UNIVERSIDAD DE TARAPACA
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA Y SALUD

FISIOLOGIA PRACTICA

Gertrudis Cabello Fernandez

Patricio Velez Silva

María Verónica Terrazas Mamani

ARICA - CHILE

1986

UNIVERSIDAD DE TARAPACA
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA Y SALUD

FISIOLOGIA PRACTICA

Gertrudis Cabello Fernandez
Patricio Velez Silva
María Verónica Terrazas Mamani

ARICA - CHILE
1986

AGRADECIMIENTOS

A los Srs. Emilio Quintana y Roberto Parra
por su valiosa y desinteresada colaboración.

I N D I C E

Fig.

INTRODUCCION

Este libro contiene guías de trabajo para el Laboratorio de Fisiología en Carreras del Area de la Salud. Cada una contiene una breve introducción teórica con el fin de permitir una mejor comprensión del trabajo práctico.

Cada sesión está programada para 4 horas de trabajo, al término de cada una de ellas el alumno habrá adquirido nuevas habilidades y aumentado sus conocimientos en Fisiología.

Los autores.

LA RATA COMO ANIMAL DE EXPERIMENTACION.

OBJETIVO.

Al finalizar esta sesión de laboratorio el alumno deberá ser capaz de manipular una rata, identificarla según su número y sexo, anestesiarla, realizar canulación de conductos (tráquea, conducto salival, pancreático, yugular o carótida), realizar una laparotomía e identificar órganos.

MATERIALES.

Ratas de diferentes edades
Anestésico
Jeringa y agujas
Material quirúrgico
Tabla de disección
Tubos de polietileno (Clay Adams PE 10, 20 y 240).

MANIPULACION.

Saque la rata de la jaula, tomándola de la cola. Deje su ejemplar sobre el mesón y proceda a tomarla de la siguiente manera: con la mano derecha tome la cola, coloque la mano izquierda sobre la rata, tomando la cabeza entre los dedos índice y medio, luego cierre la mano cogiendo el cuerpo de la rata. Para asegurar una buena posición de la cabeza entre los dedos, tire la piel de la zona occipital hacia atrás, de esta manera se impide que la rata mueva la cabeza y las extremidades; se logra por lo tanto, la inmovilidad adecuada para trabajar, dejando además la mano derecha totalmente libre.

IDENTIFICACION

Según su número: La forma más usada para identificar animales, es por medio de cortes o perforaciones en las orejas.

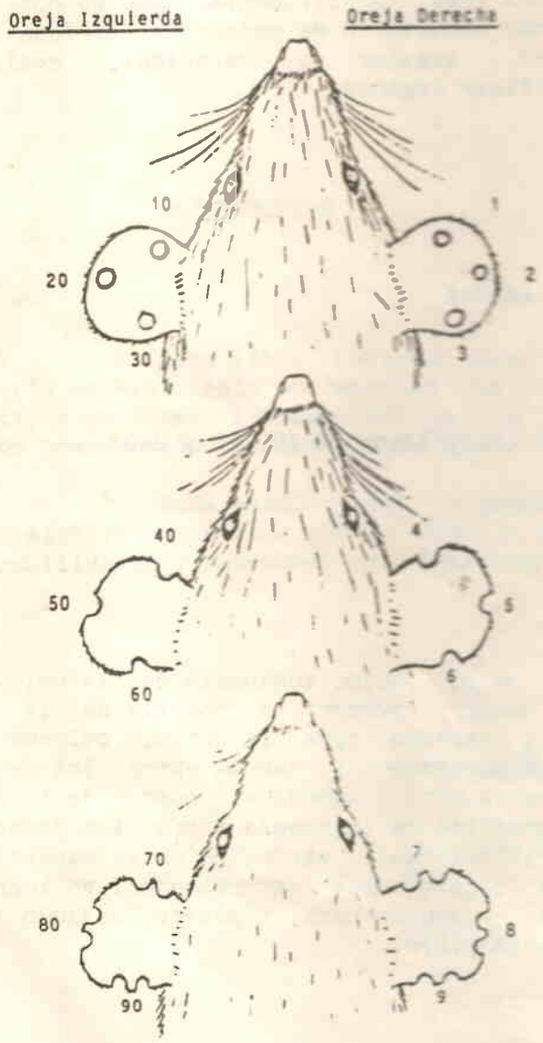


Fig. 1.- Sistema de marcación en ratas.

Según su sexo: En ~~ratas adultas~~ el reconocimiento del sexo es simple, ya que en el macho los testículos son visibles y en la hembra la vagina esta abierta. En crías hasta los 25 días, el sexo se determina por la distancia que hay entre el ano y el tubérculo genital, En el macho la distancia existente entre estos dos elementos es mayor que en la hembra.

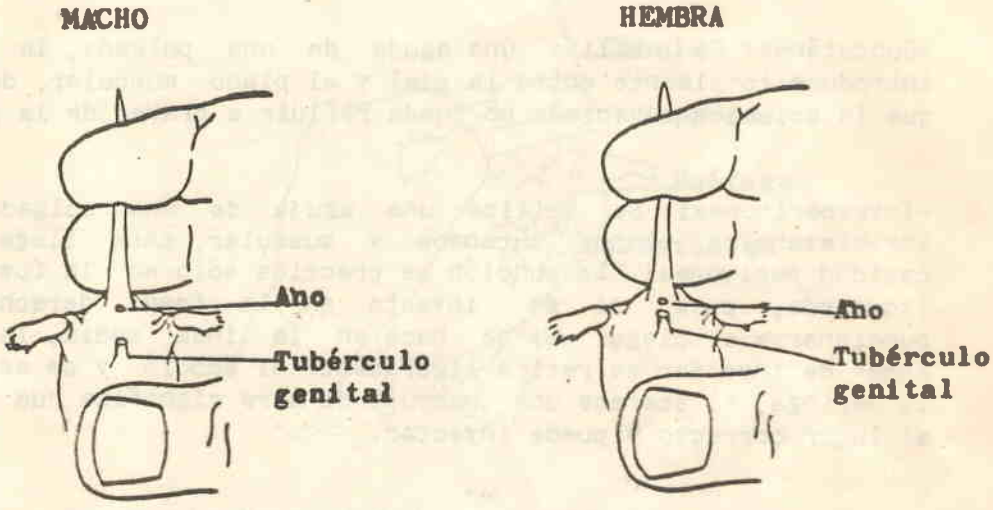


Fig. 2.- Reconocimiento precoz del sexo en rata.

ANESTESIA.

MATERIALES.
2 ~~ratas~~
Jeringa de 2 ml
~~Agujas de 1 y 1,5 pulgadas~~
Pentobarbital sódico
Eter
Algodón
Campana de vidrio.

PROCEDIMIENTO.
Existen varios tipos de anestesia y diversas formas de aplicarla, comúnmente se trabajará con anestesia general invectada.

Anestésico inyectable: Pentobarbital sódico, se usa en la proporción de 8 mg/100 g de peso corporal. La solución a usar

Dosis 8mg/100g corporal ∴ 0,4 ml c/100 g peso corporal

solución 20mg/ml

contiene 20 mg/ml, por lo tanto, debe inyectar 0,4 ml por cada 100 g de peso del animal. Este anestésico se inyecta intraperitonealmente.

TECNICA DE INYECCION.

Las inyecciones pueden ser subcutáneas, intraperitoneales, endovenosas o intragástricas.

-Subcutánea: Se utiliza una aguja de una pulgada, la que se introduce totalmente entre la piel y el plano muscular, de manera que la solución inyectada no pueda refluir a través de la punción.

-Intraperitoneal: Se utiliza una aguja de una pulgada y se atraviezan los planos cutáneos y muscular, para llegar a la cavidad peritoneal. La punción se practica sólo en la fosa ilíaca izquierda, pues, si se inyecta en la fosa derecha puede puncionarse el ciego. Si se hace en la línea media, la aorta. Antes de inyectar se retira ligeramente el émbolo y se aspira con la jeringa, si aparece una burbuja de aire significa que está en el lugar correcto y puede inyectar.

-Endovenosa: En la rata se utiliza para esta inyección la vena yugular o la femoral. La primera se descubre practicando un corte en la piel de la región ventral del cuello, sobre la clavícula, en angulo de 15 grados más o menos, con respecto a la línea media. Visualizada la yugular se le restriega con un algodón seco y se pasa un hilo por detrás de su extremo cefálico como apoyo al realizar la punción. Una vez colocada la inyección y detenida la hemorragia, se saca el hilo y se cierra la pared.

Para la inyección endovenosa por vía femoral se descubre la vena practicando un corte en la piel de la región ventral del muslo, paralelo al eje del hueso. Visualizada la vena femoral, se la restriega con un algodón seco y a continuación se punciona en el sentido de la corriente sanguínea. La posible hemorragia ocasionada por la punción, se inhibe comprimiendo suavemente el vaso con un algodón seco durante algunos minutos.

-Intragástrica: Se abre el hocico de la rata con una pinza y se introduce una sonda de 1 mm de diámetro, calculando llegar hasta el estómago y teniendo cuidado de no entubar la tráquea. La sonda debe estar conectada a la jeringa con la cual se inyecta el líquido. (Fig.3).

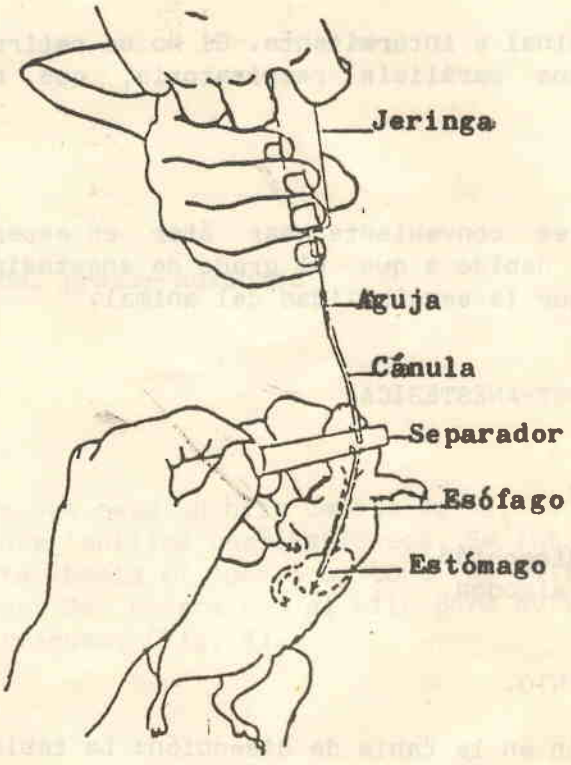


Fig. 3.- Inyección intragástrica en rata.

Anestésico por inhalación: Eter. Se coloca el animal bajo una campana de vidrio dentro de la cual se ha colocado un algodón con éter. Cuando Ud. observe que los movimientos espontáneos del animal han cesado, acompañado de la inhibición del reflejo corneal, debe retirarlo de la campana y continuar la anestesia, colocando sobre el hocico, un algodón con éter, dentro de un vaso.

PERIODOS DE LA ANESTESIA ETEREA.

-Etapa de excitación: El animal presenta movimientos espontáneos que van disminuyendo gradualmente. Se mantiene el reflejo corneal y la respiración se acelera.

-Etapa quirúrgica: Es la etapa óptima para trabajar con el animal. No hay movimientos espontáneos, el reflejo corneal desaparece, la respiración es toráxica y de amplitud y frecuencia normal.

-Etapa de parálisis medular: Durante esta etapa la respiración se

hace abdominal e intermitente. Si no se retira la anestesia puede provocar una parálisis respiratoria, que causa la muerte del animal.

Nota: No es conveniente usar éter en experiencias de control periódico, debido a que el grado de anestesia varía rápidamente, al igual que la sensibilidad del animal.

TECNICA POST-ANESTESICA.

MATERIALES.

Tabla de disección
Tijeras y algodón.

PROCEDIMIENTO.

-Colocación en la tabla de disección: La tabla tiene elásticos que sirven para retener las extremidades del animal e inmovilizar la cabeza. Cuide de no aplastar la lengua, para permitir la respiración normal del animal.

Las posiciones mas usadas para trabajar son:

-Decúbito ventral: El animal está con el vientre hacia abajo.

-Decúbito dorsal: El animal está con el vientre hacia arriba, la columna vertebral descansa sobre la tabla de disección.

Una vez que el animal anestesiado se ha fijado a la tabla, se procede a depilar, cuando se pretende conservar la vida del animal. La depilación se debe realizar con tijeras gruesas, luego se pasa un algodón con alcohol para sacar toda la grasa del pelo y se termina con una hoja de afeitar pasándola con la inclinación adecuada para cortar el pelo. Se debe sacar todo el pelo cortado con el algodón con alcohol.

TECNICA OPERATORIA.

-Traqueotomía.

MATERIALES.
Rata anestesiada
Tubo de polietileno del grosor adecuado
Hilo
Equipo quirúrgico.

PROCEDIMIENTO.

Se despeja la tráquea, se pasa un hilo debajo de ella y se hace un corte pequeño entre dos anillos cartilaginosos. Se introduce por el corte, con la punta hacia el cuerpo un tubo de polietileno de unos 2 a 3 cm de largo. Se amarra con el hilo para evitar que el tubo se salga de la tráquea. (Fig. 4).

Fig. 4.- Traqueotomía en rata.

CANULACION DEL CONDUCTO PRINCIPAL DE LA GLANDULA SUBMANDIBULAR.

Las glándulas submandibulares se encuentran en la parte anterior del cuello. Para canular el conducto coloque la rata decúbito dorsal, con la cabeza hacia Ud. trabajando bajo lupa estereoscópica, despeje y pase un hilo por debajo de los conductos de la glándula submandibular y de la sublingual que se encuentran juntos. Para colocar los conductos en la posición adecuada tire el extremo del hilo que está al lado de la tráquea, extraiga cuidadosamente toda la fascia que pueda hasta que visualice perfectamente el conducto de la glándula submandibular, luego haga un pequeño corte con tijera muy fina e introduzca el extremo de un tubo de polietileno (Clay Adams PE 10) aguzado a la llama. Coloque una inyección intraperitoneal de Pilocarpina (10 mg/kg de peso corporal) para inducir la secreción salival y luego coloque el extremo libre del tubo de polietileno dentro de un tubo de vidrio pequeño y previamente pesado para recoger la secreción. (Fig. 5)

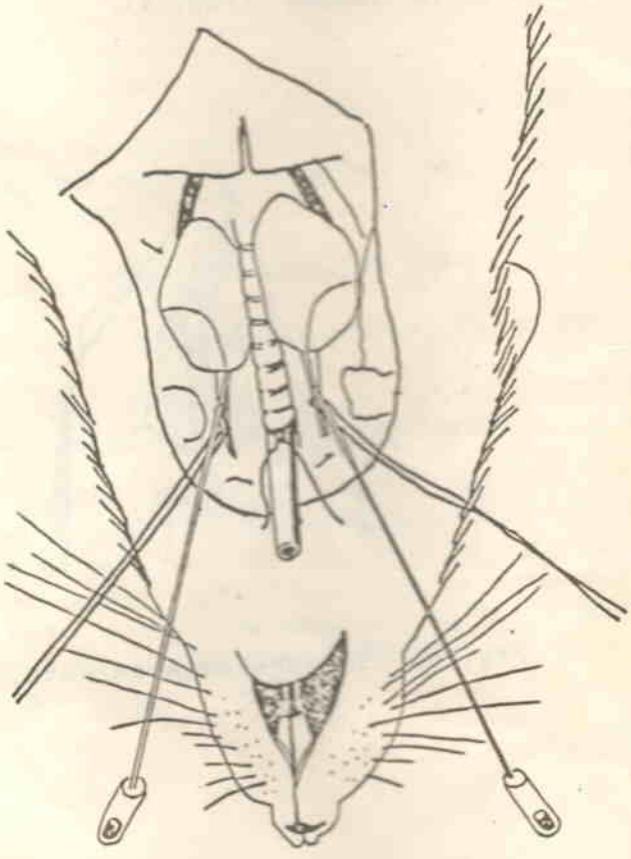


Fig. 5.- Obtención de saliva IN VIVO por canulación del conducto principal de la glándula submandibular de rata.

CANULACION DE ARTERIA CAROTIDA.

-Despeje a ambos lados de la tráquea, hasta ubicar los paquetes vásculo-nerviosos formados por arteria carótida y nervio vago. Una vez ubicada la carótida pase por debajo de ella dos hilos. Obstruya la circulación carotídea poniendo un clamp metálico en el extremo central de la arteria y con una de las hebras de hilo haga una ligadura distal. Luego haga un pequeño corte en la carótida e introduzca el cateter en dirección al corazón, asegúrelo con la otra hebra de hilo y suelte el clamp, si está bien colocado saldrá sangre por el cateter. Obstrúyalo nuevamente con el clamp. Figura 6.

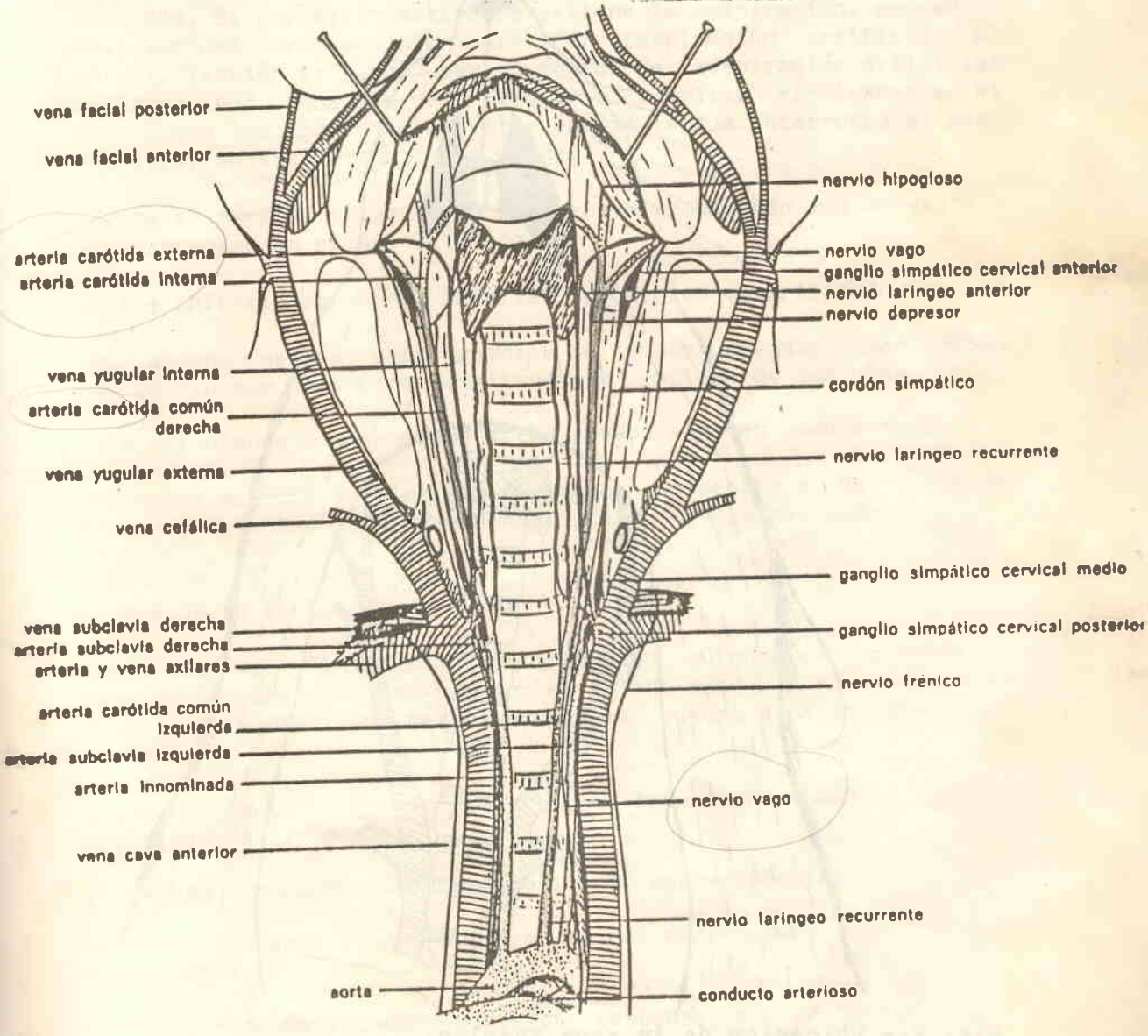


Fig. 6.- Ubicación de las arterias carótidas y venas yugulares.

CANULACION DE VENA YUGULAR.

-Ubique la yugular en la zona de la clavícula y pase dos hebras de hilo por debajo de ellas. Haga una ligadura distal, practique un pequeño corte e introduzca un cateter de unos diez centímetros de largo, en dirección al corazón si desea usarlo para introducir substancias y en dirección hacia la cabeza si desea extraer sangre, asegúrelo con la otra hebra de hilo (Fig.7).

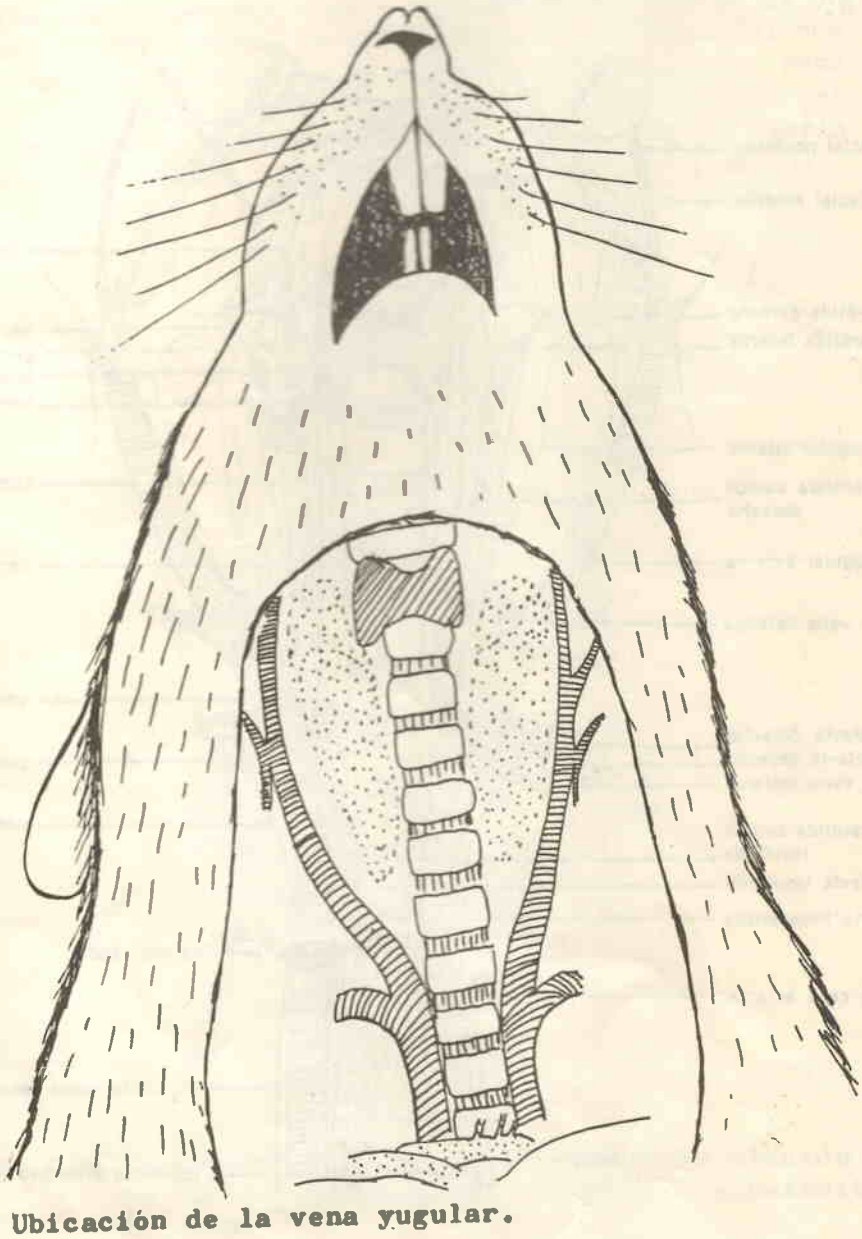


Fig. 7.- Ubicación de la vena yugular.

CUIDADOS DURANTE EL PROCESO OPERATORIO.

-Evite la hemorragia; en caso de ser un caso de un vaso mayor, use pinzas para cerrar ambos extremos del vaso. Los vasos pequeños se comprimen con algodón seco.

-Evite siempre la dehidratación de los órganos humedeciendo periódicamente éstos, con suero fisiológico tibio.

-Mantenga siempre la temperatura óptima del animal, esto se consigue cuidando la temperatura ambiental y usando suero fisiológico a 37 grados centígrados para humedecer los órganos.

-Cuide siempre que la respiración y el grado de anestesia sea el adecuado. Si por algún motivo se detiene la respiración, proceda a realizar una traqueotomía para dar respiración artificial al animal. También se puede usar el método de respiración artificial mecánica, que consiste en comprimir y soltar rítmicamente el tórax, con los dedos. Para evitar que la lengua interrumpa el paso del aire, sujete ésta con una pinza.

-Evite siempre el traumatismo operatorio trabajando con suavidad y sin manipular en exceso al animal.

-Evite infecciones usando material quirúrgico esterilizado.

-El alumno deberá usar guantes o manos lavadas con jabón sanigermin por 5 minutos, vigilando la limpieza de las uñas.

-Las soluciones a usar deben estar estériles y en buen estado.

-Mantenga siempre la limpieza del campo operatorio y del mesón de trabajo, colocando los desechos en un recipiente adecuado.

CIERRE DE LA PARED.

Una vez finalizada la operación quirúrgica, proceda a suturar la pared, empezando por el plano muscular y continuando luego con la piel. Una vez terminada la sutura debe desinfectarse con yodo.

Ligadura y sutura. Por lo general, en las experiencias se usarán dos tipos de ligadura:

-Ligadura o nudo simple: Para obliterar vasos sanguíneos.

-Ligadura doble o cuadrada: Para cuando se requiera una ligadura permanente.

El tipo de ligadura puede ser de punto corrido o bien punto

aislado, en este último caso la distancia entre punto y punto no debe ser mayor a 1 cm. ya que de lo contrario, existe gran peligro de contaminación externa. (Fig.8).

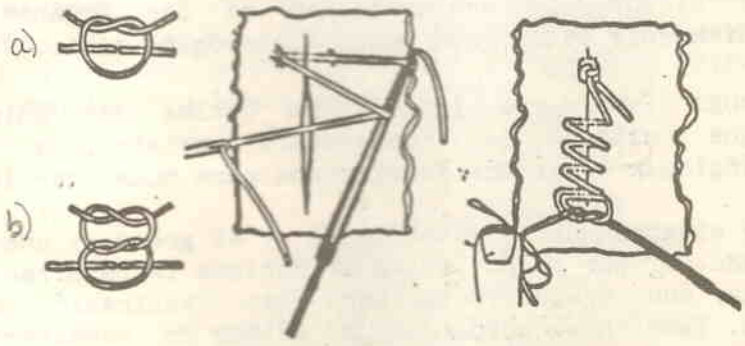


Fig. 8.- Ligaduras y sutura corrida. a) Ligadura simple (arriba, a la izquierda), b) ligadura cuadrada (abajo, a la izquierda) y sutura corrida (al centro y a la derecha).

CUIDADOS POST-OPERATORIOS.

-Evite las infecciones: Después del período operatorio debe mantenerse una estrecha vigilancia en los procesos infecciosos, desinfecte la jaula donde descansará el animal. Durante los tres primeros días examine periódicamente la herida del animal, además inyecte por vía subcutánea, penicilina en dosis de 10.000 unidades por 100 g de peso corporal.

-Evite el enfriamiento: Una de las causas mas comunes de muerte en el animal, es el enfriamiento. Esto se soluciona facilmente con una adecuada calefacción, ya sea por medio de una estufa o bien colocando una lámpara. En último caso, envuelva al animal en un paño y coloque botellas con agua caliente a su alrededor.

-Evite la excesiva manipulación del recién operado: La excesiva manipulación del animal, puede provocar hemorragias internas con consecuencias fatales y a la vez, impide la buena y pronta cicatrización de la pared.

DISECCION DE UNA RATA.

El principal objetivo de la disección es exponer los órganos para su estudio, no simplemente destrozar el animal.

PROCEDIMIENTO.

Mate la rata con exceso de anestesia.

Examen de la superficie ventral.

-Afirme las extremidades a la tabla de disección. Examine la cavidad oral. Note los incisivos en la parte frontal de la boca. Abra la boca lo suficiente para examinar los molares aplanados en la parte de atrás de la boca.Estos dientes se usan para moler el alimento en pequeñas partículas. Observe la lengua, raspe suavemente su superficie para determinar su textura. El techo de la boca está formado por un paladar anterior duro y uno posterior blando. Observe el nacimiento de la faringe la cual forma parte del aparato digestivo y del respiratorio.

-Levante la piel de la línea media ventral con pinza y haga una pequeña incisión con tijera como se muestra en la figura 9.

-Corte la piel hacia arriba hasta la mandíbula inferior, de vuelta la tabla de disección y complete este corte hacia el ano, cortando a ambos lados de la abertura genital.

-Separe la piel de la musculatura como se muestra en la figura 10.

-Si su espécimen es una hembra, las glándulas mamarias seguramente quedarán pegadas a la piel. (Fig. 11).

APERTURA DE LA CAVIDAD ABDOMINAL.

Como se muestra en la figura 12 haga una incisión con una tijera a través de la pared abdominal. Para hacer el corte es necesario levantar el plano muscular con una pinza.

Precaución: Tenga cuidado de no dañar las vísceras a medida que Ud. corta.

-Corte hacia arriba a lo largo de la línea media de la caja toráxica y hacia abajo a lo largo de la línea media hacia los genitales.

-Para exponer completamente los órganos abdominales haga dos cortes laterales cerca de la base de la caja toráxica -uno hacia

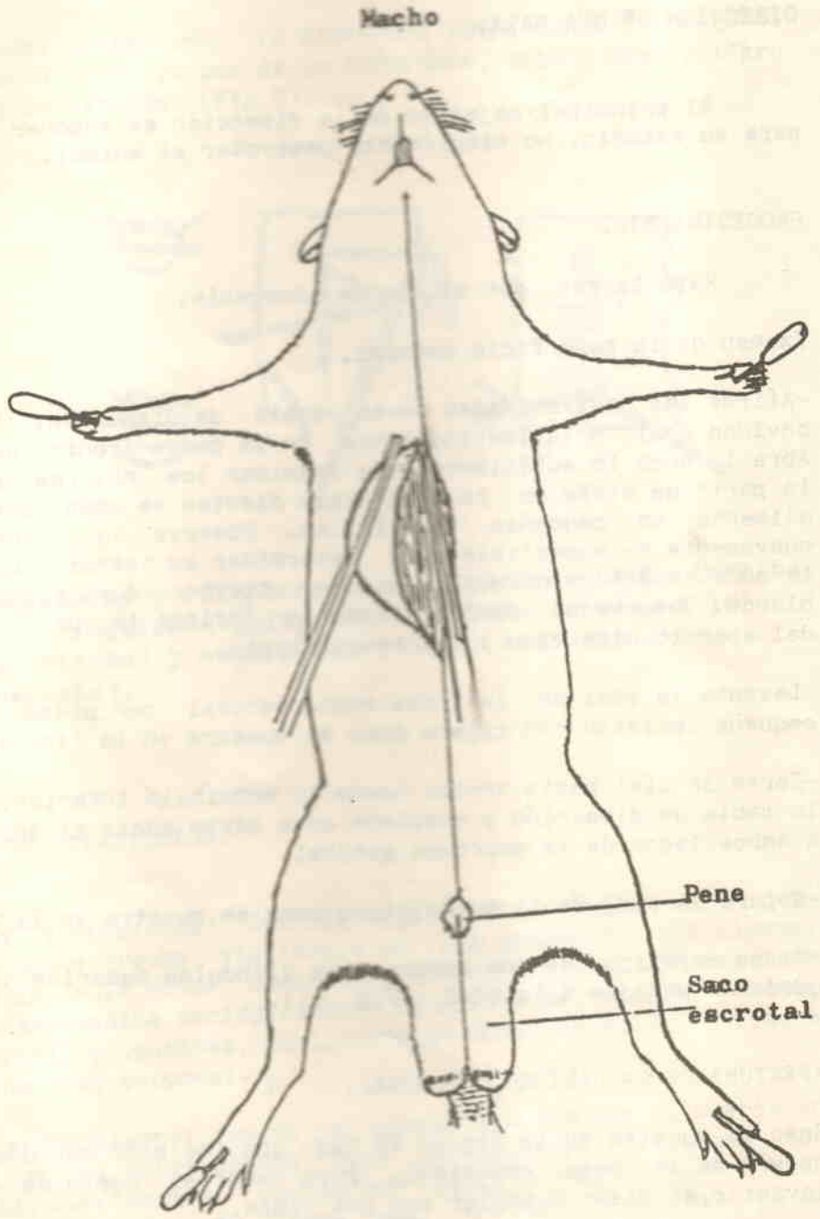


Fig. 9.- Corte de la piel a lo largo de la línea media ventral. Continúe el corte hacia adelante, hasta el nivel del labio inferior y hacia atrás, alrededor del pene y entre los sacos escrotales.

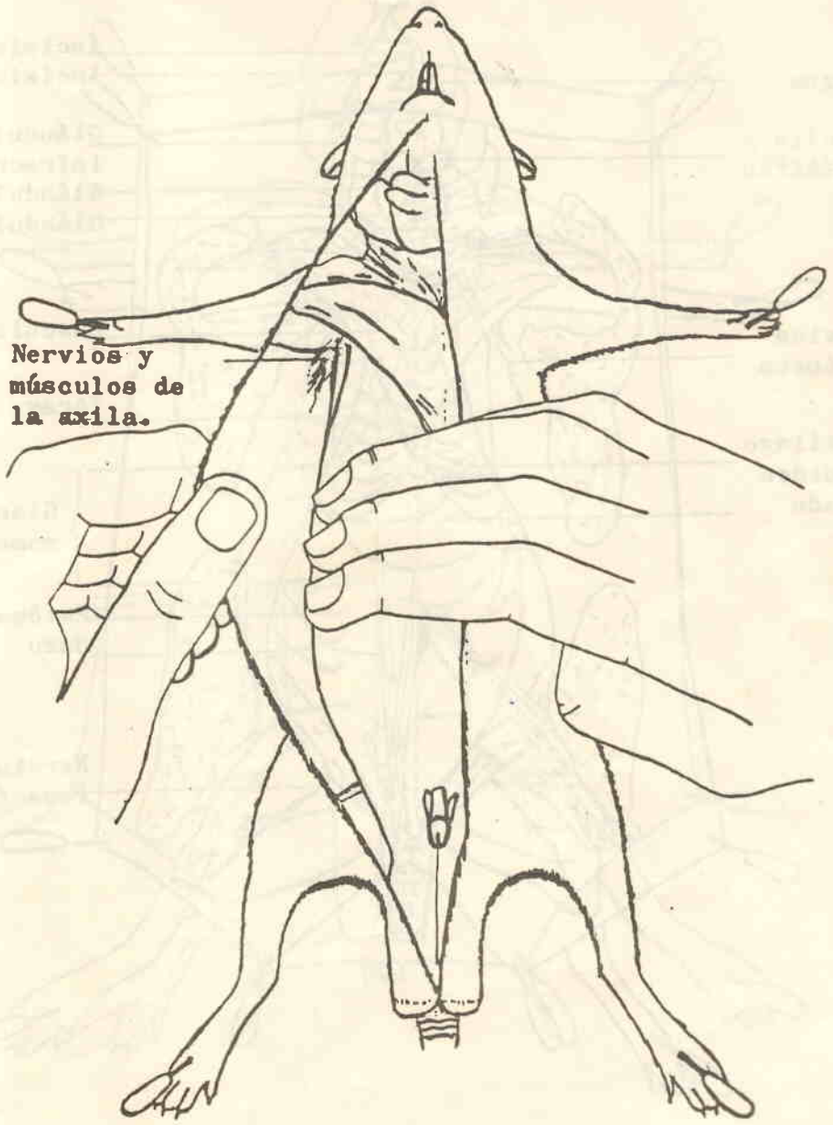


Fig. 10.- Separación de la piel del plano muscular.

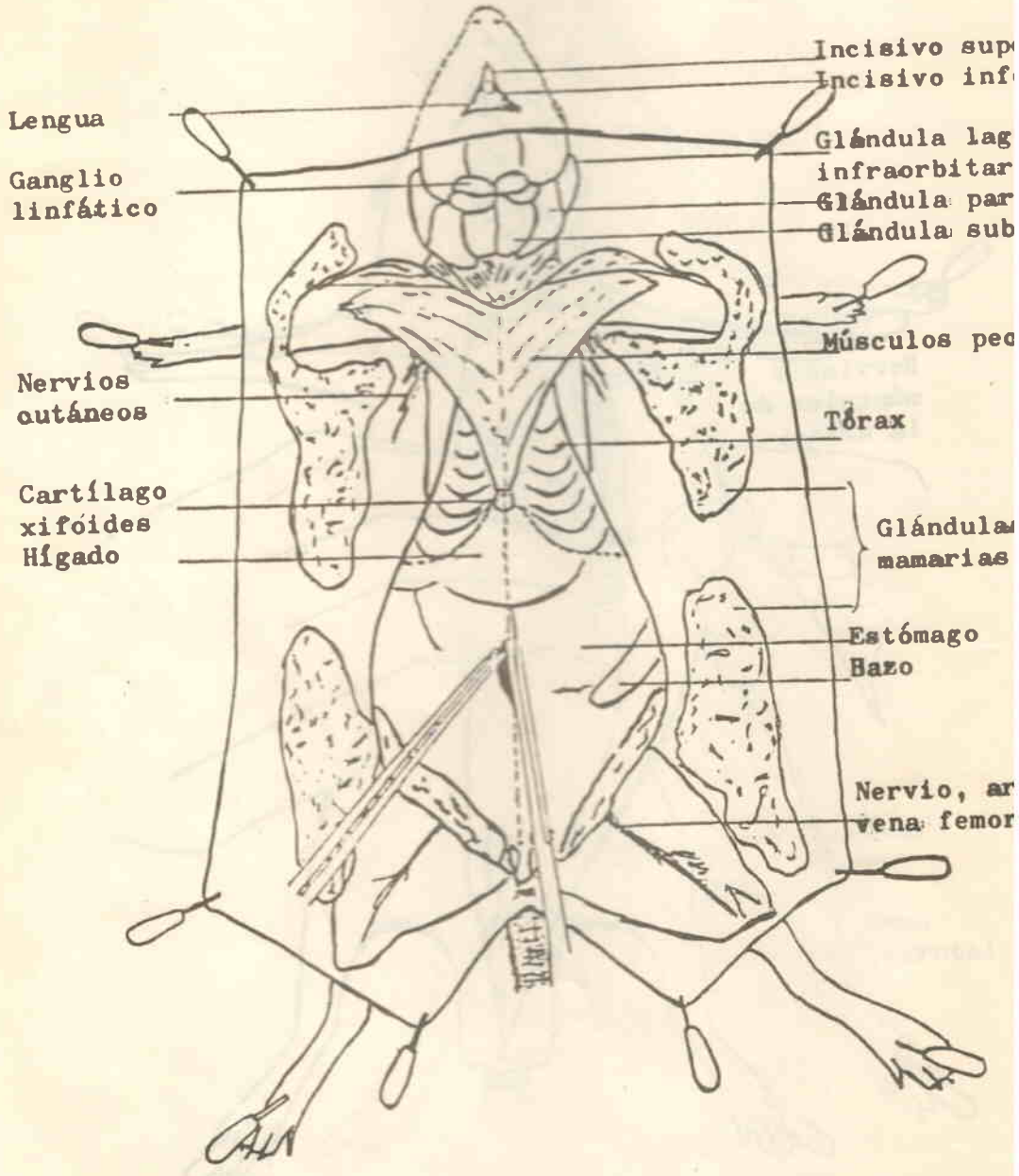


Fig.11.- Estire la piel y sujétela tal como se indica. Identifique las partes señaladas. corte siguiendo las líneas de trazos.

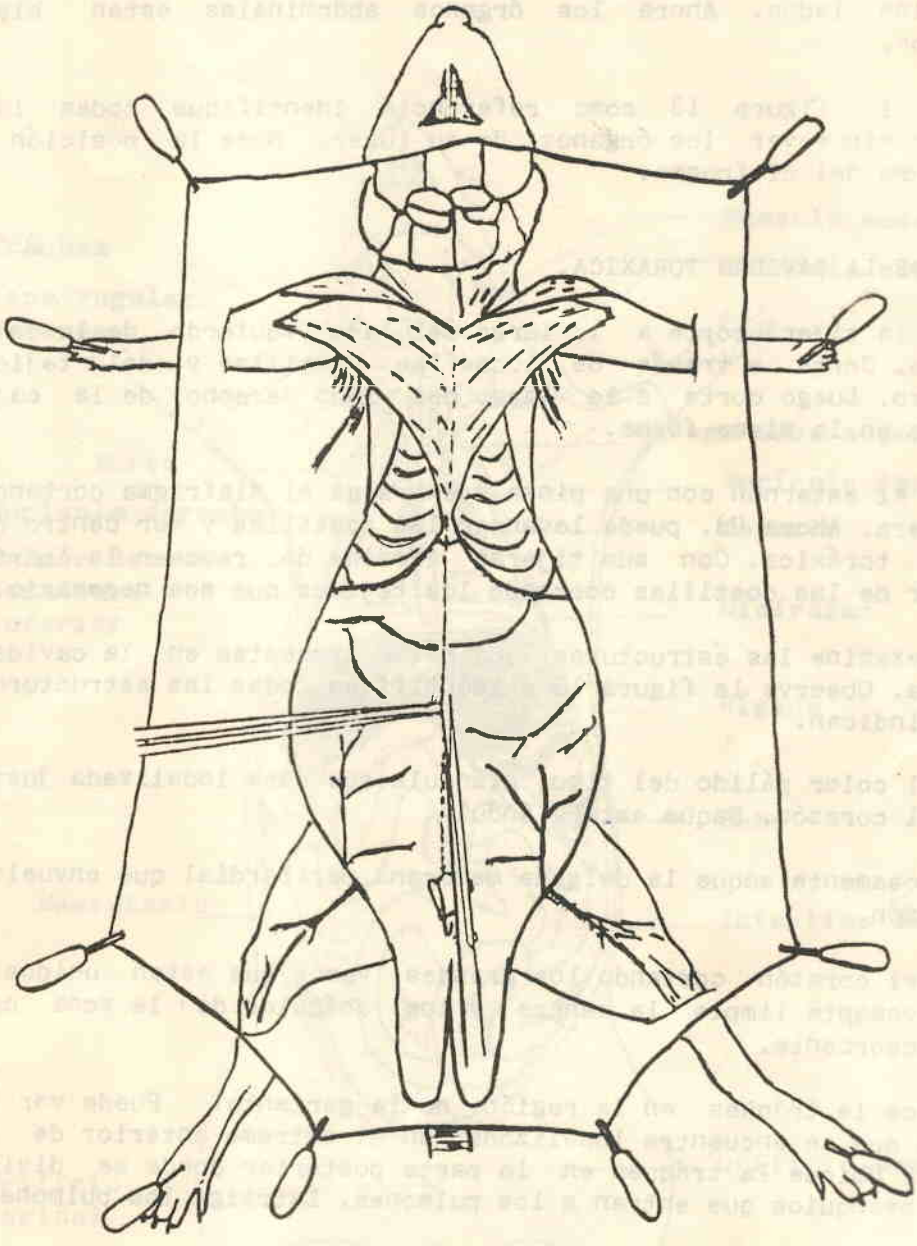


Fig.12.- Apertura de la cavidad abdominal.

la izquierda y el otro hacia la derecha. Clave la pared abdominal hacia los lados. Ahora los órganos abdominales estan bien expuestos.

Usando la figura 13 como referencia identifique todas las áreas sin mover los órganos de su lugar. Note la posición y estructura del diafragma.

EXAMEN DE LA CAVIDAD TORAXICA.

-Usando la tijera corte a lo largo del lado izquierdo de la caja toráxica. Corte a través de todas las costillas y del tejido conectivo. Luego corte a lo largo del lado derecho de la caja toráxica en la misma forma.

-Afirme el esternón con una pinza y extraiga el diafragma cortando con tijera. Ahora Ud. puede levantar las costillas y ver dentro de la caja toráxica. Con sus tijeras termine de remover la parte superior de las costillas cortando los tejidos que sea necesario.

-Ahora examine las estructuras que estan expuestas en la cavidad toráxica. Observe la figura 13 e identifique todas las estructuras que se indican.

-Note el color pálido del timo, glándula que esta localizada justo sobre el corazón. Saque esta glándula.

-Cuidadosamente saque la delgada membrana pericardial que envuelve el corazón.

-Saque el corazón cortando los grandes vasos que estan unidos a él. Suavemente limpie la sangre y los coágulos de la zona con papel absorbente.

-Localice la tráquea en la región de la garganta. Puede ver la laringe que se encuentra localizada en el extremo anterior de la tráquea? Ubique la tráquea en la parte posterior donde se divide en dos bronquios que entran a los pulmones. Extraiga los pulmones.

-Busque debajo de la tráquea para localizar el esófago, tubo blando que va desde la cavidad oral al estómago. Figura 14.

EXAMEN DE LOS ORGANOS ABDOMINALES.

-Levante los lóbulos café rojizos del hígado y examínelos. Note que la rata carece de vesícula biliar, cuidadosamente extraiga el hígado y lave completamente la cavidad abdominal. Ahora se ven claramente el estómago y los intestinos. Figura 14.

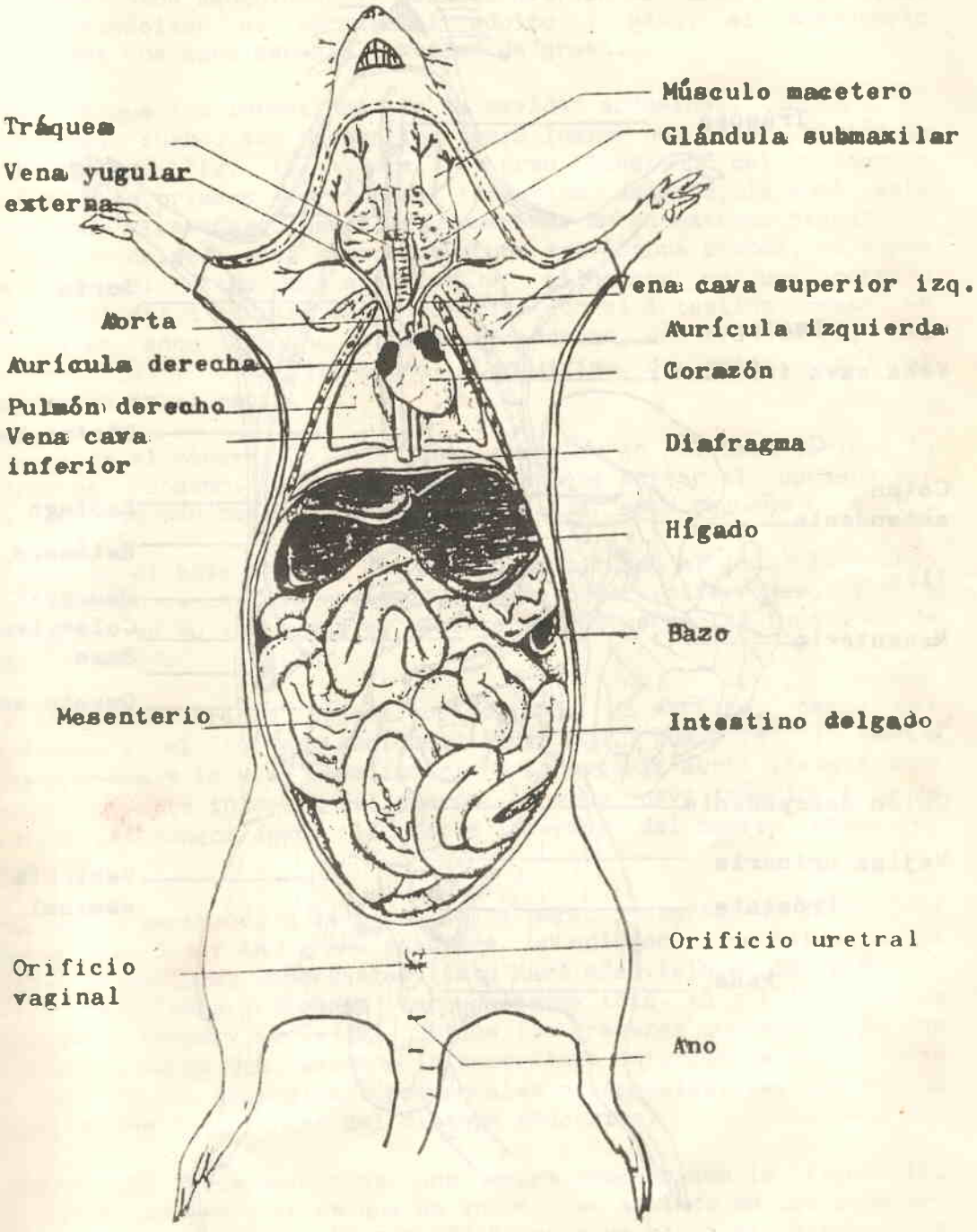


Fig. 13.- Vísceras en rata hembra.

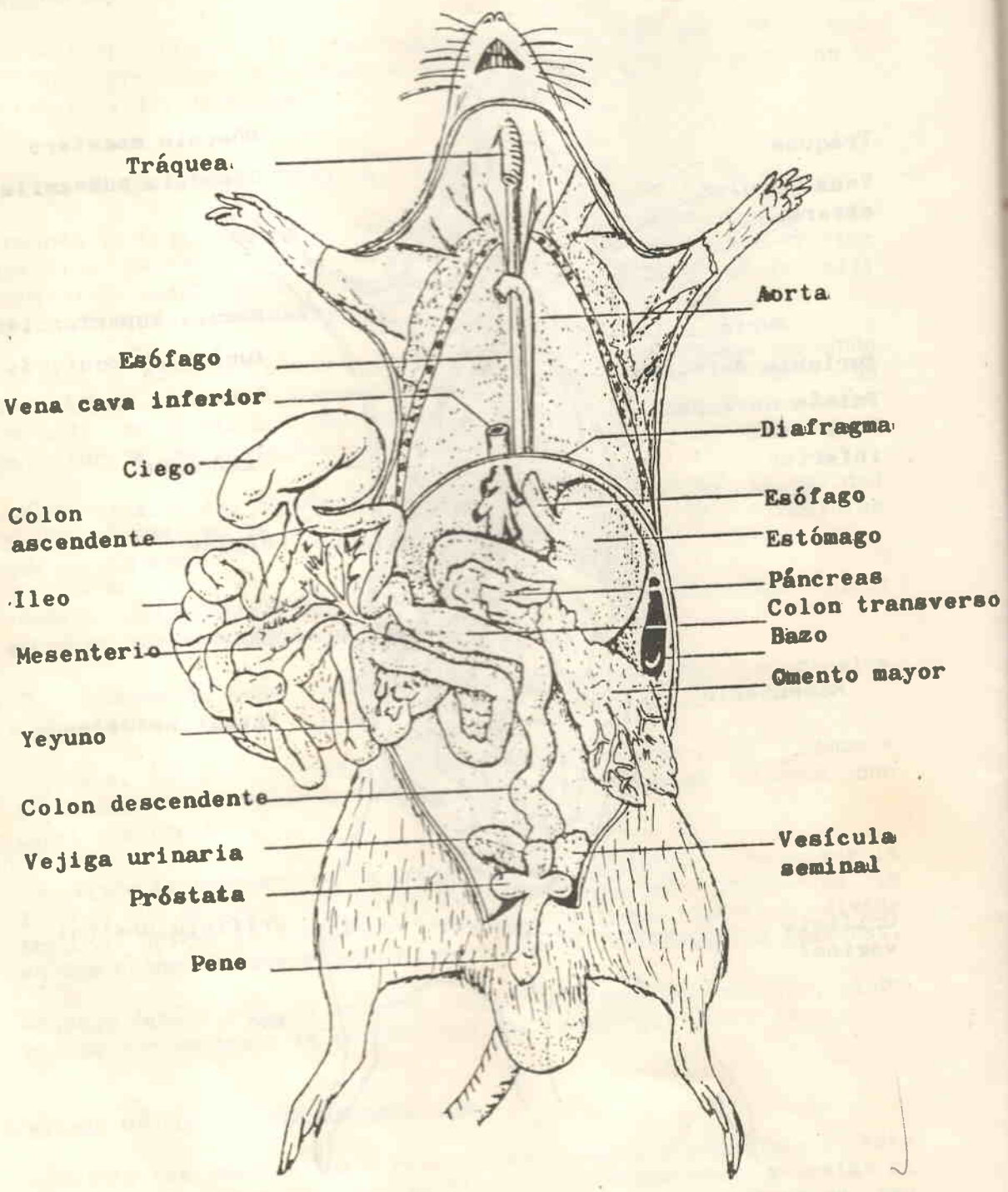


Fig. 14.- Vísceras de una rata macho. (Corazón, pulmones, timo e higado extraídos).

-Levante una porción de los intestinos e identifique el mesenterio membranoso, el cual mantiene a los intestinos en su lugar y contiene vasos sanguíneos y nervios que van al tracto digestivo. Si su espécimen es un animal adulto y sano, el mesenterio contendra una considerable cantidad de grasa.

-Ahora saque los intestinos de la cavidad abdominal, cortando el mesenterio cuando sea necesario, para lograr una mejor visión de los órganos (Fig. 14). Note la gran longitud del intestino delgado. La primera porción del intestino delgado, la cual está conectada al estómago, se llama duodeno. En su extremo distal el intestino delgado está conectado a una estructura grande, en forma de saco, el ciego. el apéndice en el hombre es una porción vestigial del ciego. El ciego comunica con el intestino grueso, en el que se encuentra una porción ascendente, una transversa, una descendente y otra sigmoídea. La última de estas porciones desemboca en el recto.

-Localice el páncreas el cual esta embebido en el mesenterio a lo largo del duodeno. Las enzimas pancreáticas entran al duodeno por el conducto pancreático, trate de localizar este pequeño conducto.

-Localice el bazo el cual se encuentra situado al lado izquierdo del abdomen cerca del estómago. Es de color café rojizo y está mantenido en su lugar por el mesenterio. Recuerda las funciones de este órgano?.

-Extráiga el tracto digestivo cortando el esófago, cerca del estómago y el colon sigmoídeo. Ahora Ud. puede ver la aorta descendente y la vena cava inferior. La arteria aorta lleva sangre hacia la parte inferior del cuerpo. La vena cava inferior trae de vuelta la sangre desde la parte inferior del cuerpo hacia el corazón.

-Saque el peritoneo y la grasa de la pared posterior de la cavidad abdominal. Sacar la grasa requiere un cuidado especial para no dañar estructuras importantes. Esto hará más visibles los riñones, vasos sanguíneos y órganos reproductores (Fig. 15 y 16). Localice los dos riñones y la vejiga. Ubique los uréteres que van desde los riñones a la vejiga. Examine la superficie anterior de los riñones y localice las glándulas suprarrenales o adrenales, las cuales son componentes importantes del sistema endocrino.

-Hembra; Si su espécimen es una hembra compare con la figura 15. Localice los dos ovarios que se encuentran al lado de los riñones. Desde cada ovario, una trompa de Falopio va hacia el útero. Note que el útero tiene forma de Y y llega hasta la vagina. Si su espécimen esta gestando, abra el útero y examine los embriones. Note que ellos estan unidos a la pared del útero.

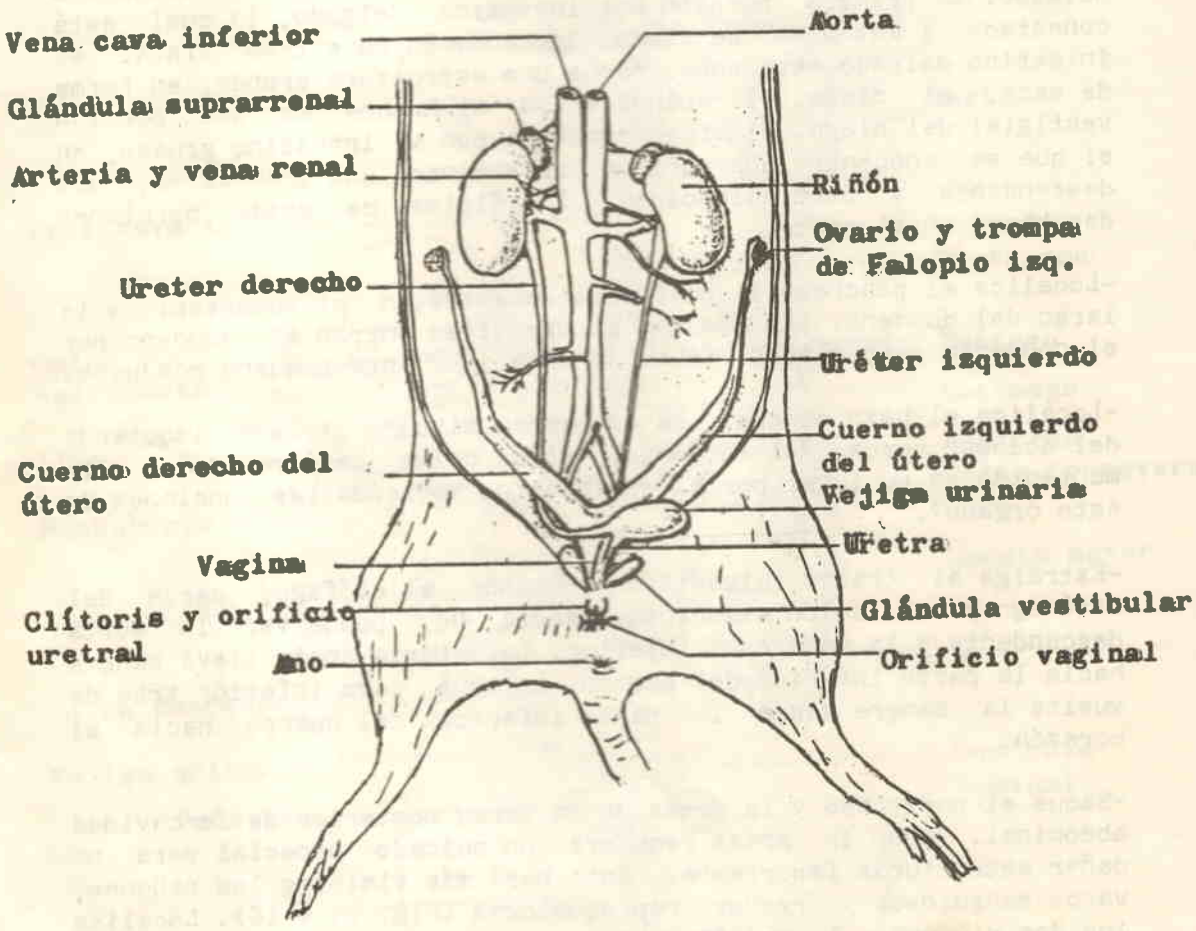


Fig.15.- Cavidad abdominal de rata hembra. (Intestinos e hígado extraídos).

-Macho: Si su espécimen es un macho compare con la figura 16. La uretra se encuentra en el pene. Cuidadosamente extraiga el testículo, el epidídimo y el vaso deferente de un lado del escroto y si es posible ubique el vaso deferente hasta la vejiga donde penetra en la próstata para unise a la uretra.

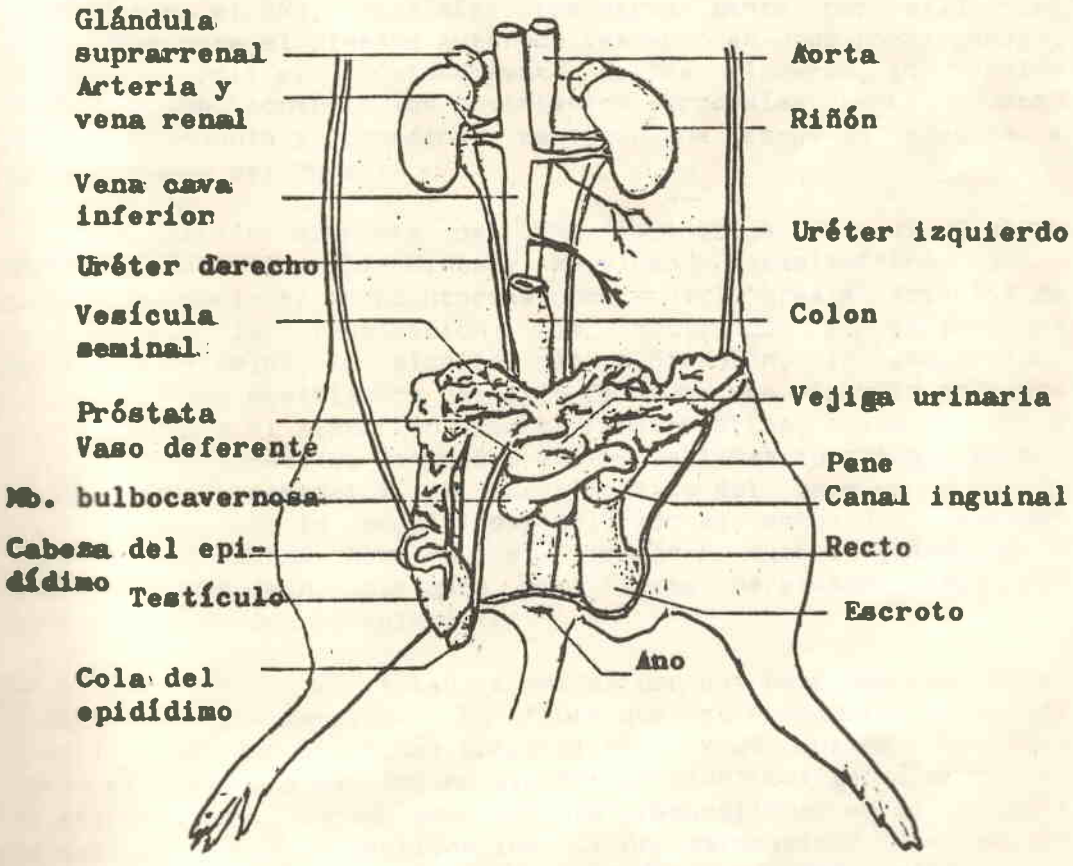


Fig.16.- Cavidad abdominal de una rata macho. (Intestinos e hígados extraídos).

-Separe el epidídimo del testículo y retire la grasa. El epidídimo está formado por tres partes que se denominan cabeza, cuerpo y cola. Haga un corte longitudinal por testículo y observe los túbulos seminíferos.(Fig. 16a).

SISTEMA NERVIOSO AUTONOMO

OBJETIVO.

Al finalizar esta sesión de laboratorio, el alumno será capaz de ubicar el nervio vago y estimularlo eléctricamente. Además reconocerá los efectos de esta estimulación sobre la respiración, la frecuencia cardíaca y la secreción gástrica.

CARACTERISTICAS DEL SISTEMA NERVIOSO AUTONOMO.

El Sistema Nervioso Autónomo (SNA) es una parte del Sistema Nervioso Central (SNC) y no una entidad diferente como el término puede sugerir. Es un complejo de neuronas eferentes que inervan las vísceras. Aún cuando también se incluyen algunos nervios aferentes en el SNA, estos aferentes sirven tanto para el Sistema Motor como para el Sistema Autónomo (excepto en unos pocos casos). El SNA controla el funcionamiento de las vísceras, la porción motora del SNC controla los movimientos corporales, ambos actuando en forma conjunta y coordinada permiten una respuesta adecuada a los estímulos del medio.

La porción eferente del SNA se divide en: a) Sistema Nervioso Simpático b) Sistema Nervioso Parasimpático, ambos controlan funciones involuntarias como son: la presión arterial de la sangre, la respiración, la motilidad y secreciones gastrointestinales, la micción, la sudoración, la temperatura corporal y los movimientos del iris del ojo que rigen la apertura pupilar. Tanto el Simpático como el Parasimpático, salen del SNC a niveles diferentes: el Simpático de las regiones toráxica y lumbar de la médula espinal y el Parasimpático del cerebro y de la porción sacra de la médula espinal. Aunque estos dos sistemas salen a diferentes niveles, el corazón y muchas glándulas y músculos lisos son inervados por fibras nerviosas tanto del Simpático como del Parasimpático.

Las vías del SNA estan formadas por dos neuronas que hacen sinapsis en los ganglios. La fibra que se encuentra entre el ganglio y el SNC se llama preganglionar y la que se encuentra entre el ganglio y el órgano efector se llama postganglionar. El neurotransmisor liberado por la fibra preganglionar en el ganglio de ambos sistemas es acetilcolina. El neurotransmisor liberado por la fibra postganglionar en el Parasimpático es acetilcolina y en el Simpático es noradrenalina, excepto en las fibras que van a las glándulas sudoríparas y las que van a los músculos de los vasos sanguíneos esqueléticos, donde provocan vasodilatación, que es acetilcolina. La ubicación del ganglio es diferente en el Simpático y en el Parasimpático. (Fig.17).

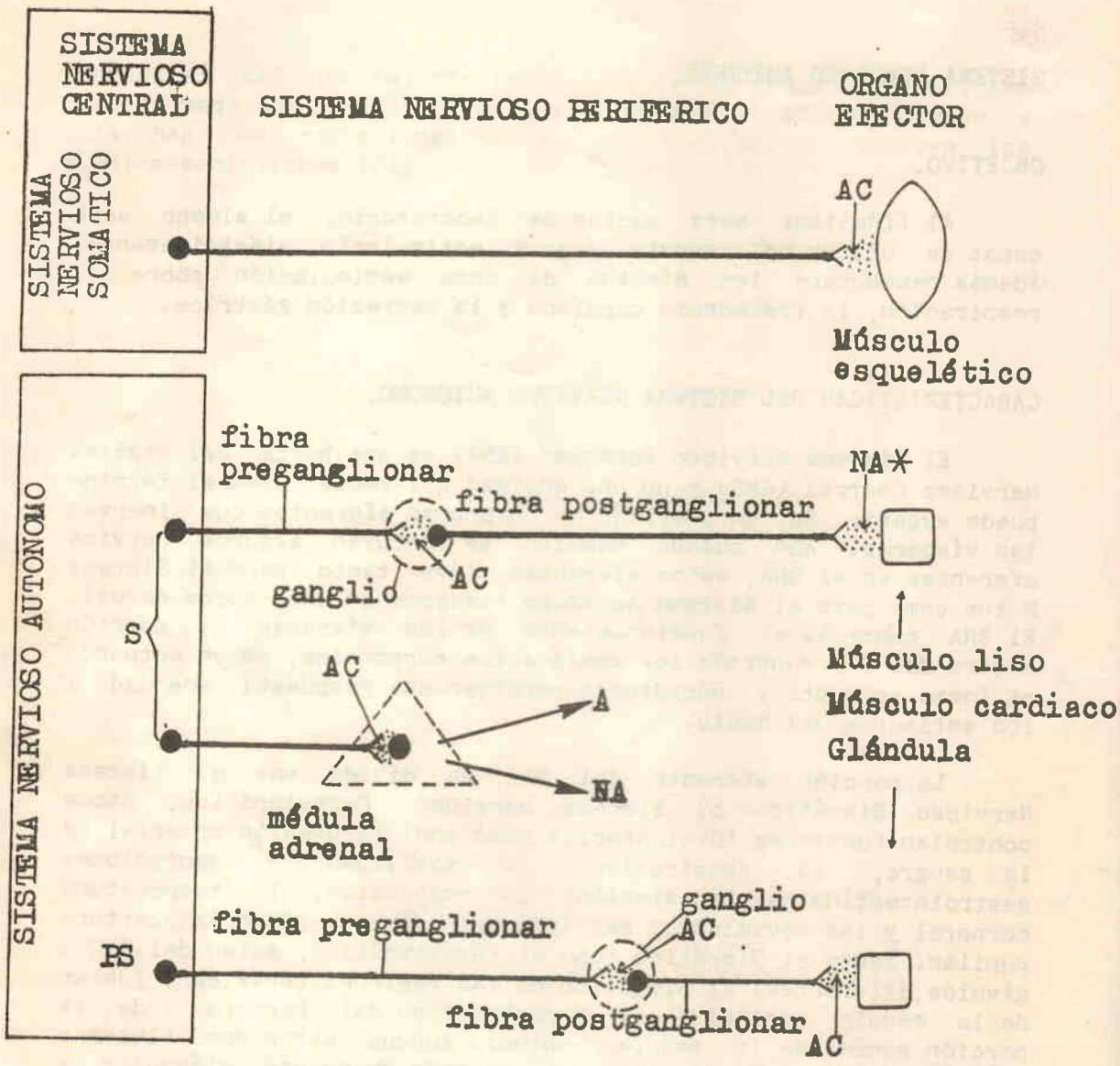


Fig.17.- Divisiones eferentes del Sistema Nervioso Periférico.

AC= Acetilcolina
NA= Noradrenalina
A= Adrenalina
S= Simpático
PS= Parasimpático
* Excepto en glándulas sudoríparas y vasos sanguíneos del músculo esquelético, donde provocan vasodilatación.

El sistema Simpático es muy activo en los estados de excitación emocional, participa en las situaciones de emergencia. Su actividad en estas condiciones resulta incrementada gracias a la descarga de catecolaminas por la médula adrenal.

El sistema Parasimpático tiene efectos contrarios, y el aumento de la actividad Parasimpática durante el sueño es el causante de cambios tales como la lentificacion del corazón.

El Parasimpático interviene en los mecanismos "vaciadores" del cuerpo. Estimula la progresión del alimento a lo largo del tracto digestivo, la defecación y la micción.

La actividad Parasimpática está restringida al tronco y a la cabeza; no llegan fibras parasimpáticas a las extremidades.

1.- INFLUENCIA DE LA ESTIMULACION DEL VAGO SOBRE LA RESPIRACION.

EQUIPO.

Rata
Anestésico
Hilo
Material quirúrgico
Estimulador eléctrico

PROCEDIMIENTO.

- Anestesie su animal y colóquelo en la tabla de disección en posición decúbito dorsal.

- Depile toda la zona del cuello, corte la piel del cuello en sentido longitudinal, por la línea media.

- Despeje músculos hasta ubicar los paquetes vásculo-nerviosos (carótida y nervio vago), que corren a ambos lados de la tráquea.

- La técnica de visualización del vago es idéntica a la utilizada para realizar una traqueotomía.

- No abra el tórax ni lo perfore pués malogrará la actividad.

- Utilice para despejar los músculos sólo pinzas pués si rompe vasos sanguineos se teñirán los nervios lo que dificultará su localización.

- Estimule un nervio vago, observe el tórax.

- Estimule los dos vagos del cuello. Observe, anote e interprete.

2.- EFECTO DE ESTIMULACION VAGAL SOBRE EL CORAZON.

MATERIALES

RATA y preparada
Suero fisiológico
Estimulador eléctrico
Material quirúrgico
Bulbo de insuflación

PROCEDIMIENTO.

- Canule la tráquea y empiece a dar respiración artificial.

- Abra el tórax sin dejar de dar respiración artificial.

- Estimule eléctricamente el vago. Qué observa?

3.- EFECTO DE LA ESTIMULACION VAGAL SOBRE LA SECRECION GASTRICA.

MATERIALES.

Rata en ayunas por 24 horas
Nembutal
Instrumental quirúrgico
Suero fisiológico a 37 grados Celcius
Papel pH

PROCEDIMIENTO.

- Anestesie la rata con pentobarbital sódico y colóquela sobre la tabla de disección en posición decúbito dorsal.

- Haga una incisión en la línea media abdominal con el objeto de exteriorizar el estómago.

- Ubique los esfínteres cárdias y píloro. Pase un hilo bajo cada uno de ellos.

- A medio centímetro por fuera de cada uno de ellos haga una incisión para introducir una cánula. Atelas fuertemente.

- Lave el interior del estómago introduciendo suero fisiológico

temperado hasta que la solución salga limpia.

- Espere 30 minutos manteniendo la rata temperada y las heridas cubiertas con algodón embebido en suero fisiológico tibio.

- Haga pasar por el estómago 5 ml. de suero fisiológico tibio. Determine el pH de la solución recogida.

- Espere otros 30 minutos.

- Ate y corte el vago. Estimule el extremo distal por períodos de un segundo cada dos segundos unas diez veces.

- Lave otra vez el estómago con solución fisiológica y determine el pH de este contenido gástrico. Qué observa?. Anote e interprete.

GLANDULAS SALIVALES.

OBJETIVO:

Al término de esta sesión de laboratorio el alumno deberá ser capaz de:

-Obtener saliva de la glándula submandibular de rata "in vivo".
-Determinar el volumen y el flujo de la secreción salival.
-Determinar la concentración y la cantidad total de sodio, potasio y proteínas en la saliva secretada y en la glándula.

INTRODUCCION:

La glándula submandibular es exocrina, de origen epitelial y está formada por acinos y conductos. Los acinos estan formados por células seromucosas y mioepiteliales que producen y liberan los componentes principales de la secreción glandular.(Fig.18). Los conductos son de varios tipos. (Fig.19).

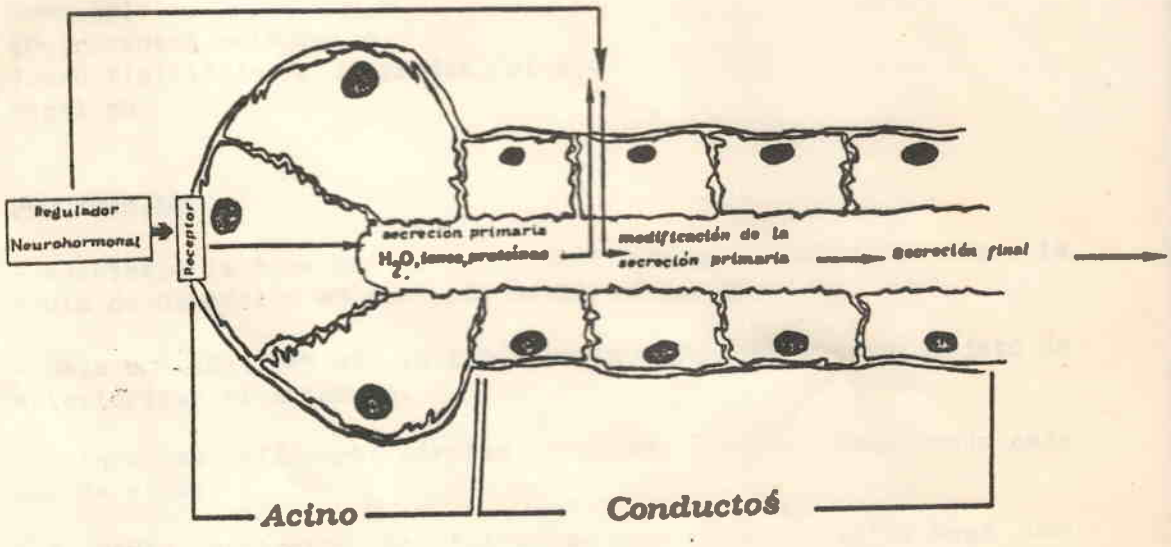


Fig.18.- Estructura y función en glándula submandibular de rata.

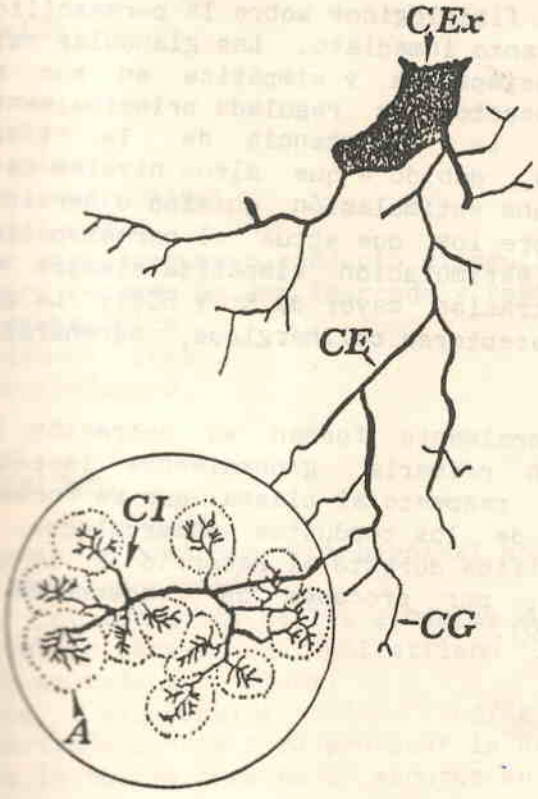


Fig. 19.- Diagrama de glándula submandibular de rata inyectada en forma retrógrada con tinta china. El círculo tiene un aumento de 200 x, el resto 100 x.
A = Acino
CI = Conducto intercalado
CG = Conducto granular
CE = Conducto estriado
CEx = Conducto excretor

(Tamarin y Sreebny, 1965)

Para que se inicie la secreción salival se necesita de un estímulo que provoque un cambio en la permeabilidad de las membranas celulares de la glándula, con la consecuente entrada de algunos iónes (Na, Ca) y la salida de otros (K). Esto activa la Bomba Alfasa y aumenta la concentración intracelular de AMP cíclico.

Las glándulas salivales no son eléctricamente excitables y el efecto de los estimulantes fisiológicos sobre la permeabilidad de la membrana no es por lo tanto inmediato. Las glándulas salivales presentan inervación parasimpática y simpática en sus células acinales, la actividad secretora es regulada principalmente por nervios parasimpáticos.. La importancia de la inervación parasimpática se visualiza, debido a que altos niveles de flujo salival se obtienen con una estimulación química o nerviosa que active los receptores sobre los que actúa el parasimpático. La respuesta salival a la estimulación simpática siempre es más pequeña y con una concentración mayor de K y HCO3. La glándula salival tiene numerosos receptores colinérgicos, adrenérgicos α y adrenergicos β.

Las glándulas generalmente forman su secreción en dos etapas: a)Una secreción primaria generalmente isotónica o levemente hipertónica con respecto al plasma que se forma en la región de los acinos y de los conductos intercalados. b)Esta secreción primaria se modifica durante el recorrido a lo largo de los distintos conductos, por procesos de reabsorción y de secreción de iones.(Fig.20).

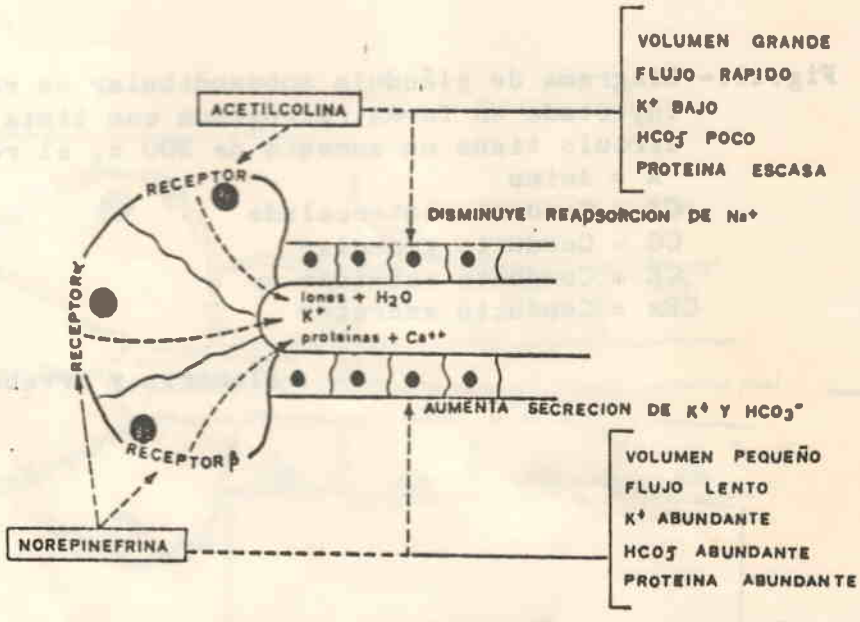


Fig.20.- Efecto de la inervación autonómica en el mecanismo secretor de la glándula submandibular de rata.

OBTENCION DE SALIVA "IN VIVO"

MATERIALES:

Rata
Anestésico
Pilocarpina
Material quirúrgico
Jeringa
Cateter para tráquea y conducto glandular
Tubo para recoger saliva (marcado y pesado)
Lupa esteoscópica
Fotómetro de llama
Espectrofotómetro.

PROCEDIMIENTO:

-Anestesie la rata con pentobarbital sódico (3 mg/100 g).
-Haga una traqueotomía.
-Ubique los conductos de las glndulas submandibulares e introduzca en ellos un cateter de polietileno (Clay Adams PE 10) con el extremo aguzado a la llama.
-Inyecte pilocarpina (10 mg/Kg de peso corporal) intraperitonealmente para provocar la secreción salival.
-Reciba la saliva durante 20 minutos en tubos previamente marcados y pesados.
-Extraiga la glándula, sepárela de la sublingual adyacente y homogenícela en 5 ml de agua destilada enfriada en hielo. Centifugue 10 minutos a 2000 R.P.M. y a 0°C.

DETERMINACIONES EN SALIVA

-Pese el tubo con saliva y por diferencia determine la cantidad de saliva secretada.
-Determine el flujo de la secreción con la siguiente formula.

$$\text{Flujo} = \frac{\text{Saliva en mg} \times 1000}{\text{Tiempo en min.} \times \text{peso gland en mg.}}$$

Medición de Na y K en saliva:

-Se utiliza fotómetro de llama.
-Con solución estandard de 15 mg/l ajuste el fotómetro a 100.
-Con agua destilada ajuste a cero. Haga una curva de calibración diluyendo el estandar 2 y 4 veces. Anote el resultado en cada caso.

-Tome 25 ul de saliva y agregue 5 ml de agua destilada. Anote el dato obtenido en el fotómetro de llama.
-Para determinar la concentración de Na o de K utilice la fórmula:

$$Cx = \frac{Ix}{Is} \cdot Cs \cdot 201$$

donde Cx= Concentración del elemento (Na o K) en la saliva.
Ix= Intensidad de emisión de la saliva diluida.
Is= Intensidad de emisión del estandar.
Cs= Concentración del estandar.

Medición de proteínas.

Reactivos:

1- Estandar de proteína (1 mg proteína/ml)
2- Solución A: Na_2CO_3 (20 g/l); NaOH (4 g/l); tartrato de Na y K (0,2 g/l).
3- Solución B: $CuSO_4.5H_2O$ (0,5 g/100 ml)
4- Solución C: una parte de B y 50 partes de A (Se mezclan al momento de usar).
5- Reactivo Folin diluido en agua destilada (1:1).

Método de Lowry para determinación de proteínas.

9

Tubo N	Blanco	1	2	3	4	5	6	7
Estandar (ul)	-	5	10	20	50	75	100	-
Problema (ul)	-	-	-	-	-	-	-	25
Agua d. (ul)	1000	995	990	980	950	925	900	975
Solucion C (ml) Agite y espere 5 minutos.	5	5	5	5	5	5	5	5
Folin 1;1 (ml) Espere 20 min a temperatura ambiente.	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

- Lea en espectrofotómetro a 660 nm de longitud de onda
- Haga una curva de calibración y determine la cantidad de proteína existente en la alícuota.
- La cantidad total de proteína en la saliva colectada será:

$$\text{Proteína} = \frac{\text{Proteína en alícuota}}{\text{Alícuota en ul.}} \times \text{vol de saliv en ul} = \text{ug.}$$

Determinaciones en homogenizado de glándula.

Se procede igual que con la saliva.
- Para determinar las concentraciones de Na y K agregue a 2 ml de homogenizado 10 ml de agua destilada y lleve al fotómetro de llama.

Utilice la siguiente fórmula:

$$Cx = \frac{Ix}{Is} = Cs \cdot 6$$

- Para determinar la concentración de proteínas use una alícuota de 25 ul del homogenizado.

MEDICION DIRECTA DE LA PRESION ARTERIAL.

OBJETIVOS.

Al término de ésta sesión de laboratorio el alumno será capaz de usar un transductor de presión y de medir la presión arterial en un animal de experimentación por canulación directa antes y después de estimulación vagal y de aplicar drogas.

PRESION SANGUINEA.

La presión sanguínea resulta de la acción de bombeo del corazón en contra de una resistencia periférica variable, dentro de un reservorio elástico. La presión varía de acuerdo al volumen sanguíneo; además, cambia dependiendo de la elasticidad del sistema arterial, la resistencia periférica, y el gasto cardiaco, suponiendo que el volumen de sangre permanezca constante. La importancia del reservorio elástico es que parte de la energía de la contracción cardiaca es almacenada como fuerza elástica y parte de la sangre expulsada durante una sístole es retenida bajo presión en el reservorio arterial expandido. Durante la diástole, esta sangre es impulsada a través de las arterias para mantener el flujo capilar durante todo el ciclo cardiaco. Debido a esto, la presión en las arterias será máxima durante la sístole pero no caerá a cero durante la diástole debido al encogimiento elástico de los vasos. La magnitud en que ésta caerá depende de la diferencia entre la restricción del flujo de salida debido a la resistencia periférica y la tasa y volumen de sangre bombeada dentro del sistema arterial. El término del latido queda señalado por una muesca en el registro de presión. Esta muesca se denomina onda dicrótica y es un cambio momentáneo de presión debido al cierre repentino de la válvula aórtica.

Fisiológicamente, la presión sanguínea se regula a través de la acción del sistema nervioso autónomo. La activación de la división parasimpática reduce la presión sanguínea debido a que disminuye la frecuencia cardiaca y aminora la resistencia periférica. Por otro lado, la activación de la división simpática eleva la presión sanguínea debido a que se incrementa la frecuencia cardiaca y aumenta la resistencia periférica. Existen otros factores que regulan la presión sanguínea (humorales) pero en general el sistema nervioso autónomo es el factor más importante en la presión sanguínea.

Un control importante sobre la presión sanguínea es mediado en la médula por los senos carotídeos y los reflejos relacionados. Impulsos aferentes desde los barorreceptores en los senos carotídeos y el arco aórtico contínuamente envían impulsos vía nervios craneales a la médula. Estos impulsos, después de ser

integrados, son enviados a través de las ramas cardiacas del vago y los nervios simpáticos. La presión mecánica ejercida sobre los senos carotídeos imita un aumento de la presión;ésta información es enviada hacia la médula , por lo tanto, el vago es activado y el corazón disminuye su frecuencia mientras el tono simpático se inhibe centralmente.La frecuencia cardiaca puede disminuírse mediante estimulación directa del vago. Si la intensidad del estímulo es suficientemente elevada, se puede llegar a provocar un paro cardiaco. Cuando ésto ocurre la presión sanguínea comienza a caer. La tasa de declinación de la presión sanguínea refleja la resistencia periférica. Por otro lado, si la frecuencia cardiaca disminuye, la fuerza de cada contracción será mayor debido a un llenado más adecuado que produce un estiramiento del músculo cardiaco (Ley de Starling). Cuando la frecuencia cardiaca es menor, la onda dicrótica es mas claramente visible.

Ya que el sistema parasimpático es colinérgico, su activación puede lograrse mediante drogas que inhiban la colinesterasa o incrementen la producción de acetilcolina. La prostigmina, un veneno colinesterásico, incrementará el tono vagal provocando una disminución de la frecuencia cardiaca. Se observa un efecto similar cuando los niveles de acetilcolina estan aumentados.

La adrenalina y la noradrenalina, aunque producen un aumento de la presion sanguínea, tienen distintos mecanismos de acción.

La adrenalina muestra efecto tanto excitatorio como inhibitorio dependiendo de la concentración y del tipo de tejido. De todas maneras, la acción más relevante de la adrenalina ocurre directamente sobre el músculo cardiaco. La frecuencia cardiaca aumenta,hay un incremento en la fuerza de cada contracción, todo el cíclo cardiaco se acorta y usualmente se presentan extrasístoles ventriculares. La posterior disminución de la frecuencia cardiaca y consecuente caida de la presión sanguínea se deben a la respuesta refleja iniciada en los senos carotídeos y en el arco aórtico.

Otra respuesta a la inyección de adrenalina es la contracción de las arteriolas de la piel y mucosa. Los bronquiolos se dilatan y a menudo ocurre un período de apnea (apnea adrenalínica), el que también afecta la presión sanguínea del sujeto. El tono del tracto gastrointestinal se encuentra disminuído y los esfíncteres pilórico e ileocecal se contraen, retardando la digestión.

La noradrenalina es principalmente una sustancia presora periférica que tiene muy pocos efectos directos sobre el corazón. Tanto la presión sistólica como diastólica estan elevadas debido a que se produce un aumento de la resistencia periférica. La disminución de la frecuencia cardiaca a menudo se debe a los

reflejos del arco aórtico y los senos carotídeos.

Otras drogas que tienen como su principal sitio de acción el nivel arteriolar y capilar son el nitrito amilo, la histamina y la pitresina. El nitrito amilo es un líquido aromático volátil el cual cuando es inhalado reduce la presión sanguínea. La histamina también disminuve la presión sanguínea, mientras que la pitresina la eleva por largos períodos.

EQUIPO.

Polígrafo
Etimulador eléctrico
Transductor de presión
Llave de tres pasos
Suero fisiológico con anticoagulante
Jeringas de 10 y 1 cc
Tubos de polietileno para tráquea, arteria y vena
Animal de experimentación (perro, gato o rata)
Adrenalina 0.2 ug/Kg
Acetilcolina 5 ug/Kg

PROCEDIMIENTO. (Fig.21).

1.- Montaje del transductor de presión.

a) Llene la camarilla del transductor con suero fisiológico evitando la formación de burbujas.

b) Bloquee una de las entradas de la camarilla del transductor y conecte una llave de 3 pasos a la otra entrada.

c) Conecte un cateter de unos 10 cm. a uno de los pasos de la llave y una jeringa de 10 ml. con suero heparinizado al otro.

d) Inmovilice el sistema sujetando el transductor a un soporte universal; debe quedar a la misma altura que el animal de experimentación

e) Conecte el transductor al módulo IC-MP del polígrafo y abra la llave de paso.

2.- Calibración del polígrafo Gilson 5/6 H.

a) Encienda el polígrafo mediante el interruptor POWER y el control STANDBY/RUN en la posición STANDBY. Espere unos 5 minutos antes de comenzar la calibración.

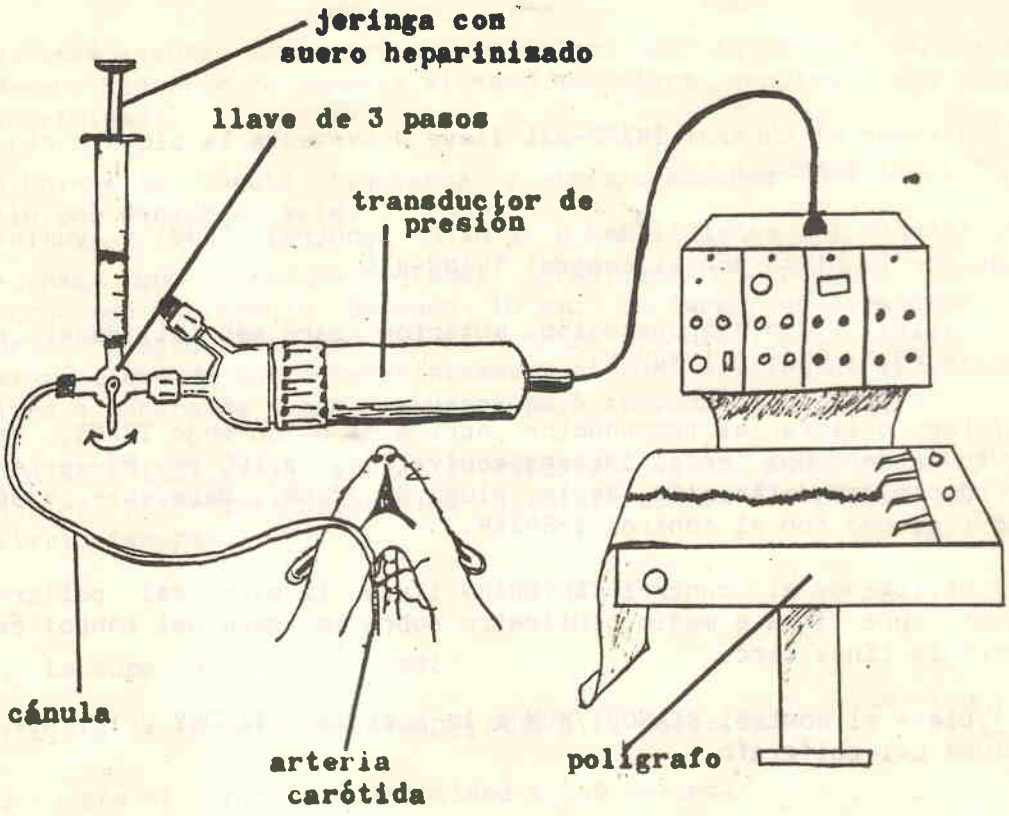


Fig.21.- Montaje para la medición directa de la presión arterial.

b) Ubique el control MODE en la posición TRANS.

c) Ajuste el control SENS en la menor sensibilidad (2 MV/CM).

d) Gire el VERNIER completamente en contra del sentido de los punteros del reloj.

e) Ajuste la velocidad del papel a 0.25 MM/SEC y lleve el control STANDBY/RUN a la posición RUN.

f) Baje la pluma correspondiente al canal del módulo IC-MP y ajuste el control del calor (STYLUS HEAT) hasta que produzca un trazo nítido sobre el papel. Evite quemar el papel.

g) Por medio de la perilla CENTERING lleve la pluma hasta el centro del rango.

h) Gire el VERNIER completamente a favor del sentido de los punteros del reloj.

i) Girando el control TRANS-BAL lleve nuevamente la pluma hasta la mitad del rango.

j) Aumente la sensibilidad a 1 MV/CM (control SENS) y vuelva a centrar la pluma con el control TRANS-BAL.

k) Repita la misma operación anterior para sensibilidades más altas (0.5; 0.2; 0.1 MV/CM).

l) Para calibrar el transductor oprima el boton rojo TRANS, este boton genera una señal interna equivalente a 100 mm Hg que debe producir una deflección de la pluma de 2 cm. Haga este ajuste corrigiendo con el control VERNIER.

m) Utilizando el control CENTERING lleve la pluma del polígrafo hasta una línea a medio centímetro sobre la base del rango: ésta será la línea cero.

n) Lleve el control STANDBY/RUN a la posición STANDBY y levante la pluma del polígrafo.

3.- Canulación de la carótida (Rata albina)

a) Anestesie una rata y fíjela sobre una tabla de disección en posición decúbito dorsal.

b) Utilizando una tijera corte la piel del cuello en sentido longitudinal por la línea media.

c) Aisle la tráquea y practique una traqueotomía.

d) Despeje cuidadosamente los músculos hasta ubicar el paquete vásculo-nervioso (carótida y nervio vago) del lado derecho de la tráquea.

e) Pase 2 hebras de hilo por debajo de la arteria carótida y una por debajo del vago.

f) Obstruya la circulación carotídea poniendo un clamp metálico en el extremo central de la arteria y con una de las hebras haga una ligadura distal.

g) Llene con suero heparinizado la cánula conectada al transductor, luego haga un pequeño corte en la carótida e introduzca el cateter en dirección al corazón. Una vez que ha quedado bien puesto, asegúrelo con la otra hebra de hilo y suelte el clamp.

h) Si la operación anterior ha sido realizada en forma correcta

Ud. verá avanzar la sangre un par de mm. por la cánula, pero esta no debe llenarse de sangre; si esto ocurriera expúlsela con suero heparinizado.

i) Ubique la yugular izquierda y aíslela pasando dos hebras de hilo por debajo de ella.

j) Haga una ligadura distal, practique un pequeño corte, introduzca una cánula de unos 10 cm. de largo en dirección al corazón y asegúrela con la otra hebra de hilo. Esta cánula que estará llena de suero heparinizado y con un alfiler en el extremo libre a manera de tapón, se usará para introducir sustancias.

OBSERVACION: Si el animal de experimentación es un perro o un gato es preferible hacer las determinaciones de presión en la arteria femoral.

4.- Lectura de presión normal

a) Lleve el interruptor STANDBY/RUN a la posición RUN.

b) *Ajuste el control de velocidad* a 2.5 mm/sec.

c) Baje la pluma del canal correspondiente al módulo IC-MP y regule el control de calor (STYLUS HEAT).

d) Abra la llave de paso desde la cánula al transductor y registre.

e) Con el interruptor MEAN/out en posición MEAN Ud. puede obtener un registro de presión media.

f) Para sus lecturas prefiera el registro de presión sistólica y diastólica; esto es con el interruptor MEAN/OUT en posición OUT. Si ha seguido las instrucciones correctamente Ud. obtendrá un registro como el que se aprecia en la figura 22.

5.- Influencia de la acetilcolina en la presión sanguínea

Mientras registra la presión sanguínea con el papel corriendo a una velocidad de 2.5 mm/sec, inyecte ACETILCOLINA, 5 ug/kg de peso corporal, a través de la cánula puesta en la vena yugular para este efecto. Inmediatamente inyecte suero fisiológico heparinizado para asegurarse de que toda la acetilcolina entre a la circulación.

Observe el efecto sobre la presión sanguínea y la frecuencia cardiaca; compare con la figura 23.

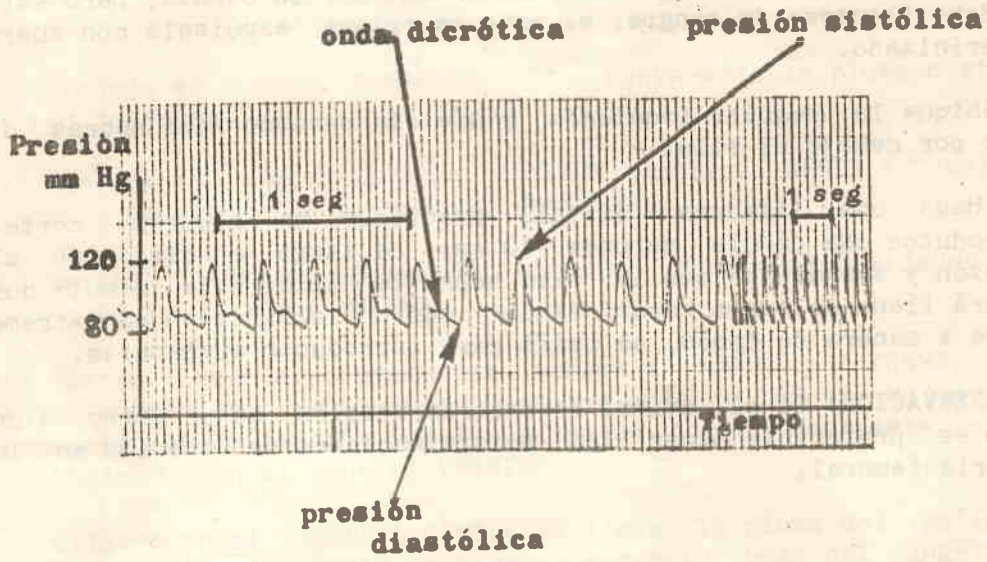


Fig.22.- Registro de presión arterial normal.

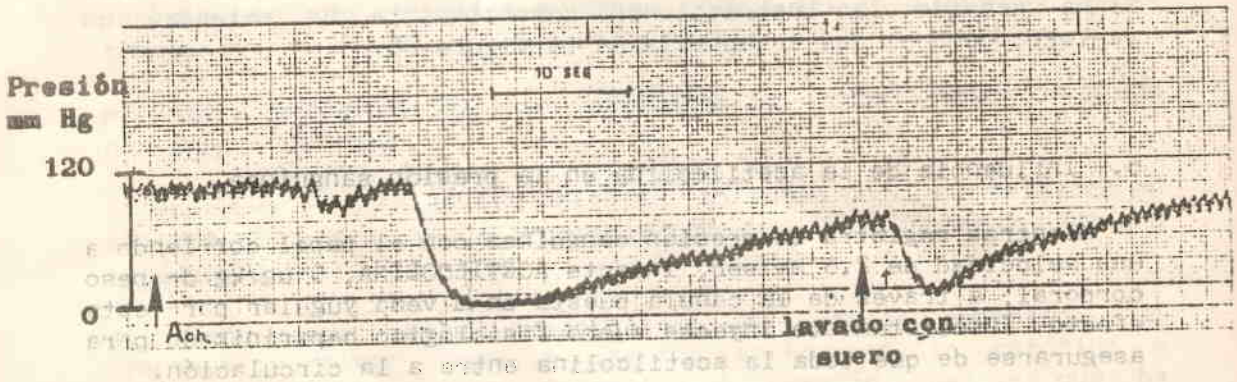


Fig.23.- Efecto de la acetilcolina (Ach) sobre la presión arterial.

6.- Influencia de la adrenalina sobre la presión sanguínea

Una vez que la presión vuelva al valor normal y se estabilice, inyecte ADRENALINA, 0.2 ug/kg de peso corporal, de la misma forma que en la situación anterior. Observe el efecto sobre la presión sanguínea y la frecuencia cardiaca. Compare con la situación anterior. El efecto de la adrenalina sobre la presión arterial se muestra en la figura 24.

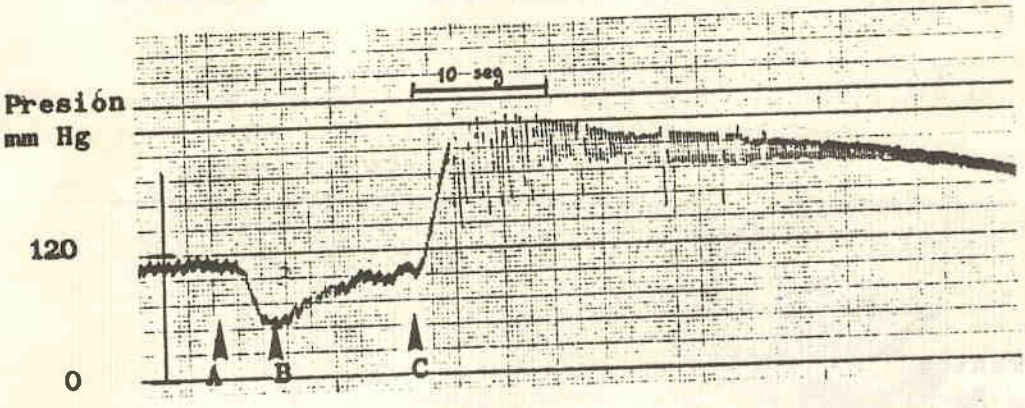


Fig.24.- Efecto de la inyección de Adrenalina sobre la presión arterial normal.

A= Momento de la inyección
B= Caída de la presión debido a trazas de Acetilcolina del experimento anterior.
C= Efecto de la Adrenalina.

7.- Acción del vago sobre el corazón.

Utilizando una velocidad de 5 mm/sec, mientras registra la presión sanguínea, levante cuidadosamente el nervio vago izquierdo y apoye sobre éste el electrodo que proviene del estimulador eléctrico, de manera que sólo toque el nervio. Aplique un pulso de unos 2 volts durante 10 segundos. Note la caida en la presión sanguínea y las características de la primera contracción al producirse el escape vagal (Fig.25). Detenga el estimulador y el papel registrador. Deje que el corazón se recupere y repita la experiencia con el nervio vago del lado dercho. Hay diferencias en los resultados?

Si el animal aún esta vivo seccione ambos nervios vagos y observe el efecto sobre la presión sanguínea y la frecuencia cardiaca. Estimule el cabo distal y el cabo proximal. Cual cabo, al ser estimulado, produce una disminución de la frecuencia cardiaca?

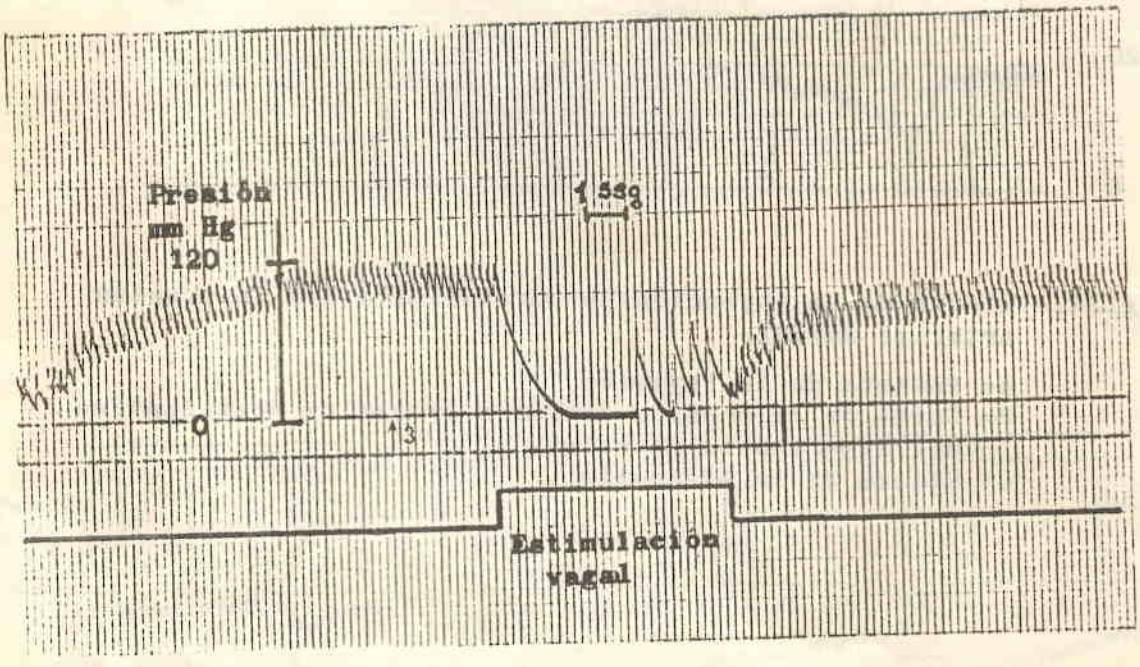


Fig.25.- Efecto de la estimulación vagal sobre la presion arterial.

HEMODINAMICA.

OBJETIVOS.

Al término de esta sesión de laboratorio el alumno deberá ser capaz de determinar la presión sanguínea utilizando un esfigmomanómetro. Reconocerá el dolor isquémico, los efectos de una obstrucción arterial y venosa en la circulación y además, los efectos del ejercicio sobre la presión arterial.

BOMBA CARDIACA

Para contener el medio en un nivel óptimo, la sangre fluve contínuamente hacia los tejidos gracias a la bomba impulsora de sangre que es el corazón.

El corazón es un órgano hueco, de paredes musculares, que al contraerse sobre la sangre que llena sus cavidades la empuja en forma tál que su progresión, orientada por dispositivos valvulares, se hace siempre desde el extremo venoso al extremo arterial. (Fig.26).

S.V.C= Vena cava superior
I.V.C= Vena cava inferior
R.A.= Aurícula derecha
R.V.= Ventrículo derecho
T = Válvula tricúspide
P = Válvula pulmonar
P.A.= Arteria pulmonar
L.A.= Aurícula izquierda
M = Válvula mitral
L.V.= Ventrículo izquierdo
A = Válvula aórtica
V.P.= Venas pulmonares

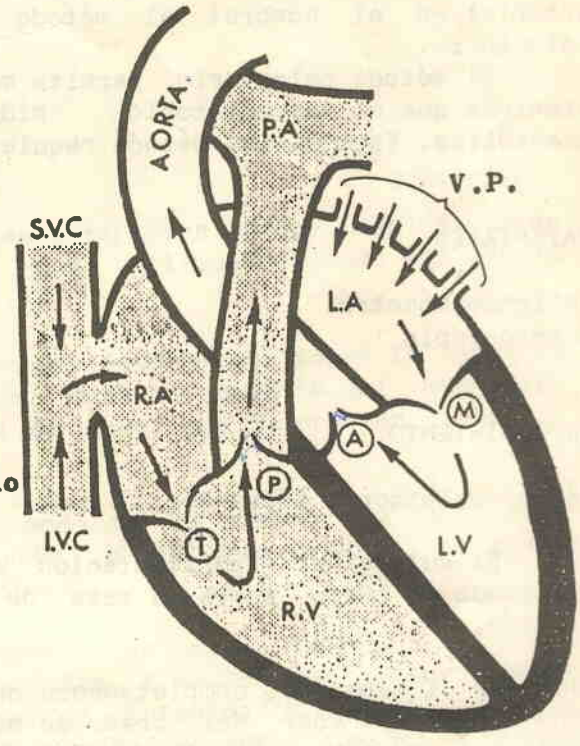


Fig.26.- Movimiento de la sangre en el Corazón.

Las aurículas se contraen primero, la sangre pasa a los ventrículos que se contraen e impulsan la sangre hacia las arterias, pues las válvulas aurículo-ventriculares, empujadas por la misma sangre, cierran el paso hacia las aurículas.

Cuando los ventrículos se contraen penetra sangre a las arterias a gran presión, lo que provoca la distensión de sus paredes.

La distensión rítmica de las paredes de las arterias constituye el pulso.

La fuerza que ejerce la sangre en el interior de las arterias, produciendo la distensión de sus paredes es la presión arterial.

A la presión originada por la contracción o sístole ventricular se le llama sistólica o máxima. La diástole o relajación del corazón origina la presión diastólica o mínima.

MEDICION INDIRECTA DE LA PRESION ARTERIAL

Se emplean dos métodos para la medición de la presión arterial en el hombre: el método auscultatorio y el método palpatorio.

El método palpatorio permite medir sólo presión sistólica mientras que el auscultatorio mide las presiones sistólica y diastólica. Este último método requiere de un ambiente silencioso.

MATERIALES

Esfigmomanómetro
Estetoscopio

PROCEDIMIENTO

Método palpatorio (Riva-Rocci)

El sujeto de experimentación deberá sentarse cómodamente, colocando el brazo sobre la mesa de modo que quede a nivel del corazón.

-Coloque el manguito, completamenta desinflado y desconectado del manómetro, alrededor del brazo de manera que su borde inferior quede 2-4 cm. sobre el pliegue del codo, y que la bolsa de goma quede justamente sobre la arteria humeral. Fije en esta posición el manguito de acuerdo al modelo que se este usando. Si al inflar la bolsa hace prominencia asimétrica, saque el manguito y vuelva a

colocarlo correctamente.

-Conecte el tubo del manguito al manómetro. Ubique el pulso radial. Suba la presión del manómetro, con la pera insufladora, a un nivel superior a la presión sistólica normal, con lo que desaparece el pulso radial. Luego baje lentamente la presión del manómetro, abriendo la válvula de la pera, hasta que note la aparición del pulso radial.

Anote el valor que indica el manómetro en este momento. Este valor corresponde a la presión sistólica. Mida a 4 compañeros la presión sistólica.

-Compare los resultados obtenidos e interprete.

	Sujeto 1	Sujeto 2	Sujeto 3	Sujeto 4
PRESION (mm Hg)				

Método auscultatorio (Korotkov)

-Con el sujeto en las condciones anteriores ubique por palpación el pulso de la arteria humeral, en el pliegue del codo por debajo de la zona comprimida (Fig. 27).

-Coloque la campana del estetoscopio exactamente sobre la arteria humeral, sin tocar el manguito. Suba la presión del manómetro rapidamente a un nivel de 50 mm Hg mayor que la presión sistólica registrada anteriormente.

-Abra la válvula lentamente de modo que la presión del manómetro descienda 2-3 mm Hg por segundo, hasta que escuche un ruido sincrónico con cada latido cardiaco.

-Anote la presión del manómetro en este momento, la que corresponderá a la presión sistólica. A medida que sigue bajando la presión los sonidos cambiarán de intesidad y calidad. Cuando los ruidos se hacen más débiles y apagados, antes que desaparezcan totalmente, anote el valor de la presión, que corresponderá a la presión diastólica. Cuando es imposible escuchar una clara demarcación por apagamiento de los ruidos, debe tomarse como

presión diastólica, el valor de presión obtenido en el momento en que los ruidos desaparecen totalmente. Cuando no es posible determinar ningún cambio claro en los ruidos, como a veces sucede, la presión diastólica debe dejarse como indeterminada.

-Haga tres mediciones a cada uno de sus compañeros de grupo.

	Sujeto 1		Sujeto 2		Sujeto 3		Sujeto 4	
	PS	PD	PS	PD	PS	PD	PS	PD
1a Med.								
2a Med.								
3a Med.								

EFECTO DEL EJERCICIO SOBRE LA PRESION ARTERIAL

MATERIALES

Esfigmomanómetro
Estetoscopio
Cronómetro
Banco

PROCEDIMIENTO

-Con el sujeto de experimentación sentado, mida la presión arterial (Metodo de Korotkov) y el pulso arterial, una vez cada minuto, tres veces. El valor promedio, será la presión arterial normal.

ANTES DEL EJERCICIO:

	Mediciones			
	1	2	3	Promedio
Presión Sistólica				
Presión Diastólica				
Pulso				

-Desconecte el tubo del manguito del manómetro. Haga que el sujeto suba y baje, a un banco de 40 cm. de alto con un ritmo de una vez cada dos segundos; en total 60 veces en dos minutos.

Cada 2 segundos hará los siguientes movimientos:

a.- Coloque un pie sobre el banco

b.- Suba el otro pie y enderécese

c.- Baje un pie

d.- Baje el otro

Al final del ejercicio que durará dos minutos el sujeto se sentará e inmediatamente se le tomará la presión arterial y la frecuencia del pulso tantas veces como sea posible, hasta que estos valores vuelvan a la normalidad, luego tome la presión 3 veces más.

	Hora	PS	PD	FC	t
Reposo					
Después del ejercicio					

REACCIONES DE LOS VASOS PEQUEÑOS DE LA PIEL HUMANA.

La minuciosa y cuidadosa observacion del color de la piel humana bajo condiciones controladas revela el estado de la circulación local y permite dentro de ciertos límites, llegar a obtener conclusiones con respecto al funcionamiento de los grandes vasos y de la circulación como un todo.

Los experimentos nombrados aquí han sido diseñados para:

a) Ilustrar algunos factores fundamentales que modifican el flujo de sangre a los tejidos.
b) Ilustrar ciertas pruebas de circulación local con las deducciones justificables que puedan ser sacadas de ellas.

El suministro de sangre a un tejido, por ejemplo la piel, es afectado por:

a) Metabolitos locales
b) Suministro de oxígeno
c) Temperatura local
d) Impulsos provenientes del sistema nervioso autónomo
e) Reflejos locales
f) Factores humorales
g) sustancias que se producen como consecuencia de una injuria de tejidos
h) mecanismos de autorregulación.

MATERIALES.

Esfigmomanómetro
Cronómetro
Solución salina al 0,9%
Histamina 1 mg/ml
Adrenalina 1 mg/ml
Lancetas, agujas esteriles
Algodón

OCLUSION ARTERIAL.

PROCEDIMIENTO.

-Características normales de la piel: Descubra ambos brazos. Extienda ambos antebrazos, lado a lado sobre la mesa y observe cuidadosamente las variaciones generales de color de la piel y el contorno y tamaño de las venas.

-Características de la piel después de la obstrucción arterial: habiendo elegido un sujeto con el color de la piel similar en

ambos lados, aplique el manguito neumático al brazo izquierdo por encima del codo. Después de levantar este brazo verticalmente por encima de la cabeza, con el puño tan fuertemente apretado como sea posible, el observador inflará el manguito neumático rápidamente a 200 mm de Hg. El sujeto entonces relaja el puño y baja el antebrazo a la mesa, extendiéndolo paralelamente al antebrazo derecho para la comparación. Mantenga el brazo comprimido por un minuto. Esta maniobra:

a) vacia parcialmente la mano y el antebrazo de sangre.
b) Detiene el flujo arterial al antebrazo y mano, excepto ciertas conexiones anastomósicas menores a través de los tejidos medulares del húmero.

Anote las características de la piel en estas circunstancias.

-Después de un minuto de oclusión desinfle el manguito rápidamente, compare los antebrazos y mano derecha e izquierda. Anote el tiempo de aparición y duración de la hiperemia.

Observe las características de la piel después de 5 minutos de obstrucción.

-Después de un período de descanso de al menos 4 minutos repita el procedimiento entero, pero ahora detenga el flujo de sangre durante 5 minutos. Al final de este período, saque rápida y completamente el manguito neumático. Una vez más, observe tan cuidadosamente como pueda, el tiempo de aparición y de duración de la hiperemia. Anote sus resultados

OCLUSION VENOSA.

-Cambie sujeto, compare cuidadosamente la apariencia de la piel y venas del antebrazo y manos, mientras estan extendidos lado a lado sobre la mesa. Preste particular atención en este momento al color de los dedos, pulpejo de la falange distal y lecho conungueal, asi como al contorno de las venas.
-Infle el manguito entre 30 y 40 mm de Hg. de presión y manténgalo durante 5 minutos. Observe la apariencia al final del período de congestión y describa las sensaciones. Inmediatamente después de esto, suelte el manguito.

¿Cuánta hiperemia reactiva observa Ud. después de soltar? Distinga correctamente el rosado vivo de la hiperemia y el lento retiro del azulamiento de la congestión de las venas, vénulas y plexos subpapilares.

CONTRACCION MUSCULAR Y RETORNO VENOSO.

-Infle el manguito neumático por encima del codo a 40 mm de Hg. mientras el antebrazo está con la palma de la mano extendida sobre la mesa.

a) Lleno venoso superficial sin ejercicio muscular.

El observador vaciará las venas superficiales, comprimiendo primero con su mano la piel de los dedos y después la del antebrazo, masajeando firmemente 3 o 4 veces desde la mano hasta el límite inferior del manguito. Anote el tiempo que requieren las venas superficiales para llenarse.

b) lleno venoso superficial con ejercicio muscular:

Repita el masaje que se indica arriba, pero inmediatamente después haga que el sujeto cierre y abra su mano en forma rítmica, 2 veces por segundo en 4 oportunidades. Cómo afecta esto al tiempo requerido para que se llenen la venas?

DOLOR ISQUEMICO.

- En esta observacion el sujeto comprimirá una pelota de goma con la mano, dos veces por segundo, durante 3 segundos, luego infle el manguito tan rápido como sea posible a 250 mm de Hg. Mientras el sujeto continúa comprimiendo su mano a intervalos de 2 veces por segundo. El sujeto describirá sus sensaciones. Ponga particular atención a la aparición de dolor profundo en los músculos del antebrazo y muñeca. Trate de describir su naturaleza y localizaciones exactas. Es este dolor contínuo una vez que ha comenzado? Continue las contracciones hasta que el dolor llegue a ser intolerable. En este momento, desinfle rápidamente el manguito, continuando con las contracciones. Observe especialmente cuantos segundos después de renovado el flujo sanguíneo se alivia el dolor y se recuperan las condiciones circulatorias del antebrazo.

EFECTO DE LA ADRENALINA Y LA HISTAMINA EN LA PIEL.

-Efecto de la adrenalina intradérmica:

Introduzca en la piel del antebrazo, en lugares cercanos, una pequeña cantidad de cloruro de sodio estéril al 0,9% (control), y de adrenalina (1 mg/ml). Anote la hora en que se introdujo. Observe durante 5 minutos o más, hasta que el efecto haya llegado a ser claro.

-Efecto de la histamina intradérmica:

En otro sujeto, introduzca en la piel de la cara anterior del antebrazo, una pequeña cantidad de solución salina estéril al 0,9% y en otro lugar del mismo antebrazo, una pequeña cantidad de histamina (1 mg/ml). Anote el momento en que se inyectó la histamina. Esquematice y describa a intervalos de un minuto (durante 7 minutos) los cambios en la apariencia de la piel en las áreas afectadas. Identifique los tres signos de la llamada "triple respuesta a la histamina": el punto rojo, las manchas rojas circundantes y el edema localizado.

Detenga la circulación inflando el manguito a 250 mm de Hg. Inyecte nuevamente histamina, adrenalina y NaCl 0,9%. Compare con las observaciones previas y explique.

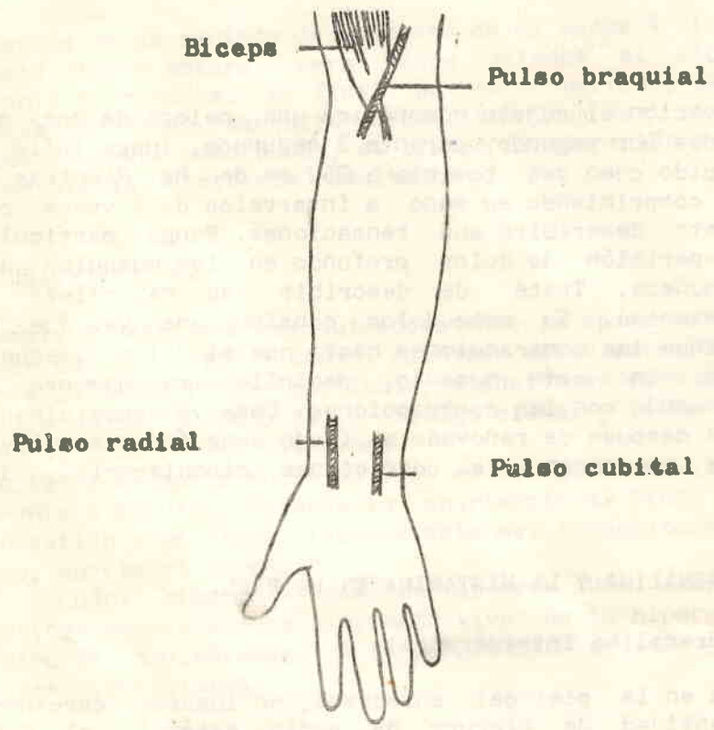


Fig.27.- Pulsos palpables en el antebrazo.

FLUJO URINARIO

OBJETIVO.

Investigar varios de los factores que controlan la excreción de orina; en particular estudiar el efecto de:

1.- La presión sanguínea.
2.- Varias sustancias inyectadas en la circulación.
3.- La máxima presión contra la cual se puede secretar orina.

FLUJO DE ORINA.

En su función de regular el balance de líquido y electrólitos, el riñón funciona mediante tres mecanismos: filtración, reabsorción y secreción. Una sustancia particular que circula en el torrente sanguíneo puede aparecer en la orina por cualquiera de estos tres procesos (Fig.28).

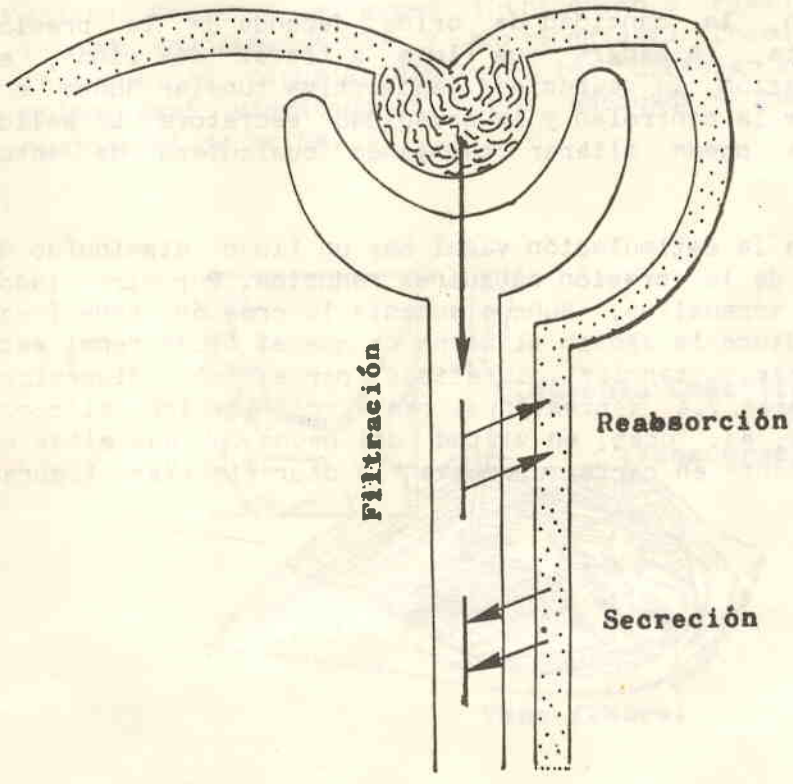


Fig.28.- Función tubular.

La presión hidrostática de la sangre tiende a conducir líquido y partículas hasta un tamaño crítico (peso molecular=70.000) a través de las membranas de los capilares de la Cápsula de Bowman en los túbulos. De aquí que la presión neta (hidrostática-osmótica) influye en la cantidad de líquido filtrado. Cuando la presión sanguínea cae a aproximadamente 50 mm Hg, la filtración prácticamente cesa. Con presión sanguínea normal, de la gran cantidad de agua que entra a los túbulos, sólo un pequeño porcentaje aparece como orina, la mayoría de ésta se reabsorbe.

Muchas sustancias se excretan totalmente después de ser filtradas; la inulina es una de las más conocidas. Por otro lado algunas son reabsorbidas casi totalmente hacia el torrente sanguíneo, apareciendo en la orina sólo en cantidades pequeñas, siendo la glucosa un ejemplo típico. Sin embargo, la capacidad de reabsorción es limitada y si la circulación se sobrecarga con glucosa, aparecerá en la orina llevando agua con ella. Otras sustancias son tanto filtradas como secretadas directamente del torrente sanguíneo a los túbulos, apareciendo en la orina a través de este mecanismo. Ejemplos clásicos son el diodrasto y el ácido para-amino hipúrico.

En resumen, la cantidad de orina depende de la presión hidrostática neta, la sangre que fluye a través del riñón, el grado de hidratación, la capacidad reabsortiva tubular junto con los factores que la controlan y la capacidad secretora. La salida de la orina se puede alterar cambiando cualquiera de estos parámetros.

Después de la estimulación vagal hay un flujo disminuído de orina por causa de la presión sanguínea reducida. Por otro lado, la inyección de adrenalina, aunque aumenta la presión sanguínea, resulta en antidiuresis debido al hecho de que el flujo renal esta disminuído. Muchas sustancias diuréticas, por ejemplo diuréticos mercuriales, operan vía depresión o reabsorción de ión cloruro. Otras sustancias, ej. urea, en virtud del hecho de que ellas se reabsorben solamente en parte, promueven la diuresis (Ver figuras 2[illegible] a 35).

EQUIPO.

Polígrafo
Transductor de presión
Estimulador eléctrico
2 trozos de tubo de polietileno (para la canulación de uréteres)
Un tubo de plástico de 1.5 m. de longitud (para construir un manómetro vertical)
Una huincha de medir
Un set de infusión intravenoso
Una botella de 500 ml.
Un litro de Na Cl al 0.9% (suero fisiológico)
100 cc. de glucosa al 25% en suero fisiológico
Papel de prueba para glucosa

PROCEDIMIENTO:

Inserte una cánula traqueal en un perra. Canule una arteria carótida para registrar la presión sanguínea en el polígrafo. Coloque un electrodo en el vago derecho. Exponga una vena femoral (Fig.29), líguela en forma distal y canule con la sonda unida al suero intravenoso en la botella elevada que contiene la solución salina. Comience el goteo intravenoso a razón de una gota por segundo aproximadamente y mantenga esta frecuencia durante el resto de la cirugía. Mientras los uréteres son canulados, el animal será hidratado en forma adecuada y habrá una expulsión sustancial de orina.

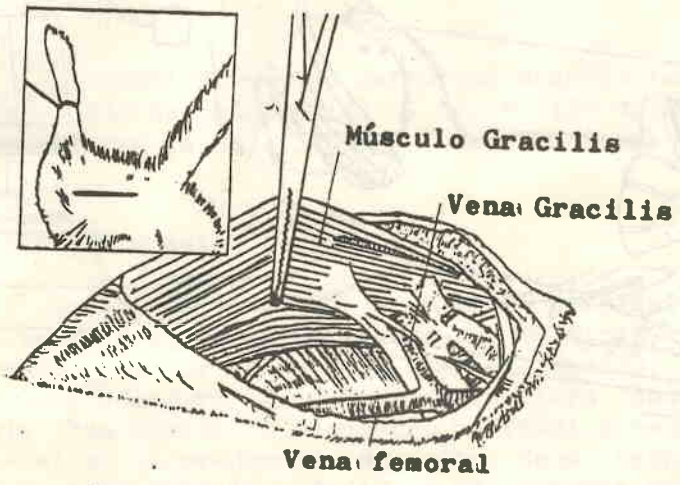


Fig.29.- Ubicación y relaciones anatómicas de la vena femoral.

Haga una incisión extendiéndose desde el arco púbico hasta el medio del abdomen. Separe los músculos a lo largo de la línea media y exponga la vejiga. Retírela hacia fuera de la incisión. Ubique los uréteres y remueva la grasa y el tejido conectivo. Ligue los uréteres y espere aproximadamente cinco minutos. La orina formada durante este período dilatará los ureteres y permitirá la más facil inserción de las sondas. Inserte las sondas plásticas en forma central a la ligadura y átelas dentro de los uréteres. Saque el otro extremo de la sonda fuera de la cavidad del cuerpo y reubique la vejiga. Cierre la incisión.

Con el papel a poca velocidad (1 mm/s), obtenga los registros de presión arterial. Ajuste la gotera intravenosa de manera que se mantenga un flujo de orina adecuado. Anote el número de gotas que cae por minuto (Fig.30).

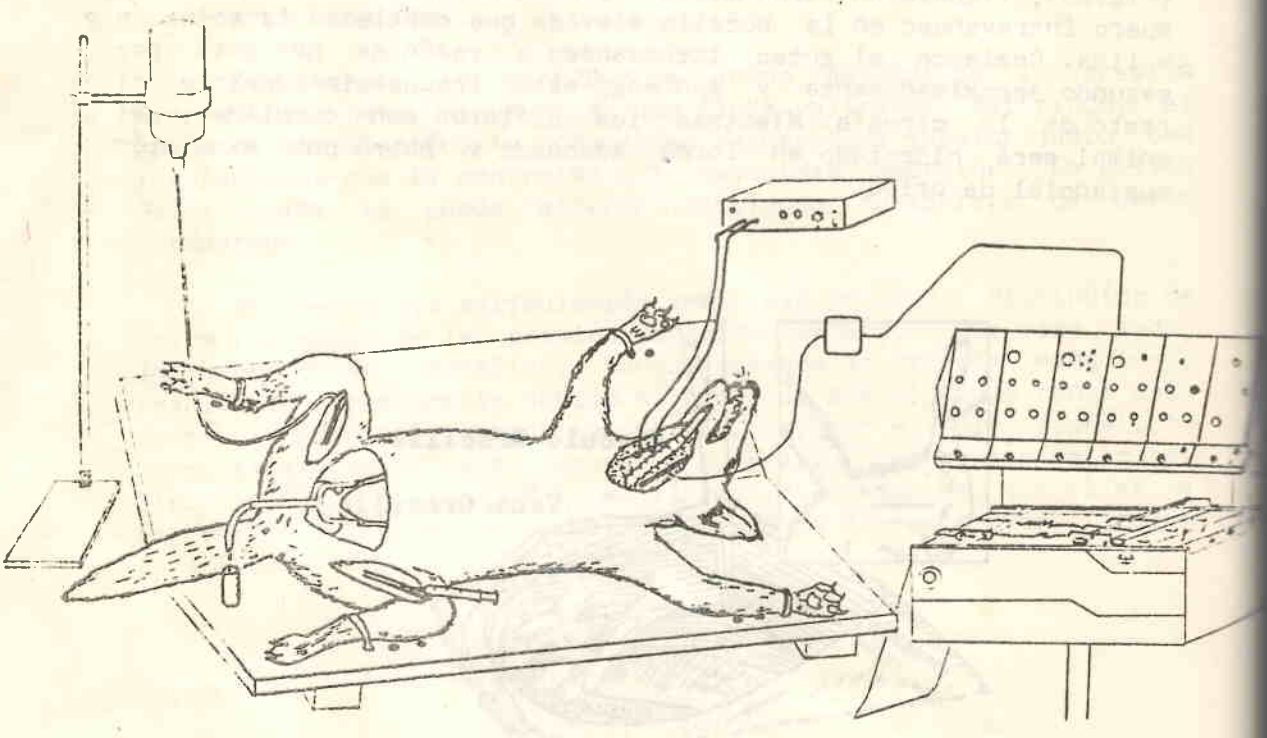


Fig.30.- Montaje para determinar presión arterial y flujo urinario simultáneamente.

1.- El efecto de la presión sanguínea.

Cuando se ha obtenido un flujo urinario estable, estimule ligeramente el vago derecho para desacelerar el corazon y bajar la presión sanguínea media a aproximadamente la mitad. Tome la presión sanguínea en este nivel por un minuto o más y note la disminución en la producción de orina.

2.- El efecto de las sustancias inyectadas.

a) Adrenalina.

Mientras registra a velocidad lenta la presión sanguínea y cuenta las gotas de orina, inyecte 15 ug de adrenalina/kg. de peso corporal en la otra vena femoral. Note el aumento en la presión sanguínea y el corto período de antidiuresis. Cada estudiante deberá tener un registro.

b) Glucosa.

Después que se ha restablecido un flujo urinario estable, en lugar de infundir solución isotónica de cloruro de sodio (suero fisiológico), inyecte aproximadamente 50 cc de glucosa hipertónica, mientras registra la presión sanguínea y la salida de orina. Note el aumento en la presión sanguínea y la antidiuresis inicial. Continúe la infusión de glucosa hipertónica hasta que ocurra una diuresis marcada. Determine la presencia de glucosa con el papel de prueba. Reconecte la vena femoral a la solución isotónica de cloruro de sodio y restablezca un flujo constante de orina.

c) Diuréticos.

Inyecte diurético mercurial orgánico 25 mg/Kg de peso i.v. (ampolletas de meralurida 1 cc = 130 mg). Registre cualquier respuesta en la presión sanguínea y anote la producción de orina.

3.- Máxima presión secretora.

Conecte el cateter a un tubo de plástico largo suspendido del techo para crear un manómetro vertical. Permita que la orina formada suba por el tubo al ejercer presión. Mida la altura final y exprésela en mm Hg. Compare esta cifra con la presión sanguínea media. Desconecte el manómetro vertical y recuente las gotas para determinar la producción de orina. Cause hemorragia hasta producir una presión sanguínea de 50 mm Hg. Conecte nuevamente el manómetro vertical y determine la altura final de la columna del líquido y exprésela en mm Hg. Desconecte el manómetro vertical y cuente las gotas para ver el efecto de la hemorragia en la producción de

orina.

Bote el animal, limpie el mesón y lave el material utilizado.

REPRODUCCION

OBJETIVO.

Al finalizar esta sesión de laboratorio el alumno deberá ser capaz de reconocer el efecto de las hormonas sexuales en el desarrollo de los aparatos reproductores femenino y masculino en rata. Conocerá embriones normales, reabsorbidos y hialinizados en rata. Ademas comprenderá la circulación fetal humana.

HORMONAS Y REPRODUCCION.

En ambos sexos las gonadas tienen funciones dobles:

1) producción de celulas sexuales
2) secreción de las hormonas sexuales

-Macho:

Cada testículo está formado por los tubulos seminíferos que producen espermios y por células intersticiales que secretan testosterona. La hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) son esenciales para la normalidad de la espermatogenesis y secreción de testosterona. Después de la extracción de la hipófisis anterior, los testículos disminuyen notablemente de peso y cesan casi por completo la espermatogénesis y la secreción de testosterona. La FSH estimula directamente la espermatogénesis, mientras la LH estimula la secreción de testosterona, pero por requerirse también la testosterona para la espermatogénesis, es obvio que la LH resulta indirectamente comprometida en este proceso. Todo esto bajo el control del hipotálamo. (Fig.31).

-Hembra:

A diferencia de la producción continua de espermios por parte del macho, la maduración y liberación de la célula sexual femenina, el óvulo, son cíclicas e intermitentes. En los seres humanos y otros primates estos ciclos se denominan ciclos menstruales. El ovario produce óvulos y secreta las hormonas sexuales femeninas, estrógeno y progesterona.

Los ovarios humanos normales contienen desde el nacimiento unos 400.000 folículos primordiales. Cada folículo esta compuesto de un óvulo rodeado de un estrato individual de células achatadas.

De estos folículos, unos 400 pueden llegar a la maduración completa durante toda la vida sexual activa de la mujer. Todos los demás degeneran a partir del nacimiento dando origen a folículos atrésicos.

El folículo secreta estrógeno. Cuando está maduro se rompe y libera al óvulo, este folículo roto da origen al cuerpo lúteo que secreta progesterona y estrógeno. Todo ésto bajo el control del hipotálamo. (Fig.32).

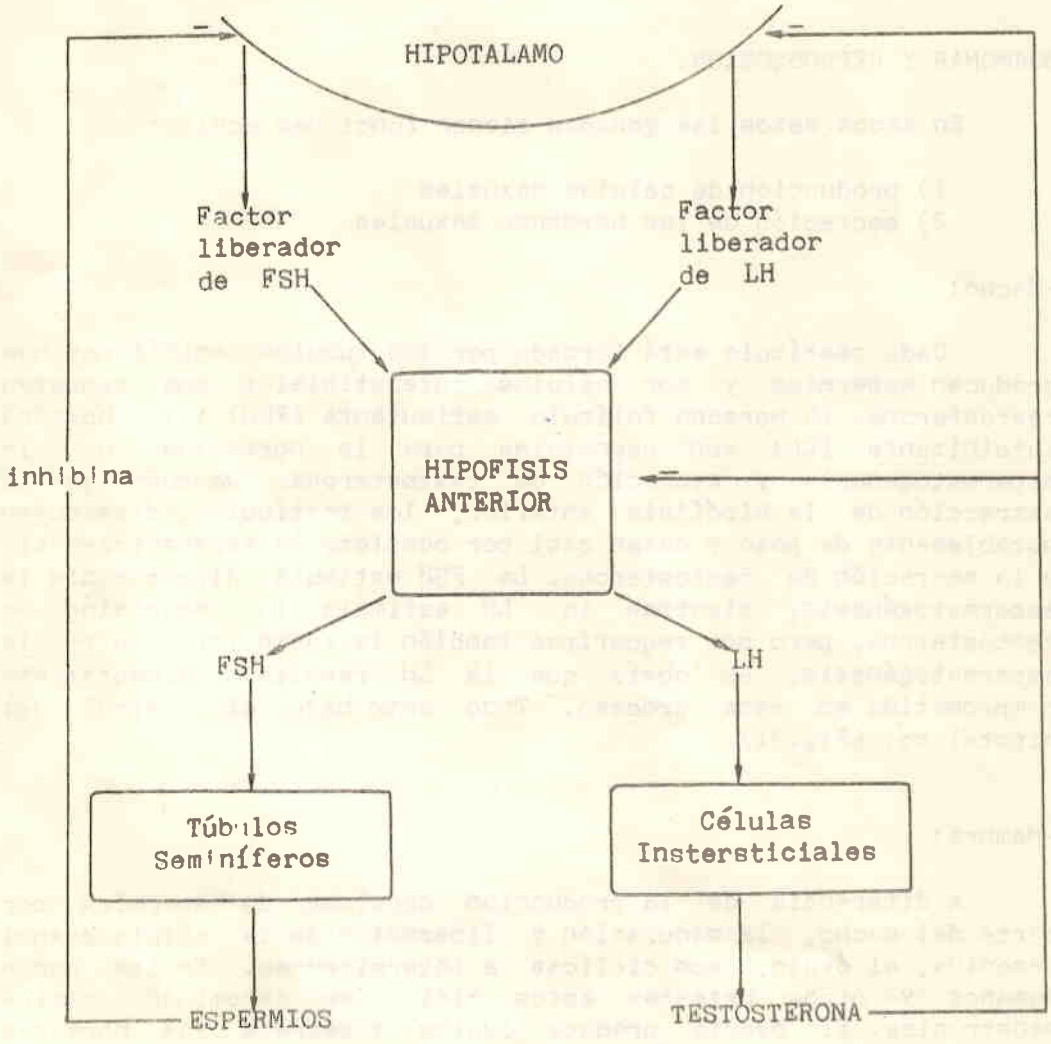


Fig.31.- Control hormonal de la actividad testicular.

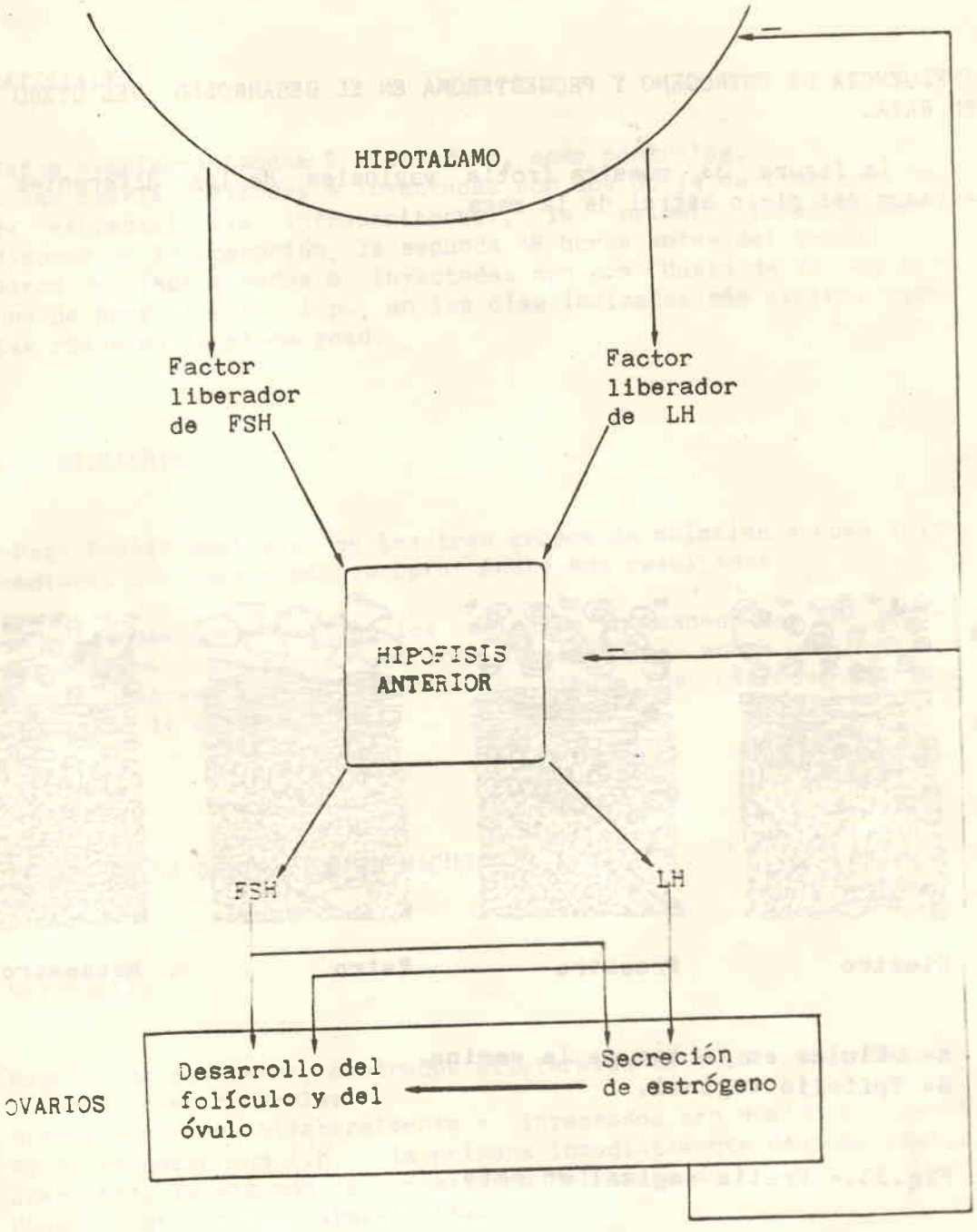
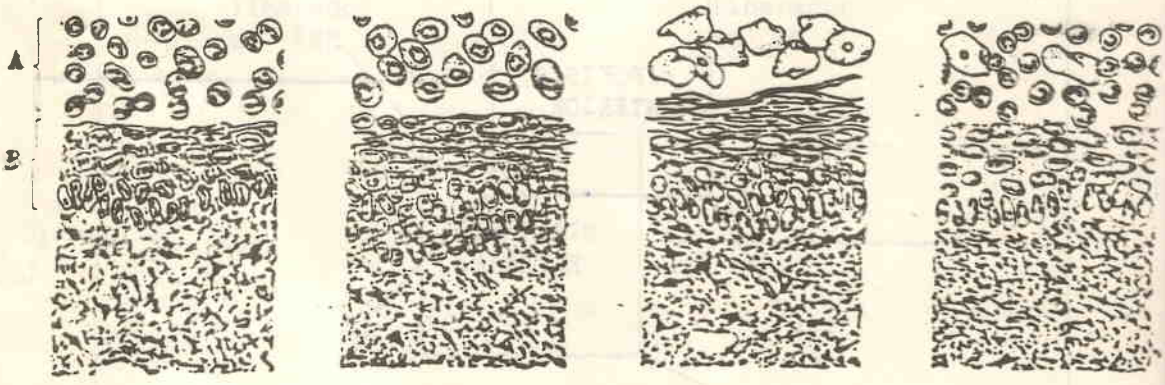


Fig.32.- Resumen del control hormonal del desarrollo del folículo, del óvulo y de la secreción de estrógeno durante la fase folicular del ciclo menstrual.

INFLUENCIA DE ESTROGENO Y PROGESTERONA EN EL DESARROLLO DEL UTERO EN RATA.

La figura 33 muestra frotis vaginales de los diferentes estados del ciclo estral de la rata.



Diestro **Proestro** **Estro** **Metaestro**

A= Células en la luz de la vagina.
B= Epitelio vaginal.

Fig.33.- Frotis vaginal en rata.

MATERIALES

Ratas ovariectomizadas 5 días antes, como controles.
Ratas ovariectomizadas e inyectadas con dos dosis de 1 mg cada una de estradiol vía intraperitoneal, la primera inmediatamente después de la operación, la segunda 48 horas antes del trabajo.
Ratas ovariectomizadas e inyectadas con dos dosis de 25 mg cada una de progesterona, i.p., en los días indicados más arriba. Todas las ratas de la misma edad.

PROCEDIMIENTO

-Haga frotis vaginales de los tres grupos de animales y obsérvelos mediante una lupa o microscopio. Anote sus resultados.

-A continuación sacrifique los animales con exceso de anestesia, exteriorice los cuernos uterinos disecándolos sobre una hoja de papel. Observe las diferencias y dibuje los cuernos uterinos indicando lo observado.

EFECTO DE LA CASTRACION EN MACHO.

MATERIALES

Machos, de dos meses, castrados bilateralmente a las tres semanas de edad, como controles.
Machos castrados bilateralmente e inyectados con dos dosis de 12 mg de testosterona i.p., la primera inmediatamente después de la operación, la segunda 48 horas antes del trabajo.
Machos castrados unilateralmente.

PROCEDIMIENTO

Anestesie los machos con pentobarbital sódico
Abra la cavidad abdominal

Compare las características del desarrollo de las vesículas seminales en los tres grupos mencionados. Observe las diferencias y dibuje.

MOTILIDAD ESPERMATICA.

MATERIALES.

Rata macho adulta

PROCEDIMIENTO.

-Lave el epidídimo de una rata adulta con una solución tampón de fosfato 0,1 M a pH 7, que contiene 1 mg de glucosa por ml. Coloque una muestra del lavado sobre un portaobjeto.
-Observe al microscopio el grado de motilidad, el tiempo de actividad, la cantidad de espermios móviles y su tinción con azul de Evans.
-Lave el epidídimo de otra rata adulta con una solución tampón de fosfato 0,1 M a pH 6 que contiene glucosa (1 mg/ml) y compare en la misma forma sus características.
-Repita lo mismo usando tampón fosfato a pH 4,5 y anote las diferencias.

OBSERVACION DE EMBRIONES IN SITU.

MATERIALES.

Hembras con 14 dias de gestación
Hembra cruzada 14 dias antes con macho tratado con un insecticida organofosforado, anticolinesterásico: Parathion (5 mg/kg/13 días/s.c.)

PROCEDIMIENTO.

-Anestesie la rata control con pentobarbital sódico.
-Abra el abdomen por la línea media y exponga los cuernos uterinos con los embriones, (Fig.34) cuéntelos y observe su tamaño y apariencia.

-Luego anestesie la hembra cruzada con macho tratado con Parathion, abra la pared abdominal y cuente los embriones normales. Verifique si hay algún embrión reabsorbido, se presenta como un lunar en el útero. En este caso también puede encontrar embriones muertos.

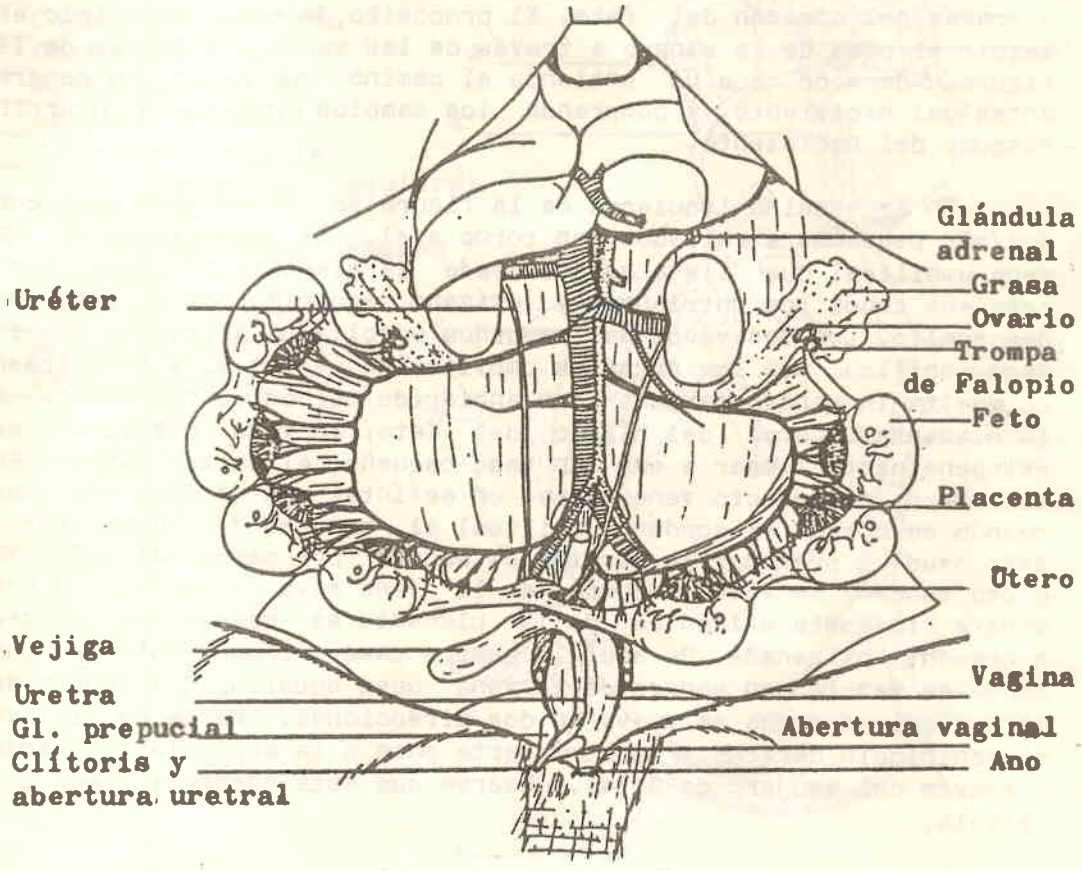


Fig.34.- Embriones en rata.

CIRCULACION FETAL.

Durante el desarrollo embriológico humano el sistema circulatorio es necesariamente diferente al que se encuenta después del nacimiento. El hecho de que los pulmones no funcionen antes del nacimiento obliga a una cantidad menor de sangre a ir a

los pulmones. También, debido a que los suministros de alimentos y de oxígeno deben venir desde la madre a través de la placenta, vasos sanguíneos desde y hacia la placenta a través del cordón umbilical deben estar presentes y funcionales.

La Figura 35 ilustra, en forma diagramática, la circulación a través del corazón del feto. El propósito de este ejercicio es seguir el paso de la sangre a través de las venas y arterias de la figura 35 de modo que Ud entienda el camino que sigue la sangre antes del nacimiento y comprenda los cambios que deben ocurrir después del nacimiento.

En la esquina izquierda de la figura se ve un gran vaso con dos más pequeños enrollados en torno a él. El vaso grande es la vena umbilical que lleva sangre desde la placenta al feto. Esta contiene todos los nutrientes y oxígeno requerido por el feto en desarrollo. Los dos vasos mas pequeños enrollados alrededor de la vena umbilical son las arterias umbilicales. Estas arterias traen de vuelta la sangre cargada con anhídrido carbónico y desechos a la placenta. Cerca del hígado del feto, la vena umbilical se estrecha hasta llegar a ser un vaso pequeño, el ducto venoso. En la entrada del ducto venoso hay un esfínter que cierra ese vaso cuando se corta el cordón umbilical al momento del nacimiento. Esto ayuda a prevenir la pérdida de sangre por parte del niño. El ducto venoso se vacia dentro de la vena cava inferior donde sangre ricamente oxigenada de la placenta se mezcla con sangre pobremente oxigenada. De aquí la sangre pasa a la aurícula derecha donde se mezcla con sangre de la vena cava superior. La sangre de la aurícula derecha se mueve en dos direcciones. Parte de ella va al ventrículo derecho y la otra parte pasa a la aurícula izquierda a través del agujero de Botal. Observe que esta abertura tiene una válvula.

Cuando el corazón se contrae, la sangre abandona el ventrículo derecho a través de la arteria pulmonar, la cual a su vez, se divide para formar las arterias pulmonares derecha e izquierda. Al mismo tiempo la sangre sale del ventrículo izquierdo a través de la aorta ascendente. Entre las arterias pulmonares y el arco aórtico hay un vaso pequeño, el ducto arterioso, que desvía la sangre que iba hacia el sistema circulatorio pulmonar hacia la circulacion sistémica, o sea sin pasar por los pulmones. Por supuesto, alguna sangre va hacia los pulmones para satisfacer las necesidades de crecimiento del tejido pulmonar, pero de ninguna manera la cantidad que necesitará despues del nacimiento.

El resto del sistema circulatorio es semejante al plan de un adulto en el sentido de que la aorta pasa hacia abajo a través del cuerpo y se divide en dos arterias ilíacas comunes. Las arterias

Coloque sobre la línea de puntos el número correspondiente.

___ Aorta
___ Cayado de la aorta
___ Ducto arterioso
___ Ducto venoso
___ Agujero de Botal
___ Vena cava inferior
___ Arteria pulmonar izquierda
___ Hígado
___ Arteria pulmonar derecha
___ Esfínter
___ Vena cava superior
___ Arterias umbilicales
___ Vena umbilical

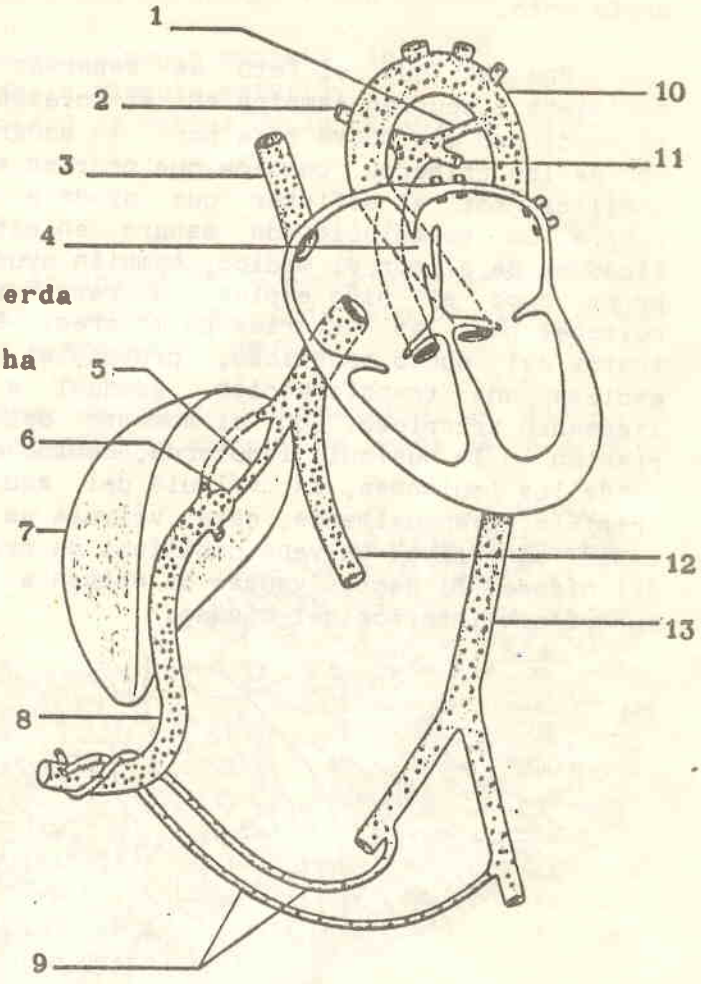


Fig.35.- Circulación Fetal.

umbilicales que salen de las ilíacas comunes dan origen a las ilíacas internas, o arterias hipogástricas, en el niño después del nacimiento.

Una vez que el feto es separado de la placenta en el nacimiento, ocurren cambios en el corazón, venas y arterias para proporcionar una nueva ruta para la sangre. Como ya se ha dicho, uno de los primeros cambios que ocurren es el cierre de la vena umbilical por el esfinter que ayuda a prevenir la pérdida de sangre. La coagulación de sangre en este vaso, tanto como la ligadura de el por el médico, también ayudan en este aspecto. Tan pronto como el niño empieza a respirar, va más sangre a los pulmones por las arterias pulmonares. El abandono del paso a través del ducto arterioso, provoca el colapso de este vaso y empieza una transformación gradual a tejido conectivo del ligamento arterioso. Con el aumento del volumen sanguíneo y de presión en la aurícula izquierda, debido al mayor flujo sanguíneo desde los pulmones, la válvula del agujero de Botal tapa este orificio. Eventualmente, esta válvula se sella completamente con tejido conectivo. La vena umbilical da origen al ligamento redondo del hígado. El ducto venoso da origen a una banda fibrosa en la superficie interior del hígado.

GLANDULA MAMARIA DE RATA.

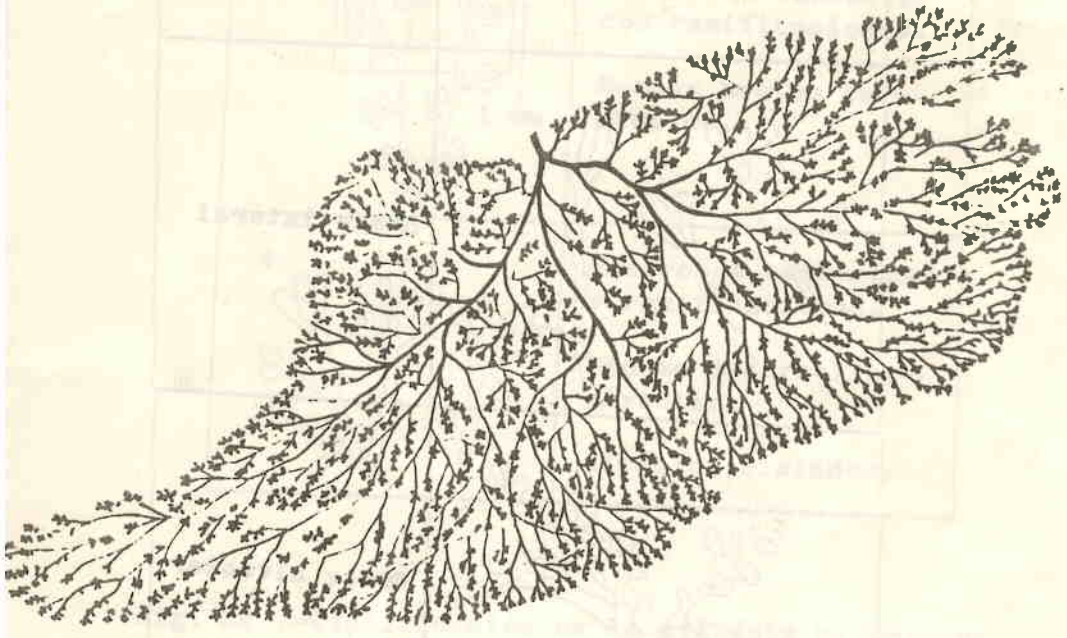
OBJETIVO.

-Conocer la glándula mamaria de rata.
-Distinguir los diferentes tipos de brotes y los estados del desarrollo.
-Realizar una preparación de glándula mamaria "in toto".
-Determinación del área de la glndula mamaria.
-Determinación de la densidad de brotes de la glándula "in toto".

INTRODUCCION.

La glándula mamaria es una glándula exocrina compuesta, está formada por muchos lóbulos separados, cada uno de los cuales desemboca por un conducto a través del pezón.

La rata tiene 6 pares de glándulas mamarias, la figura 36 presenta el aspecto de una glándula mamaria de rata de 44 días de edad.



g.36.- Glándula mamaria de rata. Ampliada aproximadamente 6 veces.

Durante el desarrollo de la glándula mamaria se presentan, en términos generales, 3 tipos de brotes denominados: brotes terminales, brotes laterales y brotes alveolares (Fig.37). Considerando la presencia de estos brotes, su cantidad y ramificación de los conductos, la glándula mamaria puede ser clasificada en estados de desarrollo 1, 2, 3 y 4. (Fig.38)

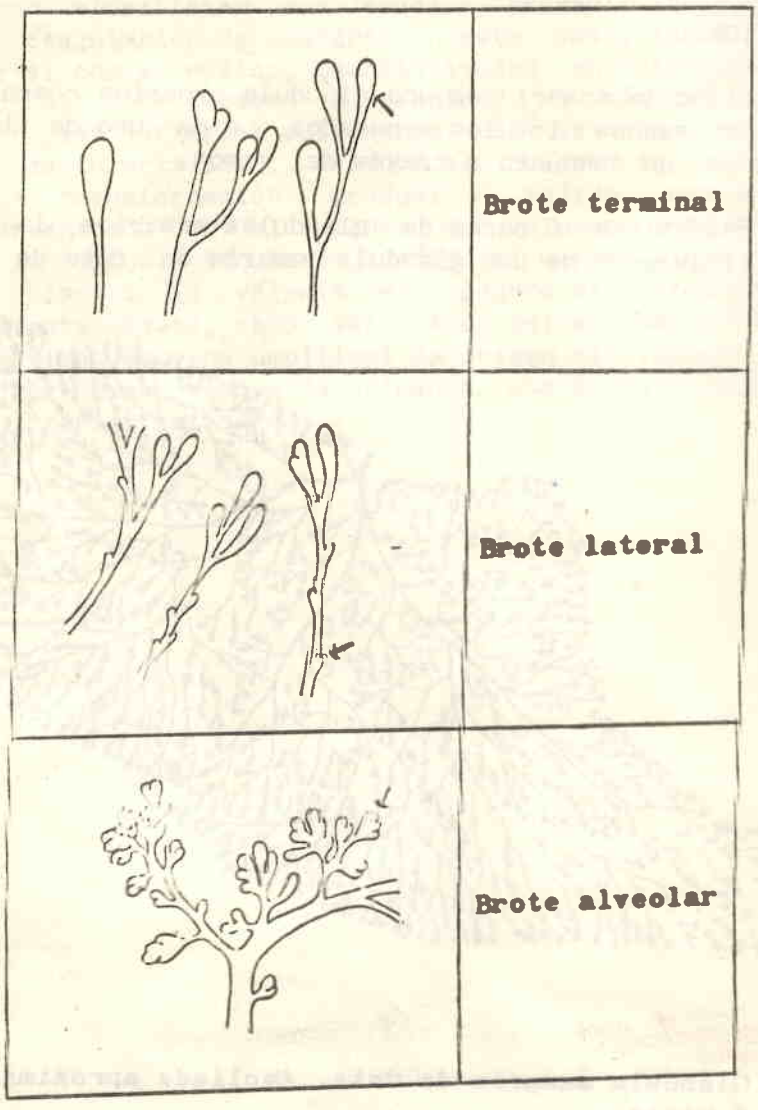


Fig.37.- Distintos tipos de brotes presentes en glándula mamaria de rata.

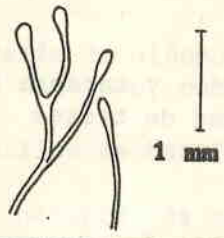
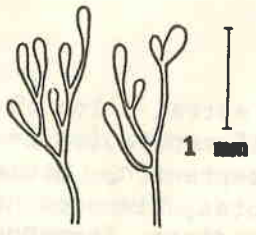
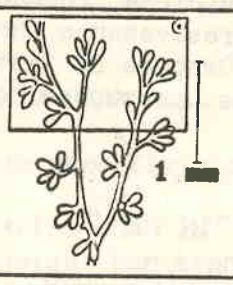
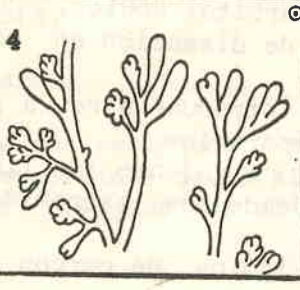
Estado.	Desarrollo.	Características generales.
1		Pocos conductos. Pocos o ningún brote terminal.
2		Moderado crecimiento de conductos. Numerosos brotes terminales.
3		Numerosos conductos con ramificaciones. Muchos brotes terminales.
4		Numerosos conductos y ramificaciones. Mínomo desarrollo alveolar. Alvéolos aislados.

Fig. 38 .-Clasificación de la glándula mamaria de rata según el estado del desarrollo de conductos y alvéolos; preparación "in toto".

Estado 1:

Se encuentra durante la primera semana de vida. Los conductos son delgados, rectos y terminan en una parte más ancha, el brote terminal.

Estado 2:

Se encuentra en la segunda y tercera semana de vida, se observa un aumento en la densidad de brotes terminales y en el área de la glandula.

Estado 3:

Empieza después de los 21 días de edad, aparecen brotes laterales.

Estado 4:

La iniciación del ciclo estral a los 35 a 42 días de edad marca un paso importante en la diferenciación de la glándula. Los brotes laterales experimentan septación, división y posterior germinación en 3 a 5 pequeños brotes, llamados brotes alveolares, algunos de estos pueden subdividirse formando un lóbulo. La densidad de lóbulos aumenta progresivamente hasta llegar a 2 a 4 por mm2 a los 84 dias de edad. Después de esta edad el numero de brotes alveolares y de lóbulos permanece constante en ratas vírgenes.

PREPARACION DE GLANDULA MAMARIA "IN TOTO".

-Se anestesia la rata con pentobarbital sódico.
-Se coloca la hembra en tabla de disección en posición decúbito dorsal.
-Con un bulbo de insuflación se introduce aire a presión entre la piel y el plano muscular para separarlos.
-Se hace un corte longitudinal siguiendo la línea media y se retira toda la piel del animal desde las extremidades posteriores hasta la cavícula.
-Se estira la piel sobre una lámina de corcho clavándola con mondadientes de madera.

FIJACION DE LA MUESTRA.

-Se coloca la preparación en una fuente de plástico y se cubre con AFA que es una mezcla de:

Alcohol absoluto	85 ml.
Formalina 40%	10 ml.
Acido acético glacial	5 ml.

-Se tapa la preparación cubierta con AFA para evitar la evaporación y se deja cubierta durante 24 horas. Luego se desprende la muestra del corcho y ayudándose con una pinza se

eparan los tejidos: la capa gruesa de piel y conjuntivo; de la elgada y translúcida en la que se encuentran las glándulas.

INCION DE LA MUESTRA.

Se pasa por una batería de alcoholes de 100, 95, 80 y 70 grados, urante 5 minutos en cada uno, para hidratar.

Se tiñe con Hematoxilina de Harris durante 7 segundos.

Se deshidrata, en bateria de alcolholes, siguiendo el camino nverso de la hidratacion.

NTAJE DE LA MUESTRA.

oloque la muestra en un vidrio transparente, cúbrala con bálsamo C nada diluído en xilol en la proporción de 3:1 y cúbrala con ro vidrio de idéntico tamaño.

DICION DEL AREA DE LA GLANDULA.

) Reproducción de la superficie de la glándula.

Ubique el vidrio con la glándula "in toto" sobre un gatoscopio y dibújelas por transparencia en papel diamante. corte esta figura.

) Cálculo del area.

Pese la figura recortada y pese 1 centímetro cuadrado del smo papel. La superficie de la glándula será igual al peso de la índula de papel dividido por el peso de 1 centímetro cuadrado mismo papel.

ERMINACION DEL ESTADO DE DESARROLLO.

serve los brotes terminales, brotes alveolares y conductos de glándulas "in toto" y compárelas con la figura 37.

ICION DE LA DENSIDAD DE BROTES DE LA GLANDULA MAMARIA "IN O".

Recuento.

Se hace con una lupa estereoscópica. Con el fin de hacer todos

los recuentos en un área pequeña y conocida, confeccione un aro de alambre de cobre delgado de unos 4 mm de diámetro, esto se logra amarrando el alambre en un clavo. Luego intodúzcalo en el interior de uno de los oculares de la lupa. Con la lupa así preparad haga 15 recuentos al azar en cada glándula.

b) Cálculo de densidades.

Mida el diámetro del campo visual observado con el anillo que Ud. preparó. El área es igual a $\pi r2$. Multiplique esta área por el número de campos visuales observados por Ud, en esta forma tendrá la superficie total en que Ud hizo el recuento. Como ya conocía el número de brotes, calcule cuantos brotes de cada tipo hay por milímetro cuadrado. Para estandarizar sus datos use el área total de la glándula, ya determinada por Ud y exprese la densidad en número de brotes por centímetro cuadrado de glándula.

Siguiendo el mismo método se puede determinar la densidad de brotes en una preparacion histológica.

ANALISIS ESTADISTICO.

Utilizando los datos de 5 ratas como mínimo, calcule promedio y desviación estandar. Si dispone de ratas controles y tratadas con alguna substancia, puede determinar si el tratamiento provocó algún cambio comparando los promedios con el test t de Student. Se considera que la diferencia es significativa con valores de p menores que 0,05.

-Guyton, Arthur. Textbook of Medical Physiology". Edit. W.B. Saunders Company. Phyladelphia, London and Toronto 1973.

-Jubiz, William. "Endocrinología Clínica". Edit. El Manual Moderno" México 1981.

-Olivares T.,Vitalia, Vélez S.,Patricio y Cabello F.,Gertrudis. "Influencia del Parathion en la reabsorción de embriones en ratas". Informe Final de Investigación, Universidad de Tarapacá, 1986.

-Parra I.,Roberto; Ruíz U.,Fernando y Urquieta J.,Romer. "Efectos de una dieta hipoprotéica en la respuesta secretora de la glándula submandibular de rata". Seminario para optar al Título de Profesor en Biología y Ciencias. Prof. Guía Gertrudis Cabello. F. Universidad de Tarapacá 1985.

-Pitts, Robert. "Physiology of the Kidney and Body Fluids". Edit. Year Book Medical Publishers Incorporated. Third Edition. Chicago 1974.

-Rodríguez, Ricardo. "Fisiología" Guía de Trabajos Prácticos. Edit. La Prensa Médica Buenos Aires, Argentina 1980.

Rowett,M.A. "Guías de Diseccion: La rata". Edit. Urania Barcelona España 1973.

-Schmidt, Robert. "Fundamentals of Neurophysiology". Edit. Springer-Verlag. Heidelberg. Berlin and New York 1975.

-Silva M.,Vicente. "Fisiología Experimental". Edit. Andres Bello. Santiago Chile 1959.

-Vernon B. Mountcastle, M.D. "Medical Physiology". Edit. The C.V. Mosby Company Thirteenth Edition Saint Louis 1974.

BIBLIOGRAFIA

-Araya A.,María; Arnello P., Lina y Valenzuela E., Mario. "Efectos de Eserina y Parathion en el Desarrollo de Glándulas Mamarias de Ratas". Seminario para optar al Título de Profesor en Biología y Ciencias, Universidad de Tarapacá. Prof. Guía Gertrudis Cabello F. 1984.

-Alfaro B.,Sergio; Moreno O.,Rosa ;Rivera R.,Raquel y Terrazas M.,María Verónica. "Polvos lubricantes para guantes y su relación con la formación de granulomas y adherencias peritoneales". Seminario para optar al Título de Profesor en Biología y Ciencias. Prof. Guía Gertrudis Cabello. Universidad de Tarapacá. 1983.

-Barrios L.,Hernán; Doña, I.,Lucía; Jorquera F.,María; Rojas R.,Nelly; Sánchez A.,Julio y Valenzuela B.,Violeta. "Variaciones en sensibilidad de glándula submaxilar de rata producida por tratamiento prolongado con Parathion". Seminario para optar al Título de Profesor en Biología y Ciencias. Prof. Guía Gertrudis Cabello. Universidad de Tarapacá. 1982.

-Benson, Harold y Gunstream, Stanley. "Anatomy and Physiology Laboratory Textbook". Wm. C. Brown Company Publishers. Second Edition. Dubuque, Iowa, U.S.A. 1979.

-Bishop, Jack; Dorman, Homer y Grube, Edward. "Basic Laboratory Exercises in Physiology". Kendall; Hunt Publishing Company. Third Edition Dubuque, Iowa, U.S.A. 1976.

-Cabello F.,Gertrudis y Espinoza N.,Omar. "Guía de trabajos Prácticos de Fisiología I". Universidad de Chile 1974.

-Cabello F.,Gertrudis y Zambrano M.,Luis. "Fisiología Experimental". Universidad de Tarapacá. 1983.

-Cortés M.A. "Curso Práctico de Fisiología". Universidad de Chile, La Serena. 1974.

-Davenport, Horace. "Physiology of the Digestive Tract". Edit. Year Book Medical Publishers Incorporated. Third Edition Chicago. 1973.

-Foglia, Virgilio y Co. "Guía de Trabajos Prácticos de Fisiología"". Edit. Eudeba Buenos Aires, Argentina. 1967.

-Ganong, William. "Manual de Fisiología Médica". Edit. El Manual Moderno S.A. Séptima Edición México 1980.

-Green,J.H. "Fisiología Clínica Básica". Edit. Acribia. Zaragoza, España 1972.