire, tocando el lado de la punta de la bureta mientras la solución fluye. Si una burbuja de aire está presente durante una titulación, se cometería un error en las lecturas de volumen.



Lea el fondo del menisco. Está seguro que su ojo está al nivel de menisco, no por encima o por debajo.



Se logra mayor precisión colocando por detrás de la bureta una tarjeta blanca con una línea negra de manera que la línea quede ligeramente por debajo del menisco.



Usted verá el cambio de color del indicador cuando el titulante se mezcla gota a gota a la solución en el frasco, este cambio de color desaparece al agitar.



Asegúrese de que ha alcanzado el punto final. Para la fenofltaleina, el punto final es la primera coloración rosa pálida permanente. Esta coloración se debilita pasados 10 o 20 minutos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anderson-Cockayne. Química clínica. 1ª Edición. Editorial Interamericana. Mc Graw Hill. México. 1995

APÉNDICE F

METODO PARA LA EXTRACCION DE SANGRE

La extracción de **sangre** es un procedimiento muy usual para la detección de posibles enfermedades al realizar los oportunos análisis a la muestra de sangre obtenida.

Para la toma de una muestra de sangre se requiere de la realización de los siguientes pasos:

1. Para que el paciente (alumno) sea considerado como voluntario deberán tomarse en cuenta algunos antecedentes: no padecer o haber padecido de hepatitis o alguna enfermedad infecto contagiosa y no tener problemas de coagulación.
2. Preparar el material, identificar al voluntario, explicar al voluntario (paciente) el procedimiento que se va a realizar.
3. Lavarse las manos con agua y jabón.
4. Colocar cómodamente al voluntario (paciente) para el procedimiento. El voluntario deberá estar sentado, con el brazo sobre una mesa; deberá abrir y cerrar la mano repetidas veces con la finalidad de hacer más visibles las venas del brazo.
5. Colocar una banda elástica o un brazalete de presión alrededor del **antebrazo** con el fin de ejercer presión y restringir el flujo sanguíneo a través de la vena, lo cual hace que las venas bajo la banda se dilaten. Con una liga de hule, aplicar un torniquete a unos 7 cm por arriba del pliegue del codo.
6. Seleccionar el vaso mediante el tacto, para determinar la profundidad, calibre, elasticidad, etc. También se puede localizar la vena por inspección (color azulado). Escoger una vena de buen calibre, localizarla y palparla con el dedo para sentir su trayectoria, La sangre se extrae de una **vena**, usualmente de la parte interior del **codo** o del dorso de la **mano**. antes de puncionar, asegurarse de que la jeringa no contenga aire y que el embolo se deslice suavemente.
7. Desinfectar el punto de punción con una torunda humedecida con alcohol, una banda elástica o un brazalete de presión alrededor del **antebrazo** con el fin de ejercer presión y restringir el flujo sanguíneo a través de la vena, lo cual hace que las venas bajo la banda se dilaten. estirar la piel con el dedo pulgar izquierdo, pinchar la piel y posteriormente la vena en dirección contraria al flujo sanguíneo con un ángulo entre 15° y 30° respecto a la piel, introducir la aguja, cuidando que el bisel de la aguja esta hacia arriba.
8. En el momento que se introduce la aguja a la vena, la parte del plástico se colorea de rojo lo que indica que nos encontramos en la vena.
9. Jalar el embolo lentamente hasta completar la cantidad deseada. NOTA cuidar de no inyectar aire al introducir la aguja.
10. una vez que se ha recogido la sangre, se retira la aguja y se cubre el sitio de punción con una torunda humedecida con alcohol para detener cualquier sangrado doblar el brazo del voluntario durante unos minutos

Los riesgos relacionados con la punción venosa son leves:

- Sangrado excesivo por el punto de punción
- Formación de hematomas (acumulación de sangre debajo de la piel)
- Infecciones por pérdida de integridad de la piel
- Punciones múltiples para localizar las venas
- Laceración de arteria o nervio adyacente
- Trombosis o embolia en punción de grandes vasos

- Desmayo o sensación de mareo

Consideraciones especiales:

El tamaño de las venas y las arterias varía de un paciente a otro y de una parte del cuerpo a otra, por tal razón obtener muestras de sangre en algunas personas puede ser más difícil que en otras.

Sitios de punción

Cuero cabelludo: Venas superficiales del cráneo.

Cuello: Yugular externa.

Axila: Vena axilar.

Fosa ante cubital: Vena basilíca, cefálica y mediana.

Antebrazo: Vena radial, cubital y mediana.

Mano: Venas dorsales de la mano.

Tobillo: Safena interna y externa.

Pie: Venas dorsales del pie.





APENDICE G MANEJO DE LA BALANZA GRANATARIA.

- 1.- Verifique el cero sin carga en la balanza, esto implica que el fiel de este equipo debe señalar cero cuando el platillo esta vacío.
- 2.- Tara el recipiente, esto es (el papel encerado, papel aluminio, vaso de precipitado, capsula de porcelana, en el cual se va colocar la muestra), anota el peso.
- 3.- Los reactivos nunca deben colocarse directamente sobre el platillo de la balanza, ya que este puede corroerse y contaminar el sólido.
- 4.- Agregue el sólido a pesar y anote la nueva lectura, el peso del reactivo sólido es la diferencia entre las dos lecturas, cerciórese de que el fiel de la balanza oscile por igual en cada dirección para ambas lecturas.
- 5.- Para realizar las diferentes pesadas de los reactivos, utiliza una espátula o pipeta según sea el estado físico de la sustancia.
- 6.- Al terminar limpia bien el platillo de la balanza.

APENDICE H

MANEJO DE LOS ESTIMULADORES:

Los estimuladores son dispositivos que sirven para enviar señales eléctricas capaces de estimular células y/o tejidos de un organismo vivo.

Estas señales o estímulos tienen algunas características básicas, como son: la amplitud o **INTENSIDAD** del estímulo, la **DURACIÓN** de dicho estímulo en sí, y la **FRECUENCIA**, es decir cuantas veces se repetirá dicho estímulo en una unidad de tiempo.

ESTIMULADOR HARVARD:

- 1.- Bornes que se conectan a los electrodos, por ellos sale la señal eléctrica.
- 2.- Palanca con la cual se dispara el estímulo. Puede dispararse de dos maneras: hacia abajo (**SINGLE**) dispara un estímulo único. Hacia arriba (**MÚLTIPLE 60 PPS**) dispara estímulos con una frecuencia de 60 por segundo.
- 3.- Selectores de voltaje: el botón superior sirve para seleccionar el voltaje (de 0 a 20 voltios). El botón inferior multiplica el voltaje seleccionado (por 10) con el botón superior, y también sirve para prender o apagar el aparato.
- 4.- Luz indicadora.- Se prende cada vez que sale un estímulo.

ESTIMULADOR STUDENT:

- 1.- Llave de prendido y apagado.
- 2.- Luz indicadora de salida de estímulo.
- 3.- Disparador de estímulos únicos o repetitivos.
- 4.- Selector de corriente directa continua, o de corriente alterna.
- 5.- Selector de estímulos únicos o repetitivos.
- 6.- Botones selectores de **DURACIÓN**, **FRECUENCIA** E **INTENSIDAD** (los botones de la derecha multiplican los valores seleccionados con los botones de la izquierda).
- 7.- Bornes para la salida del estímulo.

ESTIMULADOR HARVARD



ESTIMULADOR STUDENT

