MANUAL DE PRÁCTICAS

FCBA

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
PROGRAMA EDUCATIVO: **MEDICINA VETERINARIA**

MANUAL DE PRÁCTICAS DE

FISIOLOGÍA VETERINARIA

Elaboró:
ELOY MÉNDEZ GARCÍA

Aprobación:
ACADEMIA: MORFOFISIOLOGÍA
H. CONSEJO TÉCNICO

TÚXPAN, VER., OCTUBRE, 2015.

MANUAL DE PRÁCTICAS

FCBA

UNIVERSIDAD VERACRUZANA

DIRECTORIO

Dra. Sara Ladrón de Guevara
Rectora

Dr. José Luis Alanís Méndez
Vicerrector Poza Rica-Tuxpan

Dr. Domingo Canales Espinosa
Director General del Área Biológico Agropecuaria

Dr. Arturo Serrano Solís
Director de la Facultad

Mtro. Marco Antonio Alarcón Zapata
Jefe de Carrera de Medicina Veterinaria

M.V.Z. Eloy Méndez García
Responsable de la E.E.

HOJA DE VALIDACIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS.
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

FISIOLOGÍA VETERINARIA

MANUAL DE PRÁCTICAS

PRESENTA:

MVZ. ELOY MÉNDEZ GARCÍA

Vo. Bo
Jefe de Carrera de Medicina
Veterinaria y Zootecnia

Vo. Bo.
Coordinador de la Academia
de Morfofisiología

Vo. Bo.
Director de la Facultad

ÍNDICE

PRÁCTICA I	**MOTILIDAD INTESTINAL**	**1**
PRÁCTICA II	**CICLO CARDIACO Y CIRCULACIÓN PERIFÉRICA EN RANA**	**3**
PRÁCTICA III	**TIEMPO DE COAGULACIÓN (POR EL MÉTODO DE CAPILAR)**	**8**
PRÁCTICA IV	**TIEMPO DE COAGULACIÓN (POR PORTAOBJETOS)**	**9**
PRÁCTICA V	**ERITROSEDIMENTACIÓN Y HEMATOCRITO**	**10**
PRÁCTICA VI	**RECUENTO DE GLOBULOS ROJOS**	**12**
PRÁCTICA VII	**DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA**	**14**
PRÁCTICA VIII	**RECUENTO Y DIFERENCIACIÓN DE LEUCOCITOS**	**16**
PRÁCTICA IX	**MECANISMO DE RESPIRACIÓN EN PERROS**	**18**
PRÁCTICA X	**FUNCIÓN RENAL EN OVINOS**	**20**

NÚMEROS DE LA PRÁCTICA: **I**

NOMBRE DE LA PRÁCTICA: **MOTILIDAD INTESTINAL**

1. OBJETIVOS

1. El alumno analizará el ritmo espontáneo in Vitro.
2. El alumno analizará la variación de la motilidad intestinal por factores ambientales.
3. El alumno describirá el efecto de carga sobre el músculo liso.
4. El alumno registrará los efectos de hipoxia.
5. El alumno describirá las propiedades del músculo liso

2. FUNDAMENTO

El músculo liso tiene la función en el sistema gastrointestinal de transportar el bolo alimenticio mediante el evento llamado peristaltismo que es la contracción del la parte donde el bolo alimenticio hace contacto y con relajación distal para que se avance el bolo alimenticio. Esto es posible por las propiedades del músculo liso que son:

- **EXCITABILIDAD**. Esta es la capacidad de responder ante un estímulo químico, mecánico y eléctrico.
- **CONDUCTIBLE.** Es la capacidad de propagar el estímulo a todo el tejido aunque es mas lento que otros tejidos excitables, también su función no es de responder rápidamente.
- **CONTRACTIL**. Como todo tejido muscular tiene que ser contráctil por eso cambia de longitud cuando se le estimula y también se mantiene constantemente contraído a esto se le llama como tono intestinal.
- **TENSIÓN-RELAJACIÓN**. Esta propiedad existe solo en músculo liso, si aumentamos la tensión aumenta la fuerza de contracción, pero si la tensión es demasiada en vez de contraerse se relaja.

La motilidad intestinal esta regulada por el sistema nervioso parasimpático por el décimo par craneal, el neumogástrico, por medio de su neurotransmisor la acetilcolina también interviene sustancias controladas por el sistema humoral entérico. En esta práctica se van a ver algunos efectos de algunas sustancias.

3. MATERIAL

- ✓ Conejo
- ✓ Baño para órgano
- ✓ Fisiógrafo , miógrafo, isotónicos, aditamentos
- ✓ Equipo de disección, hilo de seda
- ✓ Solución de Tyrode
- ✓ Pilocarpina, Adrenalina, atropina
- ✓ Pentobarbital o éter etílico
- ✓ 2 Termómetros

4. PROCEDIMIENTO

1. Integrar el baño para órgano.
2. Integrar el canal del miógrafo isotónico.
3. Anestesiar al conejo con éter etílico inhalado o pentobarbital intraperitoneal **(a razón de 1 ml por 2,5 Kg., de peso).**
4. Incidir la línea media abdominal por planos hasta llegar a cavidad abdominal.

5. Elija un segmento de ileon terminal de aproximadamente 5 cm.
6. Obténgalo anudando con seda u cortando como se lo indique el instructor.
7. Colóquelo en el baño para órgano en solución de Tyrode.
8. Calibre su registro. Espere el ritmo espontáneo vigilando que la solución que baña al segmento intestinal permanezca entre 37 y 38 grados centígrados.
9. Retire la aeración, espere cambios y registre. Pase al borboteador oxígeno al 100%, espere cambios y registre.
10. Añada dos gotas adrenalina al 1:1000. a la solución, espere cambios y registre.
11. Cambie la solución de Tyrode y espere actividad espontánea.
12. Añada dos gotas de pilocarpina al 0.4% y registre cambios.
13. Agregue a la solución 1 mg. de atropina y registre cambios.
14. Cambie la solución de Tyrode. Espere actividad espontánea.
15. Cambie la solución por otra a 33ºC y registre cambios.
16. Cambie la solución por otra a 40ºC y registre cambios.
17. Utilice nuevamente solución a temperatura normal.
18. Impóngale cargas progresivamente mayores al intestino y registre los cambios.
19. Recoja, y ordene adecuadamente el material utilizado

5.-RESULTADOS.

a. **GRAFIQUE SUS RESULTADOS Y ANÉXELO AL MANUAL.**
b. **¿QUÉ CONCLUSIONES OBTUVO DE LA PRÁCTICA?**
c. **MENCIONE LAS CAPAS QUE FORMAN EL TUBO INTESTINAL:**
d. **MENCIONE Y EXPLIQUE LOS PLEXOS NERIVIOSOS DEL INTESTINO:**
e. **¿QUÉ EFECTO TIENE UNA ESTIMULACIÓN PARASIMPÁTICA CON EL INTESTINO?**
f. **MENCIONE LAS PROPIEDADES DEL MÚSCULO LISO.**
g. **EXPLIQUE LA TEORÍA DEL PERISTALTISMO.**

NÚMEROS DE LA PRÁCTICA: **II**

NOMBRE DE LA PRÁCTICA: **CICLO CARDIACO Y CIRCULACIÓN PERIFÉRICA EN RANA**

1. OBJETIVOS

1. Que el alumno observe las estructuras anatómicas del corazón y su relación con el ciclo cardiaco.
2. Que el alumno describa los efectos de la administración de agua helada y caliente sobre el corazón y circulación periférica.
3. Que el alumno identifique y explique el marcapaso en el corazón.
4. Que el alumno mencione si se cumplió la ley de Frank-Starling.
5. El alumno identificará el efecto de adrenalina y acetilcolina sobre el miocardio y circulación periférica.
6. Que alumno describirá el bloqueo auriculoventricular en rana.
7. El alumno analizará el automatismo cardiaco (corazón aislado) y las demás propiedades del músculo cardiaco.
8. El alumno explicará el efecto de los cambios provocados por la disminución de oxígeno sobre el miocardio y circulación periférica.
9. El alumno analizará los cambios cualitativos del micro circulación en la rana.
10. El alumno describirá los factores que modifican la circulación periférica en la rana.
11. El alumno explicará las teorías por lo cual se explican los cambios obtenidos en la microcirculación.

2. FUNDAMENTO

El corazón esta compuesto de fibras auriculares, ventriculares y fibras de conducción todas individualmente tienen las mismas propiedades con ciertas diferencias.

- **EXCITABILIDAD:** Las tres fibras son excitables o sea responden a un estímulo solo que las fibras de conducción responden mas fácilmente principalmente el nodo SA.
- **CONDUCTIBILIDAD:** Todas obedecen a la ley de todo o nada y propagan el impulso cardiaco desde el nodo SA hasta el ventrículo por las fibras de purkinje.
- **CONTRACTILIDAD:** Todas las fibras son contráctiles en menos grados las de sistema de conducción y el de más fuerza contráctiles el ventrículo izquierdo.
- **AUTOMATISMO:** Este evento se refiere a que todas las fibras tienen la capacidad de autoexitación por un proceso del hiperpolarización pero las que tienen la mayor frecuencia de excitación es el nodo SA por eso le llaman el marcapaso.
- **LEY DE FRANK-STARLING:** Otras de las propiedades referente a la contractilidad es que a mayor distensión mayor la fuerza de contracción hasta ciertos limites fisiológicos.

La nutrición de los tejidos periféricos se lleva a cabo por los capilares arteriales y la reabsorción de los productos finales del metabolismo es por los capilares venosos así como los capilares linfáticos.

Esto parece ser modificado por factores hemodinámicos, pero la micro circulación tiene una función muy especial que se llama vasomoción capilar que es el movimiento o cambio de diámetro del os capilares dependiendo las condiciones del tejido esto se le llama autorregulación metabólica que depende del O2 o CO2 que se produzca en los tejidos, existe también la teoría de una sustancia llamada que es una sustancia vasodiltadora pero que también va relacionada con el metabolismo. Estos cambios en las paredes capilares son modificados por cambios locales pero tan bien pueden influenciar los cambios periféricos.

Por eso se dice que los capilares arteriales son los encargados de la nutrición de los tejidos y la reabsorción de los productos finales el lado venoso , así como los linfáticos, generando dos fuerzas las presiones que tienden a filtrar que son la presión capilar arterial, la presión coloide osmótica del líquido intersticial, y la presión del líquido intersticial y las presiones que se oponen a la filtración, es la presión coloideosmótica del plasma, esto nos lleva a un equilibrio hipotético que se le llama , equilibrio de Starling por lo cual se controla la circulación periférica.

Aunque hay tejidos que tienen características especiales para controlar su micro circulación pero todos se basan en la vasomoción que es vasoconstricción y vaso dilatación.

3. MATERIAL

- ✓ Rana o sapo.
- ✓ Tensiómetro
- ✓ Instrumental quirúrgico
- ✓ Estativo
- ✓ Hilo delgado y ganchos pequeños
- ✓ Oscilógrafo
- ✓ Miógrafo isométrico
- ✓ Pesas para calibración
- ✓ Soluciones: Ringer,
- ✓ Solución glucosada al 5%.
- ✓ Adrenalina al 1:10,000
- ✓ Acetilcolina al 1:10,000
- ✓ Agua helada y caliente.
- ✓ Microscopio.

4. PROCEDIMIENTO:

1. ***Disección:*** Se descerebrará a la rana y se desmedulará con la técnica usual y se colocará en la plataforma de los estativos. después, se saca la lengua de la rana y se fija en una tabla de corcho con alfileres en forma de abanico. Una vez fijado se coloca el microscopio buscando los capilares, para obtener los cambios cualitativos. Ya que se tengan localizados los capilares, se procede a administrar las sustancias que puedan modificar la microcirculación.
2. En cada aplicación de las sustancias se anotan los resultados.
3. Después con el bisturí realicé una incisión longitudinal y media abarcando desde el tórax hasta el abdomen.
4. Después diseque la piel hacia los lados, con las pinzas de disección levante el cartílago esternal y con las tijeras haga un corte hacia arriba hasta dejar libre la cavidad torácica cuidando de no lesionar los vasos y el corazón. Enseguida localice

el pericardio y con las pinzas de disección levántelo y de la parte media córtelo hasta dejar libre el corazón cuidando de no lesionarlo, así como los vasos

5. ***Registro:*** Una vez ya colocados los hilos en sus respectivos miógrafos, se procederá a tensionar en ambos miógrafos con los tensiómetros o retirando los estativos, hasta obtener los registros, aurícula aproximadamente 1 cm **(un cuadro)**, y 1.5 cm **(un cuadro y medio)** en ventrículo, en caso de no obtener estos.
6. La forma de administración es a goteo, y cada vez que se utilice una sustancia se procede a lavar.
7. Las sustancias podrían ser:
   - ✓ Agua helada o caliente.
   - ✓ Acetilcolina.
   - ✓ Atropina
   - ✓ Adrenalina.
   - ✓ Noradrenalina.

NOTA: ***el orden se determina por el maestro o instructor.***

resultados, de mas tensión tomando en cuenta el tamaño del corazón de su animal, ya que demasiada tensión puede dañar la preparación.

8. Durante la disección y preparación anotará los cambios observados en el corazón, sus cambios de coloración de sus diferentes cavidades, así como sus contracciones y su frecuencia.
9. Una vez obtenidos los registros, fije el control de la velocidad del papel a 3cm/seg. Y el del tiempo una marca por segundo y registre 15 ciclos completos, obteniendo frecuencia y duración de la sístole y la diástole.
10. Durante la Ley de Frank-Starling del corazón deberá usted tener cuidado de no lesionar su preparación con demasiada tracción.

NOTA: ***Si durante este paso al estar dando usted tensión observa que disminuye la contracción, disminuya la tensión para evitar desgarros y el trazo no deberá tomarse más de 30 seg.***

11. ***El efecto de temperatura:*** Durante esta fase puede colocar varillas de vidrio enfriadas en recipientes con hielo o agua helada, en diferentes lugares anatómicos del corazón, tomándose registros de 8-12 ciclos o contracciones, a una velocidad de 0.1 cm./seg., con marcador de tiempo de una marca por segundo.
12. Posteriormente deje que el corazón se reponga bañándolo con solución Ringer, por cinco minutos aproximadamente levante las plumillas y pare el papel.
13. Ahora bañe su músculo cardiaco con agua caliente por 30 seg. y registre el evento con las mismas características que con el agua helada o varillas heladas, después repita el paso número 5.
14. Cada vez que vaya a registrar un nuevo evento, tenga siempre registros control, por 1-2 minutos aproximadamente, esperando que se recupere, ahora bañe con 25-30 gotas de NaCl al corazón y registre por 3-5 minutos dependiendo si se observa respuesta. **(Proceda después a repetir el paso número 5).**
15. Ahora utilice KCl, aplicando 25-20 gotas, al músculo cardiaco, no antes haya limpiado usted de los exceso de NaCl y haya tomado un control de registro **(de recuperación),** Repetir paso número 5.
16. Ahora utilice CaCl de la misma manera que la vez anterior y registre de la misma manera **(repetir paso número 5).**

17. Utilice adrenalina al 1:10,000 aplicando 5 gotas, registrando de la misma manera como los iones anteriores **(Repetir paso número 5).**
18. Por último utilice acetilcolina 1; 10,000 aplicando 5 gotas, registrando de la misma manera como los iones anteriores **(Repita paso NÚMEROS 5).**
19. Después coloque un hilo entre aurícula y ventrículo y haga un nudo, no muy fuerte y registre los resultados.
20. Ahora deshaga el nudo y proceda a cortar las venas y el seno venoso del corazón y extráigalo, deposítelo en un frasco de solución de Ringer y cuente la frecuencia cardiaca por minuto.
21. Ahora trate de canular la aorta con una pipeta Pasteur y una vez canulada amárrela con seda no muy fuerte para que no rompa la pipeta. Después burbujee la solución que se encuentra en la pipeta Pasteur y meta volumen en la cavidad cardiaca. Trate de registrar las contracciones cardiacas y provoque cambios modificando de nuevo los electrolitos y otros fármacos que se les proporcione durante la práctica.

5. RESULTADOS:

	AGUA FRIA	AGUA CALIENTE	NaCl C	NaCl E	KCl C	KCl E	CaCl C	CaCl E	ADRE C	ADRE E	ACE C	ACE E
FRECUENCIA MIN												
INTENSIDAD AMPLITUD												

a. **En cuanto a la coloración de las cavidades cardíacas, comparadas las izquierdas con las derechas ¿cómo las encontró?**
b. **Mencione la secuencia de las contracciones de las estructuras cardiacas.**
c. **¿Cuánto fue la frecuencia cardíaca?**
d. **¿Qué aurícula se contrae primero?**
e. **¿Dónde cree usted que se encuentra el marcapaso? diga por qué:**
f. **¿Qué encontró usted al darle tensión a su corazón, se cumplió la ley de Starling?**
g. **Reporte según sus datos de la práctica los efectos provocados por cambios de temperatura, iones y fármaco.**
h. **¿Qué observó durante la colocación del nudo entre el surco auriculoventricular y a qué cree usted que se deba?**
i. **¿Cuánto fue la frecuencia de contracción del ventrículo?**
j. **¿Cuáles son las propiedades del músculo cardíaco y defínalas?**
k. **¿Qué cambios importantes encontró al burbujear la solución de la pipeta de Pasteur?**
l. **¿Encontró algún cambio diferente al aplicar soluciones en el corazón aislado que en la preparación en vivo?**

m. **¿Cómo explica Usted, que el corazón siga latiendo aún fuera del organismo?**
n. **¿Qué otras observaciones de interés obtuvo?**
o. **Explique la teoría de la regulación de la microcirculación**
p. **¿Qué sustancias teóricamente producen vaso dilatación?**
q. **¿Qué sustancias producen, teóricamente, vasoconstricción?**
r. **¿Qué es regulación a corto plazo y largo plazo?**

NÚMEROS DE LA PRÁCTICA: **III**

NOMBRE DE LA PRÁCTICA: **TIEMPO DE COAGULACIÓN (POR EL MÉTODO DE CAPILAR)**

1. OBJETIVOS

Que el alumno sea capaz de determinar correctamente el tiempo de coagulación por el método capilar

2. FUNDAMENTO

El tiempo de coagulación mide la eficiencia global de todo el proceso bioquímico de la coagulación.

3. MATERIAL

- ✓ Alcohol
- ✓ Lanceta
- ✓ Algodón
- ✓ Tubo capilar
- ✓ Cronómetro
- ✓ Sangre capilar **(animal)**

4. PROCEDIMIENTO:

1. Punción venosa
2. llenar el capilar con la sangre
3. Esperar (el tiempo determinado de acuerdo al tiempo de coagulación del animal tratado), hasta la aparición del hilo de fibrina

5. RESULTADOS:

_____

NÚMEROS DE LA PRÁCTICA: **IV**

NOMBRE DE LA PRÁCTICA: **TIEMPO DE COAGULACION (POR PORTAOBJETOS)**

1. OBJETIVOS

Que el alumno sea capaz de determinar correctamente el tiempo de coagulación que tarda una gota mediana de sangre.

2. FUNDAMENTO

El tiempo de coagulación mide la eficacia global de todo el procedimiento bioquímico de la coagulación.

3. MATERIAL

- ✓ Alcohol
- ✓ Lanceta estéril
- ✓ Algodón
- ✓ Portaobjetos
- ✓ Cronómetro
- ✓ Sangre capilar **(animal)**

4. PROCEDIMIENTO

1. Punción capilar
2. Recoger tres gotas de sangre
3. Esperar **(de acuerdo ala raza)**
4. A partir de el tiempo adecuado, con la punta de la lacenta, recoger el hilo de fibrina

5. RESULTADOS:

_____

NÚMEROS DE LA PRÁCTICA: **V**

NOMBRE DE LA PRÁCTICA: **ERITROSEDIMENTACIÓN Y HEMATOCRITO**

1. OBJETIVOS

Que el alumno aprenda y practique las técnicas para la determinación de la eritrosedimentación o velocidad de sedimentación globular **(VGS)** y el hematocrito.

2. FUNDAMENTO

- **ERITROSEDIMENTACIÓN**: La prueba depende del hecho de que en la sangre a la que se le añade un anticoagulante los glóbulos rojos sedimentan hasta que forman una columna compacta en la parte inferior del tubo.
  Los eritrocitos sedimentan debido a que su densidad es mayor que la del plasma.
  La velocidad de este proceso depende de varios factores, siendo los principales la concentración de fibrinógeno y globulinas alfa y beta del plasma.

- **HEMATOCRITO (MÉTODO DE MICROHEMATOCRITO)**: La prueba se basa en el uso de una microcentrífuga, la cual proporciona una velocidad de centrifugación cercana a 10,000 r.p.m y por lo tanto se obtiene un volumen constante de paquete globular en un tiempo determinado (aproximadamente 5 minutos), utilizando un pequeño volumen de sangre.

3. MATERIAL

- ✓ Material necesario para la extracción de sangre
- ✓ tubo de ensaye de 13x100 con tapón de hule
- ✓ pipeta pasteur con bulbo de hule **(talle largo)**
- ✓ 1 tubo wintrobe
- ✓ 1 tubo capilar para la microhematocrito
- ✓ 1 mechero de bunsen o plastilina
- ✓ Centrifuga
- ✓ Gradilla especial para tubo Wintrobe
- ✓ Microcentrífuga
- ✓ Lector para microhematocrito
- ✓ E.D.T.A al 10%

4. PROCEDIMIENTO: (PARA LA ERISEDIMENTACIÓN)

1. Extraer 2ml de sangre venosa **(animal)** , colocarlos en un tubo de ensaye con anticoagulante y mezclarlo bien por inversión.
2. Colocarla sangre suficiente para llenar el tubo de wintrobe una pipeta de pasteur de talle largo. Se llena desde la base para evitar la formación de burbujas, hasta la marca 100 y luego colocarlo en el soporte en posición vertical, anotando el tiempo.
3. Al cabo de exactamente una hora, leer la velocidad de sedimentación globular **(VSG)** mediante la longitud de la columna de plasma sobre las células, expresando en el resultado en mm/hr. La lectura se hará en la columna cuya parte superior tiene la marca 0.

TÉCNICA PARA (MICROHEMATOCRITO)

1. Sumergir un una muestra de sangre con anticoagulante la punta del tubo colocándolo horizontalmente para que por capilaridad la sangre ascienda por el tubo, de manera qué se llenen 3/ 4 partes de su longitud.
2. Posteriormente llevar la punta del capilar ala llama para sellarlo, o bien sellarlo con plastilina, de manera que quede el fondo plano y que al centrifugarlo la sangre no se salga del capilar.
3. Una vez sellado el capilar colocarlo en una microcentrifuga y centrifugarlo a 10,000 rpm durante 5 minutos. Esto separa a los eritrocitos del plasma sanguíneo y deja una banda de leucocitos y de plaquetas en la superficie de separación.
4. Una vez centrifugado el tubo capilar, leer el hematocrito como aquel porcentaje de toda la sangre venosa ocupando por los eritrocitos. Se puede hacer con el
   lector para hematocrito.

5. RESULTADOS:

_____

NÚMEROS DE LA PRÁCTICA: **VI**

NOMBRE DE LA PRÁCTICA: **RECUENTRO DE GLÓBULOS ROJOS**

1. OBJETIVOS

Que el alumno aprenda a efectuar el recuentro de eritrocito utilizando el método manual **(método hemacitómetro),** el cual es una determinación básica

2. FUNDAMENTO

Los estudios cuantitativos de los elementos que forman la sangre, se refiere a la concentración de cada uno de ellos en un microlito de sangre.

El recuentro de eritrocitos consisten en diluir la sangre con diluyente apropiado, el cual debe ser isotónico para evitar la lisis y la estructura dentada de los eritrocitos, además debe prevenir la aglutinación la dilución deberá hacerse en por poción exacta y posteriormente se examinara al microscopio un volumen conocido de la muestra colocado en el hemacitrómetro **(cámara de neubauer)** contando el NÚMEROS de los elementos que se encuentra en la retícula de la cámara y mediante una operación matemáticas se obtiene la cifra total de las células.

3. MATERIAL:

- ✓ Material necesario para la extracción de sangre
- ✓ 2 tubos de ensaye 13 x 100
- ✓ 1 pipeta de thoma para glóbulos rojos con boquilla
- ✓ 1 cámara de neubauer con portaobjetos
- ✓ Microscopio
- ✓ Agitador de pipetas
- ✓ E.D.T.A. al 10%
- ✓ Solución de cower **(líquido diluyente),** el cual se preparará:
- ✓ Sulfato de sodio……12.5g
- ✓ Acido acético glacial…….33.3ml
- ✓ Agua destilada……200ml

4. PROCEDIMIENTO:

1. Obtener sangre venosa en la forma acostumbrada. Colocarla en un tubo con anticoagulante y mezclar bien por inversión del tubo.
2. La apunta de la pipeta de Thomas para glóbulos rojos se coloca debajo de la superficie de la sangre que entonces se aspira rápidamente hasta la marca 0.5; no deben existir burbujas de aire en la columna de sangre. Si la sangre se eleva ligeramente por encima de la marca, puede extraerse hasta llegar a ella mediante pequeños golpecitos en la punta, de la pipeta sobre el dedo.
3. La sangre adherida ala punta se sacará rápidamente; la punta se sumerge en el líquido diluyente y este se aspira hasta la marca 101. En esta fase la sangre se ha diluido 1 a 200.
4. Los extremos de la pipeta se cierran con los dedos pulgar y medio y se agita durante 30 seg. Para facilitar la mezcla inicial. La bolita situada en el bulbo de la pipeta debe moverse libremente.
5. Cuando se ha limpiado la cámara de recuentro y el cubreobjetos, este se coloca en un lugar. La pipeta se sostiene entre los dedos pulgares y medio o en un agitador mecánico especial y se agita durante 2 o 3 minutos.

6. Se expulsan soplando las 3 o 4 primeras gotas para eliminar el líquido sin células del tubo capilar. La pipeta se sostienen en un ángulo de unos 30° grado, mientras la punta se sitúa en el ángulo entren el orden del cubreobjetos y unos de los extremos salientes de la pieza base. El líquido se extenderá por debajo del cubreobjetos por atracción capilar.
   Las características de una cámara de recuentro que ha sido llenada en forma adecuada son que el líquido por completo o poco menos el espacio situado debajo del cubreobjetos, que ninguna proporción del líquido se haya deslizado al foso y que no existan burbujas. Si no se cumple algunas de estas condiciones, el recuentro puede carecer de garantía y la cámara debe limpiarse, secarse y recargarse.
7. Se dejara reposo la cámara durante algunos minutos para que las células se depositen
8. El recuentro se efectuara en el cuadro central de la cámara, el cual esta dividido en 25 cuadros y estos están divididos a su vez en 16 cuadros más pequeños. El recuentro se efectuaran en 5 cuadros de los más grandes(los de la esquina y el central) que corresponde a 80 cuadros de los más pequeños. Las células se cuentan en cada uno de los cuadros pequeños, primero de izquierda a derecha empezando por la parte superior de 4 cuadros pequeños y luego de derecha a izquierda para la próxima hilera y así sucesivamente. El número de células para cada uno de los 5 grupos de 16 cuadros se registra por separado y se suman los resultados. Esta suma será N. Dicho recuentro se hará con objetivo de 40 %.
9. Cálculos:

Volumen de 80 cuadros pequeños =0.02mm3
Número de células en 80 cuadros pequeños= N
Dilución de la sangre= 1: 200

No. de células / mm3 = Nx200 x 1/0.02
Nx200x50
Nx10, 000

5. RESULTADOS:

_____

NÚMEROS DE LA PRÁCTICA: **VII**

NOMBRE DE LA PRÁCTICA: **DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA**

1. OBJETIVO

Que el alumno aprenda el método calorimétrico de la cianometahemoglobina. Para la determinación de hemoglobina ya que dicho método es el más empleado por presentar las siguientes ventajas:

1. La cianometahemoglobina es estable en soluciones diluidas.
2. El método mide la hemoglobina, metahemoglobina y carboxihemoglobina. No mide sulfohemoglobina.
3. Existen en el mercado estándares certificados de cianometahemoglobina.
4. Las lecturas se pueden hacer en espectrofotómetros de uso común como son el coleman, leitz, y bausch lomb.

2. FUNDAMENTO

La sangre se hemoliza por agregado de un agente tensoactivo. Con el ferricianuro de potasio se oxida el hierro ferroso de la hemoglobina a férrico para producir metahemoglobina. El cianuro de potasio estabiliza la metahemoglobina como cianometahemoglobina. La coloración producida es directamente proporcional a la concentración de la hemoglobina. La coloración es directamente proporcional a la concentración de la hemoglobina presente.

3. MATERIAL

- ✓ Material necesario para la extracción de sangre.
- ✓ 2 tubos de ensayo de 13x100 con tapón de hule
- ✓ 1 pipeta graduada de 5ml.
- ✓ 1 pipetas de salí con boquilla.
- ✓ Espectrofotómetro
- ✓ EDTA al 10%
- ✓ Solución de Drabkin
- ✓ 1 ampolleta de solución estándar de hemoglobina

4. PROCEDIMIENTO

- Solución diluyente de Drabkin.
- Bicarbonato sódico ---------- 1g
- Cianuro ---------- 0.05g
- Ferricianuro potasico ---------- 0.2g
- Agua destilada C.B.P. ---------- 1,000ml

1.- Colocar en un tubo de ensaye exactamente 5ml de solución de Drabkin.

2.- La muestra de sangre puede tomarse de una punción capilar que fluya libremente o de una vena. En el ultimo caso hay que mezclarla bien, se trasladan exactamente 0.02ml (20 microlitros) de sangre entera con la pipeta de salí al tubo de ensaye que contiene el diluyente, enjuagando la pipeta varias veces con el mismo.

3.- Se mezclan la sangre y el diluyente invirtiendo varias veces el tubo. Se dejan en reposo durante 10 minutos para permitir la formación de la cianometahemoglobina, la cual es estable por varias horas.
4.- Se ajusta la escala de longitud de onda del espectrofotómetro a 540nm.
5.- Se emplea como blanco agua destilada o la solución diluyente. La luz que absorbe a 540nm es insignificante.
6.- El blanco se ajustas a 100 en la escala de transmitancia (t) o a 0 en la escala de densidad óptica o absorbancia (D.O. o A).
7.- Leer la densidad óptica del problema y calcular la concentración de hemoglobina en la curva de calibración o mediante el factor correspondiente indicado en el instructivo del reactivo.

D.O. x 34.4 (factor) ---- concentración de Hb (gr/dl) --- concentración del estándar x lect. Del problema
Lectura del estándar

5. RESULTADOS:

NÚMEROS DE LA PRÁCTICA: **VIII**

NOMBRE DE LA PRÁCTICA: **RECUENTO Y DIFERENCIACIÓN DE LEUCOCITOS**

1. OBJETIVOS

Que el alumno aprenda a efectuar el recuento de leucocitos utilizando el método manual (método del hemacitómetro) la cual es una determinación básica en el laboratorio de hematología.

2. Fundamento.

Los estudios cuantitativos de los elementos formes de la sangre se refieren a la concentración de cada uno de ellos en un microlitro (milímetro cúbico) de sangre. Para el recuento de leucocitos se efectúa la dilución exacta de la sangre con una solución hipotónica de ácido acético que destruye a los eritrocitos. El azul de metileno o violeta de genciana permite reconocer fácilmente el líquido y observar mejor los glóbulos blancos, a los que tiñen ligeramente. Los normoblastos no se destruyen por lo que se deben tomar en cuenta para corregir los resultados. Se lleva a cabo el recuento en un volumen determinado de la muestra utilizando la cámara de Neubauer y posteriormente se hacen los cálculos.

3. Material.

- ✓ Material necesario para la extracción de sangre.
- ✓ 2 tubos de ensaye de 13x 100
- ✓ 1 pipeta de Thoma para glóbulos blancos con boquilla
- ✓ 1 cámara de Neubauer con cubreobjetos
- ✓ E.D.T.A. al 10%
- ✓ Líquido de turk (liquido diluyente) el cual se prepara:
  - Ácido acético glacial----------3ml
  - Solución acuosa de azul de metileno
- ✓ violeta de genciana al 1%---------- 1ml
  - Agua destilada----------100ml
- ✓ Microscopio
- ✓ Agitador mecánico para pipetas

4. PROCEDIMIENTO

- **TÉCNICA PARA RECUENTO DE LEUCOCITOS**

Todas las recomendaciones hechas respecto al recuento de hematíes tienen validez también para los leucocitos.

1. Se aspira con cuidado la sangre hasta la marca 0.5 en una pipeta de Thomas para glóbulos blancos.
2. Se seca la parte exterior de la punta de la pipeta con un algodón para retirar la sangre adherida; se aspira líquido diluyente hasta la marca 11, obteniendo una dilución 1:20.
3. Se agita la pipeta durante 3 minutos, se desechan las primeras gotas del líquido diluyente y se carga la cámara del recuento.
4. El diafragma del condensador del microscopio estará parcialmente cerrado para poder contemplar con claridad los leucocitos con un objetivo de poco aumento (10x)

si la distribución de los leucocitos en los cuadros de las esquinas no es uniforme, el método debe repetirse con un hemacitómetro y pipeta limpios.

5. Se cuentan los leucocitos en cada uno de los cuatro cuadros grandes de las esquinas, cada uno de los cuales esta dividido para mayor comodidad en 16 cuadros mas pequeños. Se suman los resultados y dicha suma será N

Cálculos

N: número de leucocitos en los 4 cuadros grandes
Volumen de los 4 cuadros grandes = $0.4mm^3$
Dilución de la sangre = 1:20
N° de leucocitos por mm^3 = Nx20x1/0.4
= Nx50

- **TÉCNICA PARA EL RECUENTO DIFERENCIAL DE LEUCOCITOS**

Para teñir la preparación:

1.- Colóquese la lamina sobre la gradilla de tinción
2.- Cúbrase la totalidad de la misma con colorante wright mediante un gotero.
3.- Espere unos 5 minutos. El tiempo varia con cada lote de colorante preparado.
4.- Agréguese una cantidad igual de agua destilada o solución amortiguadora sin haber quitado el colorante wright.
5.- Mézclese el colorante y el agua soplando directamente o agitando hasta conseguir un pequeño remolino en el líquido.
6.- Esperece de 3 a 7 minutos, sobre la superficie aparecerá una espuma broncínea.
7.- Lávese con agua corriente por espacio de 30 segundos por lo menos. **Nota. *No debe verterse el colorante antes de ser el lavado, puesto que ello causaría un precipitado indeseable.***
8.- Mientras seca la lámina se coloca sobre la platina del microscopio y se examina mediante el objetivo a seco débil para ver si los leucocitos están distribuidos correctamente y si la intensidad de coloración es adecuada. En la preparación correctamente teñida se aprecian fácilmente, tanto los eritrocitos como los números de leucocitos. Si la distribución del colorante no es satisfactoria, se desechara y preparara otra nueva, variando la técnica para subsanar el error. Si la preparación es satisfactoria.
9.- Espere a que seque completamente.
10.- Una vez seca se coloca una gota liberal de aceite de inmersión sobre la superficie de la preparación y se procede a su examen con el objetivo de inmersión.

NÚMEROS DE LA PRÁCTICA: **IX**

NOMBRE DE LA PRÁCTICA: **MECANISMO DE RESPIRACIÓN EN PERROS.**

1. OBJETIVOS.

- El alumno comprenderá y demostrará el movimiento de aire a través del árbol traqueó bronquial hacia los pulmones.
- El alumno comprenderá y demostrará el efecto del aumento de resistencia en el árbol traqueó bronquial.
- El alumno analice el efecto de la presión negativa sobre el modelo pulmonar.
- El alumno describa la función de los músculos principalmente el diafragma en el modelo pulmonar.
- El alumno explicará las diferentes presiones que existen y como cambia.

2. FUNDAMENTO

Los movimientos respiratorios están compuestos de dos fases que son , la inspiración y la espiración .Esto es posible mediante la contracción de músculos encargados de la respiración, formando así una bomba de inspiración muscular y otra de espiración muscular, estos a su vez tienen la función de evitar al colapso pulmonar ya que por sus propiedades elásticas el plumón tiende al colapsarse y dichas contracciones musculares juegan un papel muy importante para la entrada y salida de aire así como evitar el colapso pulmonar. También otros de los componentes para que el pulmón no tienda al colapso es la presión intrapleural que debe ser negativa provocando un vació dentro del tórax y que al contraerse los músculos inspiratorios aumentan este vació provocando la entrada de aire y así evitando que la elasticidad pulmonar ceda.

Durante la espiración ocurre todo lo contrario los músculos inspiratorios se relajan y los músculos espiratorios se contraen provocando que la presión negativa intrapleural se haga positiva y así ayuda a la salida de aire. De esta manera ocurre la ventilación pulmonar que el objetivo fundamental es proporcionar aire suficiente para que se difunda el oxígeno esto sería el proceso de inspiración así como también la espiración es un evento para la eliminación de bióxido de carbono principalmente.

3. MATERIAL

- ✓ Rata, hámster o conejo.
- ✓ Frasco de 500 ml. **(sin la base de vidrio).**
- ✓ Un guante quirúrgico.
- ✓ Cristalería **(tubos y pipetas graduadas).**
- ✓ Llaves de 3 vías.
- ✓ Estuche de disección.

4. PROCEDIMIENTO:

1. Se sacrificará al animal de experimentación con anestesia vía intraperitoneal.
2. Una vez anestesiado se procede a PRÁCTICAr una toracotomía y obtener los pulmones de la cavidad torácica
3. Los pulmones deben obtenerse junto con la tráquea y el corazón cuidando de no puncionar los pulmones durante la extirpación, después se colocan en el modelo para iniciar la práctica.

4. Donde la tráquea estará conectada a un tubo que va al exterior con una llave de 3 vías.
5. Una vez colocado el pulmón dentro del modelo proceda a colocar el hule o guante que funcionaria como el músculo diafragmático.

A.- MONTAJE DEL MODELO PULMONAR.

La mitad de los miembros del equipo de trabajo, montaran el modelo pulmonar, que consiste en preparar la campana de vidrio o frasco y conectar 2 tubos de plástico a 2 probetas graduadas formando una "U", respectivamente, y a su vez estas se conectan a una llave de 3 vías que van al tapón de la campana o frasco de vidrio. Enseguida, se coloca mercurio en las probetas graduadas de tal manera que podamos cuantificar los cambios en la probeta graduada.
Una vez hechas las colecciones pertinentes se colocará el guante quirúrgico en la base del frasco y se sellarán con cinta adhesiva de tal manera que no debe haber fugas de aire ni por el guante ni por el tapón superior donde se encuentran las conexiones.

B.- OBTENCIÓN DE RESULTADOS.

a) Se procede a fraccionar el guante quirúrgico de tal manera que tendremos.
- ✓ **Movimientos suaves.**
- ✓ **Movimientos rápidos.**
- ✓ **Movimientos fuertes.**

Se leen los cambios y se anotan en la hoja de resultados

b) Ahora se coloca una pinza en el tubo que conecta el pulmón con la atmósfera, cuidando de no pinzar demasiado para no bloquear totalmente la luz del tubo.
c) Después se repetirá el mismo procedimiento del paso (A), se leen y se anotan los cambios.
d) Con una jeringa de 50 ml se conecta en la llave de 3 vías que va al espacio entre el vidrio y el pulmón y se succionara aire de tal manera que vea cambios en el guante quirúrgico, después proceda a repetir los mismos pasos de la letra (A); lea los cambios y anótelos.

e) Ahora, abra la llave que comunica al espacio extrapulmonar y repita los mismos pasos de la letra **(A);** lea los cambios y anótelos.
f) Extraiga los pulmones y el corazón del modelo experimental y canule la arteria pulmonar y administrando 50 ml a 100 ml y lea su efecto.
g) Corte los pulmones y colóquelos en vaso de precipitado y observe su efecto.

5. RESULTADOS

	Presión intrapleural	**Presión extrapulmonar**
Móv. Suaves	**Ins** **Esp**	
Móv. Rápidos	**Ins** **Esp**	
Móv. fuertes	**Insp** **Esp.**	

NÚMEROS DE LA PRÁCTICA: **X**

NOMBRE DE LA PRÁCTICA: **FUNCIÓN RENAL EN OVINOS**

1. OBJETIVO

- EL alumno mencionará que es filtrado glomerular
- El alumno describirá que factores que influyen sobre el filtrado glomerular.
- El alumno explicará los mecanismos renales que ocurren durante la práctica
- El alumno analizará los resultados y explicara que mecanismo que se llevaron a cabo.
- El alumno explicará que manera se controla el pH.
- El alumno mencionará cómo se controla los líquidos corporales y las sales
- El alumno describirá las funciones de los riñones

2. FUNDAMENTO

El sistema renal por medio de su unidad funcional y anatómica la nefrona se lleva a cabo varias funciones como son: Control hidroelectrolítico, Control ácido-base, Control del volumen plasmático, Control de la presión arterial, control de la osmolaridad plasmática, eliminación de productos finales del metabolismo.
Esto se lleva a cabo mediante 4 mecanismos que se levan a cabo en la neurona:

- **EL FILTRADO GLOMERULAR:** Es un mecanismo por lo cual se filtran todas las sustancias menos, células, proteínas de gran calibre y sustancias de alto peso molecular.
- **SECRECIÓN:** Este es un mecanismo por lo cual la nefrona para pueda reabsorber ciertas sustancias tiene que secretar otras para mantener el equilibrio hidroelectrolítico.
- **REABSORCIÓN:** Este mecanismo nos permite conservar sustancias que sean necesarias para el organismo en equilibrio con la secreción
- **SECRECIÓN:** Este mecanismo es el resultado final de todos los mecanismos que actuaron donde se formara propiamente la orina

.**3. MATERIAL**

- ✓ 500 ml solución salina
- ✓ 500 ml solución problema
- ✓ 500 ml café sin azúcar

4. PROCEDIMIENTO

1. **SUJETO Y PREPARACIÓN.** Participaran 4 sujetos de cada grupo, numerados del 1 al 4. Los 2 o 3 sujetos que no participan directamente estarán encargados de hacer las mediciones y de llevar el registro de los datos.

2. **PROTOCOLOS.** Todos los sujetos vaciaran su vejiga inmediatamente después de levantarse de la cama el día del experimento y anotarán la hora. A las 9:30 se presentarán todos en el laboratorio y empezarán por vaciar de nuevo su vejiga en un frasco, anotando la hora. Esa es la muestra testigo para cada sujeto: se medirá

su volumen, su densidad urinaria (si es posible su osmolaridad) y se calculara el flujo urinario por minuto. Después de hechas esas mediciones se puede tirar la orina. El sujeto se pesará cuidadosamente. En seguida, después de haber obtenido sus valores testigo, los sujetos se someterán a las siguientes pruebas experimentales.

3. **RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.** A partir del momento en que terminen de recibir las sobrecargas de líquido, los sujetos empezarán a recoger orina a intervalos de aproximadamente 15 minutos, durante las siguientes 2 horas. Observen que el primer periodo de recolección incluye los 10 o 15 minutos durante los cuales tomaron el agua.

    - **SUJETO 1.** Beberá 500 ml de agua destilada en un periodo no mayor de 15 minutos.
    - **SUJETO 2.** Beberá 500 mide solución salina al 0.9 % **(isotónica)** también en no mas de 15 minutos. Después de haber tomado la solución salina, este sujeto permanecerá de pie y sin deambular por el resto del estudio.
    - **SUJETO 3.** Hará lo mismo que el sujeto 2 **(tampoco puede tomar tequila)** pero tan pronto termine de beber la solución salina se acostara y permanecerá acostado durante el resto del experimento, excepto para recoger sus muestras de orina.
    - **SUJETO 4.** Se administrará polución problema.

    NOTA: *LA DURACIÓN DEL INTERVALO NO ES CRÍTICA, AUNQUE ES MEJOR QUE SEA CORTA, LO QUE ES FUNDAMENTAL ES MEDIR EXACTAMENTE LOS MINUTOS QUE DURA ESE INTERVALO, PARA PODER CALCULAR DIURESIS EN EL ML/MIN Y PODER HACER COMPARACIONES.*

    En cada una de las muestras de orina se medirá volumen (calcular flujo por minuto), densidad urinaria, y si es posible osmolaridad urinaria y concentración de sodio (estas dos ultimas mediciones por personal del laboratorio). De cualquier manera calcule la osmolaridad urinaria a partir de la densidad urinaria, haciendo una recta de calibración con los siguientes valores: densidad 1.0= 0 mOsm/l.

    Densidad 1.016 = 600 mOsm/l.al final del experimento se volverá a pesar el sujeto.

4. **MEDICIONES.** Por favor, piense bien en el grave problema de medir el tiempo de los periodos de recolección de orina. Si no hace bien eso, sus datos prácticamente no sirven para nada. El volumen de orina se medirá en probetas. La densidad urinaria se medirá con densito metros cuyo uso se demostrara durante la práctica.
5. **ESTOS APARATOS SON MUY FRÁGILES Y SE ROMPEN SI SE DEJAN CAER EN LA ORINA DESDE MUY ALTO DE MODO QUE CHOQUE CON EL FONDO DE LA PROBETA.**

Para medir la densidad, quite la espuma de la superficie de la orina con un pedazo de papel filtro o similar. Haga flotar el densitómetro haciéndolo girar suavemente para que no se pegue a las paredes del recipiente. Léase el menisco de la orina sobre la escala del densitometro con el recipiente bien asentado en un plano horizontal, no lo sostenga en la mano. Espere a que la orina se aproxime a la temperatura ambiental. Los densitómetros están calibrados para leerse a 25º. La lectura puede corregirse restando 0.0002 unidades por cada grado que la temperatura exceda de 25ºC.

Calibre el suyo con agua destilada. Si no tiene suficiente orina para usar el densitómetro, puede diluir la orina con uno, dos o tres columnas de agua destilada, según sea necesario. Se lee la densidad que excede de uno se multiplica por el factor de dilución.

5. RESULTADOS.

Exprese sus resultados en forma tabular y en forma gráfica. Cada grupo presentara una gráfica de cada sujeto o protocolo experimental. Exprese el tiempo transcurrido en las abscisas y la osmolaridad urinaria, la diuresis, las depuraciones calculadas y la osmolaridad plasmática en ordenadas adecuadas. Señale el cambio de peso de los sujetos.

1. **Discuta los factores que influyen en los cambios de diuresis en cada caso. ¿Qué influencia tuvo la postura corporal y por qué?**
2. **¿Qué datos le permiten caracterizar el tipo de diuresis (poliuria y su mecanismo probable?**
3. **¿Qué papeles desempeñan el volumen de líquidos corporales (intra o extracelular o ambos) y la osmolaridad para determinar la magnitud y tipo de la diuresis?**
4. **¿Qué influencia tendría la presencia de glucosa o proteínas sobre la densidad urinaria en comparación con su efecto sobre la osmolaridad?**
6. **¿Qué cosas pueden inferir sobre la fisiología de la hormona antidiurética a partir de la curva de diuresis y osmolaridad urinaria en función del tiempo, en la sobrecarga de agua? ¿Qué significado tiene el tiempo que tarda en iniciarse la poliuria y el tiempo que tarda en alcanzarse la máxima diuresis?**
7. **¿Cuál será el mecanismo de la diuresis provocada por el manito?**

Los solutos excretados no son solo la misma mantuda inyectada, sino también sodio, color, urea. etc.

¿Por qué aumenta la excreción de sodio? ¿Por qué aumenta la de urea?

8. **En la diuresis acuosa la excreción de sodio aumenta, pero la de urea si. ¿Cómo explica eso?**

9. **¿Cuáles son los efectos de las diversas cargas líquidas sobre volumen intracelular y extracelular?**

10. **¿Cómo cree que estaba la secreción de HAD y de aldosterona en cada uno de los protocolos?**

11. **¿Cómo se explica que la osmolaridad urinaria (densidad) disminuya durante la diuresis provocada por manitol, a pesar del aumento en la excreción de solutos?**

12. **¿Qué ocurrió con la aplicación de la solución problema y por qué?**

BIBLIOGRAFÍA

- Dukes/swenson. Fisiología de los animales domésticos.
- García Sacristán A. Fisiología Veterinaria McGraw-Hill Internacional, México 1999.
- . James A. Wilson. Fundamentos de Fisiología Animal.
- . J. F. Lamb. Fundamentos de Fisiología.
- Malcolm S. Gordon. Fisiología animal.
- M. J. Swenson y W. O. Reece. Fisiología de los animales domésticos de Dukes. 2 da Edit Tomo I y II.
- Y. Ruckebusch/L.D. Phaneuf/R. Dunlop. Fisiología de pequeñas y grandes especies.
- William F. Ganong. Fisiología Médica.