Trabajo Práctico Nº 11

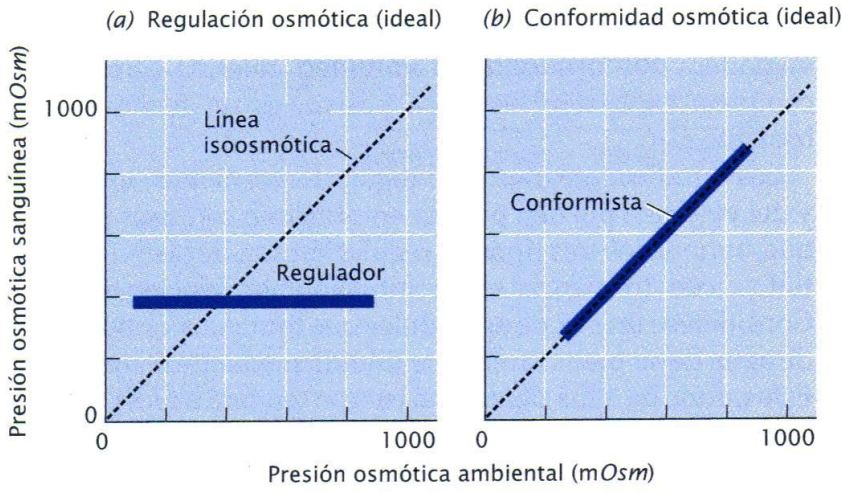
Excreción en el hombre

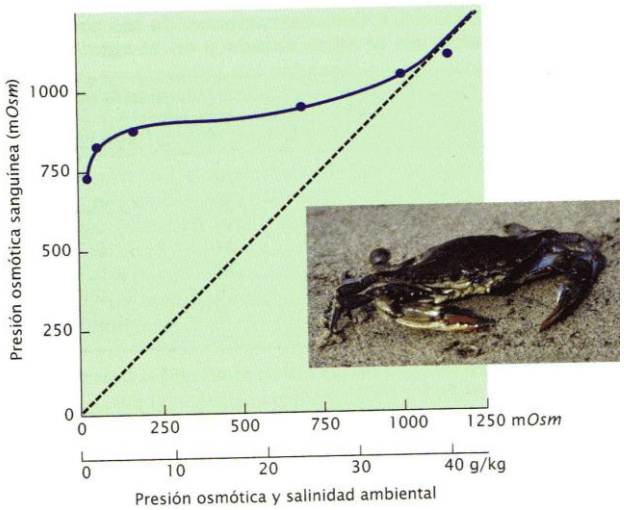
Introducción:

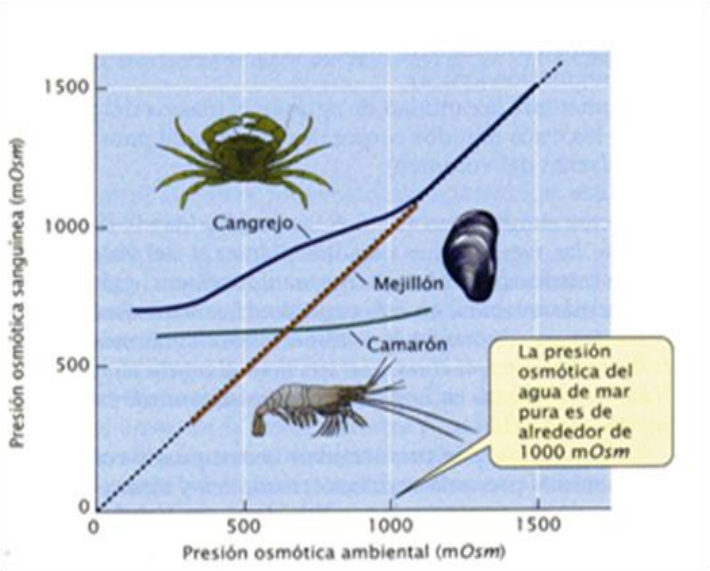
Los órganos excretores controlan el potencial osmótico y el volumen del líquido intersticial mediante la excreción del excedente de solutos (como el NaCl cuando ingerimos gran cantidad de agua salada) y conservando los solutos valiosos o que se encuentren en falta (como la glucosa y los aminoácidos). En los animales terrestres, estos órganos excretores también eliminan los productos residuales del metabolismo nitrogenado. El producto de la excreción de estos órganos se denomina orina.

Los sistemas excretores de numerosas especies filtran el líquido intersticial y luego procesan el producto del filtrado a través de un sistema de túbulos para producir orina. Este proceso de **filtración** suele llevarse a cabo sobre el plasma sanguíneo impulsado a través de las paredes de los capilares del órgano excretor por la tensión arterial. A continuación, el filtrado ingresa en un sistema de túbulos. Las células de los túbulos cambian la composición del filtrado por la **secreción** y **reabsorción** activas de moléculas específicas de solutos. Estos tres mecanismos son utilizados tanto por los sistemas excretores de las especies de agua dulce, las cuales excretan agua y conservan sales, como por los sistemas de las especies marinas y terrestres, que conservan agua y excretan sales.

En algunas especies, denominadas **osmoconformadores**, la osmolaridad del líquido intersticial se equilibra con el medio ambiente. En otras especies, llamadas **osmorreguladores**, la osmolaridad del líquido intersticial se mantiene en un nivel constante, aunque la del medio ambiente varíe.







En un amplio margen de osmolaridad ambiental, los invertebrados marinos simplemente equilibran la osmolaridad del líquido intersticial con la del medio ambiente. Sin embargo, existen límites para la osmoconformidad. Ningún animal podría sobrevivir si el líquido intersticial tuviera la osmolaridad del agua dulce; tampoco serían capaces de sobrevivir los que presentaran osmolaridades internas tan elevadas como las que se alcanzan en una pileta de agua marina en evaporación. Tales concentraciones de solutos producen la desnaturalización de las proteínas.

Todos los animales poseen algunos solutos en el líquido intersticial. En consecuencia, en un ambiente de agua dulce, la ósmosis hará que el agua ingrese en su cuerpo, de manera que la osmorregulación es esencial. Para poder realizar la osmorregulación en agua dulce, los animales deben excretar agua y conservar solutos; por lo tanto, producen grandes cantidades de orina

diluida. En agua salada se presenta el problema opuesto: para los animales que mantienen la osmolaridad del líquido intersticial por debajo de la del medio ambiente, la ósmosis producirá una pérdida de agua. Para poder llevar a cabo la osmorregulación en el agua salada, los animales debe conservar agua y excretar solutos; por lo tanto, tienden a producir pequeñas cantidades de orina muy concentrada.

El medio ambiente terrestre crea problemas de equilibrio hidroelectrolítico completamente diferentes de los que deben enfrentar los animales acuáticos. Dado que este ambiente es extremadamente disecante, la mayor parte de los animales terrestres deben conservar agua.

Los animales terrestres obtienen sales de los alimentos. Pero las plantas pueden poseer concentraciones bajas de sodio, de manera que la mayoría de los herbívoros deben conservar sus iones de sodio. Algunos herbívoros terrestres recorren largas distancias para llegar a los depósitos naturales de sal y complementar allí la ingesta diaria de sodio. Por el contrario, las aves que se alimentan de animales marinos deben excretar el exceso de sodio que ingieren con los alimentos. Las glándulas salinas nasales excretan una solución concentrada de cloruro de sodio por medio de un conducto que desemboca en la cavidad nasal. Ciertas aves que poseen glándulas salinas nasales, como los pingüinos y las gaviotas, estornudan o sacuden la cabeza con frecuencia para eliminar las gotas saladas que se forman.

Excreción de Nitrógeno

Los productos finales del metabolismo de los hidratos de carbono y de los lípidos son el agua y el CO_2, que no presentan dificultad alguna para ser eliminados. En cambio, las proteínas y los ácidos nucleicos contienen nitrógeno; en consecuencia, su metabolismo produce, además, residuos nitrogenados.

La excreción continua de amoníaco es un problema bastante simple para los animales acuáticos. El amoníaco se difunde y es muy soluble en agua. Los animales que respiran en el agua en forma permanente, eliminan amoníaco desde la sangre hacia el medio ambiente mediante difusión a través de las membranas branquiales. Estos animales que excretan amoníaco (peces óseos e invertebrados acuáticos) se denominan **amonotélicos**.

El amoníaco es un metabolito peligroso para los animales terrestres que tienen un acceso limitado a fuentes de agua. Por lo tanto, éstos (y algunos acuáticos) convierten el amoníaco en urea o ácido úrico. Los animales **ureotélicos** (mamíferos, anfibios y peces cartilaginosos) excretan urea como principal residuo metabólico nitrogenado.

Los animales que conservan agua mediante la excreción de residuos nitrogenados como el ácido úrico se denominan **uricotélicos**. Los insectos, los reptiles, las aves y algunos anfibios

son ejemplos de esto. El ácido úrico es muy insoluble en agua y se excreta como semisólido. En consecuencia, estos animales pierden muy poca cantidad de agua cuando eliminan sus desechos nitrogenados.

Los seres humanos son ureotélicos, pero también excretan ácido úrico y amoníaco. El ácido úrico en la orina humana deriva principalmente del metabolismo de los ácido nucleicos y de la cafeína. En la enfermedad conocida como gota, los niveles de ácido úrico aumentan en el líquido intersticial y esta sustancia precipita en las articulaciones y en otras partes del cuerpo, lo que provoca inflamación y dolor. La excreción de amoníaco constituye un mecanismo importante para regular el pH del líquido intersticial.

El órgano excretor fundamental de los vertebrados es el riñón. La unidad funcional del riñón es la nefrona. Cada riñón humano posee aproximadamente un millón de ellas.

La totalidad de los riñones de los vertebrados están formados por nefronas; sin embargo, los riñones de diferentes especies pueden desempeñar funciones opuestas para mantener el equilibrio hidrosalino. Por ejemplo, los riñones de los peces de agua dulce excretan agua, pero los de la mayoría de los mamíferos la conservan.

La nefrona está formada por tres partes principales:

- ✓ El glomérulo, constituido por un ovillo de capilares, que filtra el plasma.
- ✓ Los túbulos renales, que reciben y modifican el filtrado.
- ✓ Los capilares peritubulares que abastecen a los túbulos.

Cada nefrona posee un componente vascular y uno tubular. El componente vascular está formado por dos lechos capilares que se encuentran entre la arteriola que abastece la neurona y la vénula que la drena. El primer lecho capilar es un denso ovillo de vasos sumamente permeables denominado glomérulo. La sangre ingresa al glomérulo a través de una arteriola aferente y lo abandona a través de una arteriola eferente. Ésta da origen a la segunda serie de capilares, los capilares peritubulares, que rodean el componente tubular de la nefrona, denominado túbulo renal.

El túbulo renal se inicia en la cápsula de Bowman, que envuelve el glomérulo. El conjunto de glomérulo y cápsula se denomina corpúsculo renal. Las células de la cápsula que entran en contacto directo con los capilares glomerulares se llaman podocitos y están altamente especializadas. Poseen numerosas prolongaciones similares a brazos, cada una con cientos de proyecciones digitiformes finas, que se entrelazan y cubren completamente a los capilares (fig.1).

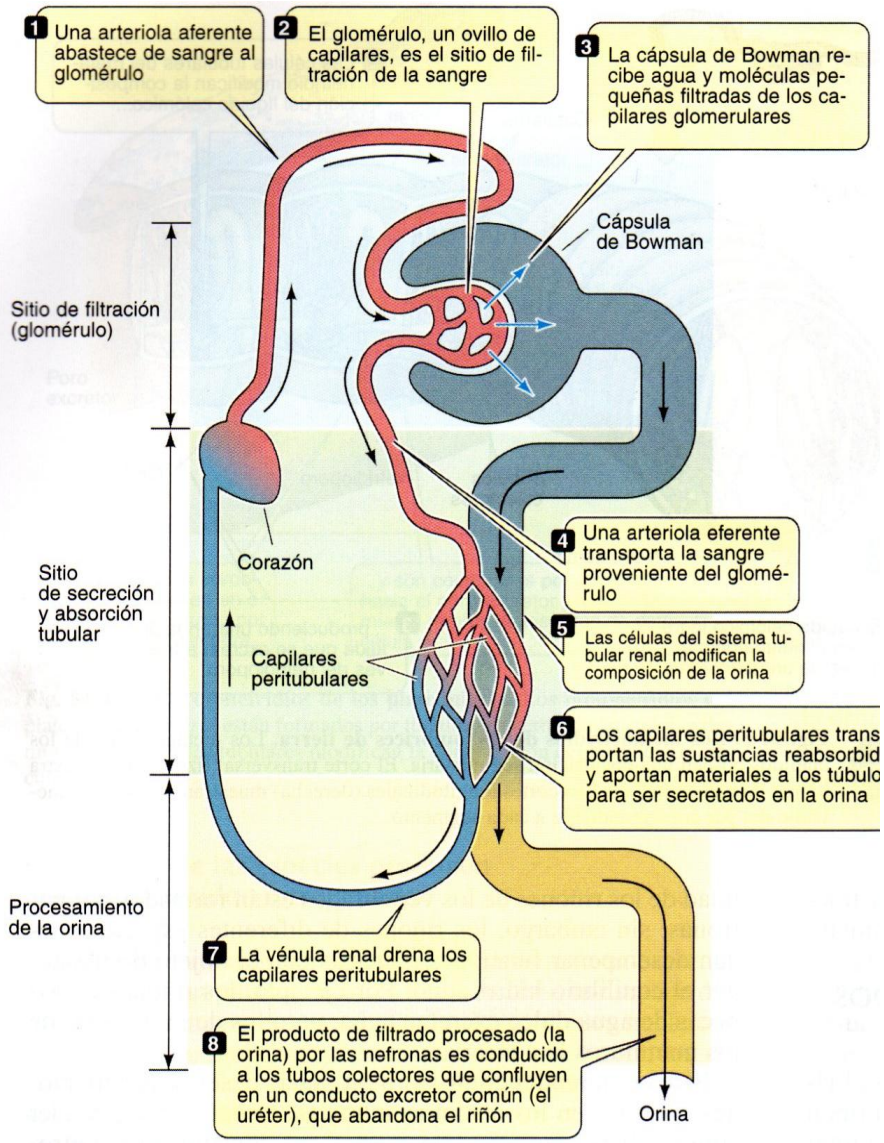


Figura 1: *Nefrona de los vertebrados*

El glomérulo filtra la sangre y produce un líquido tubular desprovisto de células y de moléculas de gran tamaño. Tanto las paredes de los capilares como la lámina basal del endotelio capilar y los podocitos de la cápsula de Bowman participan en el proceso de filtración. Las paredes endoteliales de los capilares poseen poros que permiten el paso de agua y de moléculas pequeñas, pero no eritrocitos. La trama de la lámina basal y las angostas hendiduras existentes entre las proyecciones digitiformes de los podocitos son aún más pequeñas que los poros de las paredes capilares. Como resultado de estas adaptaciones anatómicas, el agua y las moléculas pequeñas pasan de la sangre capilar al hacia el túbulo renal del nefrón, pero los glóbulos rojos y las proteínas permanecen en los capilares.

La fuerza que impulsa la filtración glomerular es la presión arterial. Como sucede en otros lechos capilares, la presión de la sangre que irriga los capilares permeables determina la filtración de agua y moléculas pequeñas. La velocidad de filtración glomerular es elevada porque la presión arterial de los capilares glomerulares es inusualmente alta y los capilares glomerulares, junto con su cubierta de podocitos, son mucho más permeables que otros lechos capilares del organismo.

La composición del filtrado que ingresa en la nefrona es similar a la del plasma sanguíneo. Este filtrado contiene glucosa, aminoácidos, iones y residuos nitrogenados en concentraciones iguales a la del plasma sanguíneo, pero carece de proteínas plasmáticas. A medida que el líquido circula por el túbulo renal, su composición cambia, ya que las células del túbulo reabsorben activamente ciertas moléculas del líquido tubular y secretan otras. Cuando el líquido tubular abandona el riñón transformado en orina, su composición es muy diferente a la del filtrado original.

La función de los túbulos renales es controlar la composición de la orina mediante la secreción y reabsorción activas de moléculas específicas. Los capilares peritubulares abastecen las necesidades de los túbulos renales al aportar las moléculas que son secretadas en los túbulos y transportar las que son reabsorbidas desde éstos hacia la sangre.

Las adaptaciones de los mamíferos y de las aves para producir una orina hipertónica con respecto a su líquido intersticial fueron un paso importante en la evolución de los vertebrados. Estas adaptaciones le permitieron al sistema excretor conservar agua a la vez que excretar el exceso de sales y residuos nitrogenados, posibilitándoles la vida en ambientes áridos.

Sistema excretor en los seres humanos

Los seres humanos poseen dos riñones ubicados inmediatamente por debajo de la pared posterior de la cavidad abdominal, en la región dorsal media (Fig.2). Cada riñón filtra la sangre, procesa el filtrado transformándolo en orina y lo libera hacia un conducto denominado uréter, que desemboca en la vejiga, donde se almacena la orina hasta su excreción a través de la uretra. Ésta es un conducto corto que se abre al exterior en el extremo del pene en los varones o inmediatamente por delante de la vagina en las mujeres.

Dos esfínteres musculares que rodean la base de la uretra controlan la micción. Uno de ellos es un músculo liso y está controlado por el sistema nervioso autónomo. Cuando la vejiga se llena, un reflejo espinal relaja este esfínter. Este reflejo es el único mecanismo de control de la micción en los lactantes, pero a medida que el niño crece, este reflejo es comandado gradualmente por los centros superiores del sistema nervioso. El otro esfínter está compuesto por un músculo esquelético y es controlado por el sistema nervioso voluntario o consciente. Cuando la

vejiga se encuentra muy llena, la micción sólo puede evitarse mediante una intensa concentración mental.

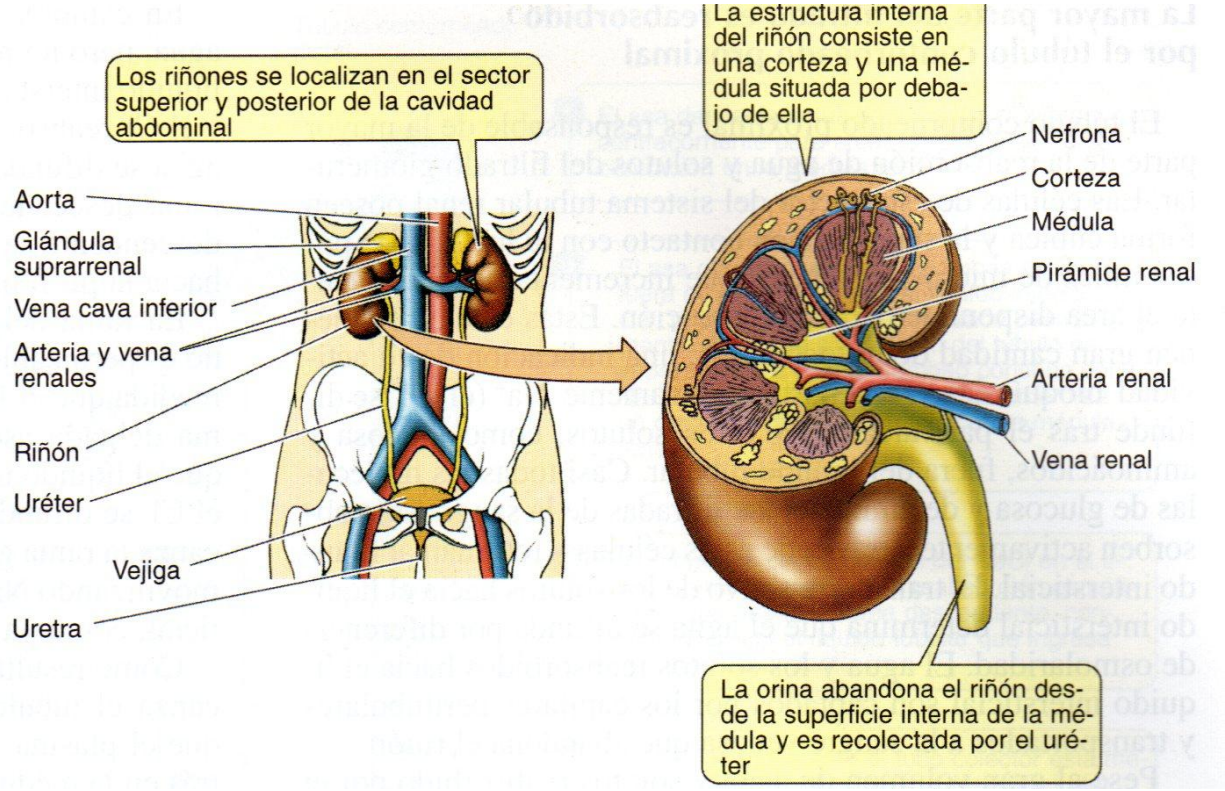


***Figura 2**: Sistema excretor humano*

Cada riñón humano contiene aproximadamente un millón de nefronas y su disposición es muy regular. Todos los glomérulos están localizados en la corteza. El segmento inicial del sistema tubular renal se llama túbulo contorneado proximal (proximal porque está cercano al glomérulo y contorneado porque es serpenteante).

En un punto determinado, el túbulo proximal se sumerge directamente en el interior de la médula. El segmento medular del túbulo es el asa de Henle (tiene forma de U y retorna hacia la corteza). Cuando su rama ascendente alcanza la corteza, se convierte en el túbulo contorneado distal. Los túbulos contorneados distales de numerosas nefronas confluyen en un conducto colector en la corteza. Los conductos colectores se disponen paralelamente a las asas de Henle, se dirigen a la profundidad medular y desembocan en el uréter a nivel de los vértices de las pirámides renales (Fig.3).

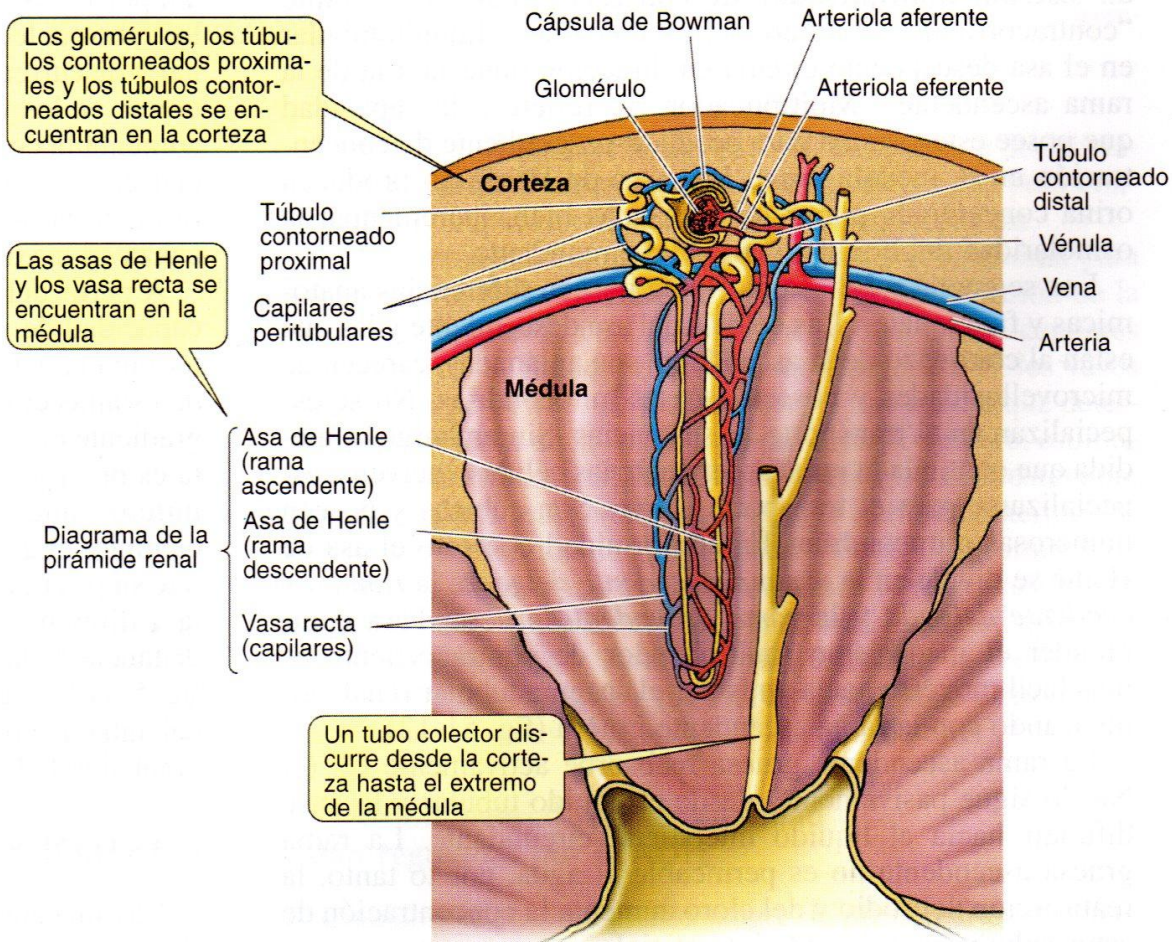


Figura 3: *Organización de la nefrona de los mamíferos*

La organización de los vasos sanguíneos renales se correlaciona estrechamente con la disposición de las nefronas. Las arteriolas se ramifican a partir de la arteria renal en forma radiada hacia el interior de la corteza. Una arteriola aferente aporta sangre a cada glomérulo. De su drenaje se encarga una arteriola eferente que da origen a los capilares peritubulares, la mayoría de los cuales circundan los segmentos corticales de los túbulos.

Algunos pocos capilares peritubulares se dirigen hacia el interior de la médula en forma paralela a las asas de Henle y los tubos colectores. Estos capilares forman los vasa recta. La totalidad de los capilares peritubulares de una nefrona vuelve a unirse para formar una vénula que confluye junto a las de otras nefronas para formar finalmente la vena renal, que drena la sangre al riñón.

La mayor parte del agua y los solutos filtrados en los glomérulos se reabsorbe y no aparece en la orina. Podemos llegar a esta conclusión comparando la tasa de filtración glomerular con la de producción urinaria: Los riñones reciben aproximadamente 1 litro de sangre por minuto o más de 1.400 litros de sangre por día, de la cual se filtra a los glomérulos aproximadamente el 12%, es decir 180 litros. Dado que en condiciones normales orinamos 2 a 3 litros por días, alrededor del 98 a 99% del volumen filtrado por el glomérulo es reabsorbido por la sangre.

El túbulo contorneado proximal es responsable de la mayor parte de la reabsorción de agua y solutos del filtrado glomerular. Las células de este sector del sistema tubular poseen forma cúbica y la superficie en contacto con la luz tubular posee miles de microvellosidades que incrementan enormemente el área disponible para la reabsorción. Contienen gran cantidad de mitocondrias, una indicación de su actividad bioquímica. Transportan activamente Na^+ (el Cl^- se difunde tras él pasivamente) y otros solutos, como glucosa y aminoácidos, fuera del líquido tubular. Casi todas las moléculas de glucosa y de aminoácidos filtradas de la sangre se reabsorben activamente a través de estas células y retornan al líquido intersticial. Esto determina que el agua se difunda por diferencia de osmolaridad. El agua y los solutos reabsorbidos hacia el líquido intersticial son captados por los capilares peritubulares y transportados a la sangre venosa que abandona el riñón. Pese al gran volumen de agua y solutos reabsorbidos por el túbulo contorneado proximal, la concentración final u osmolaridad del líquido que entra en el asa de Henle no es distinta de la del plasma, aunque su composición es bastante diferente.

Los seres humanos pueden producir una orina con una concentración cuatro veces mayor que la del plasma. Esta capacidad de concentración se debe a las asas de Henle, que funcionan como un sistema multiplicador contracorriente (El término contracorriente significa que el líquido tubular del descendente circula en dirección opuesta a la de la rama ascendente. Multiplicador se refiere a la capacidad que posee este sistema para producir un gradiente de concentración en la médula renal).

Los segmentos del asa de Henle poseen diferencias anatómicas y funcionales. Las células del asa descendente y las que están al comienzo de la ascendente son aplanadas, carecen de microvellosidades y poseen escasas mitocondrias. No se especializan en el transporte de sustancias. Sin embargo, a medida que continúa la rama ascendente, las células se especializan para el transporte activo. En conformidad con esto, el asa de Henle se divide en la *rama descendente delgada, la rama ascendente delgada y la rama ascendente gruesa* (Fig.4).

La rama ascendente gruesa absorbe activamente Cl^- (el Na^+ lo sigue pasivamente) desde el líquido tubular hacia el líquido intersticial circundante. Esta rama no es permeable al agua, por lo tanto, la reabsorción de sodio y cloro aumenta la concentración de estos solutos en el líquido intersticial.

La rama delgada descendente es permeable al agua pero no muy permeable al Cl^- y al Na^+. Debido a que el líquido intersticial circundante ha sido concentrado por el Cl^- y el Na^+ reabsorbidos de la rama ascendente vecina, el agua se difunde osmóticamente desde el líquido tubular en la rama descendente. En consecuencia, el líquido tubular se concentra cada vez más a medida que circula hacia la profundidad de la médula renal.

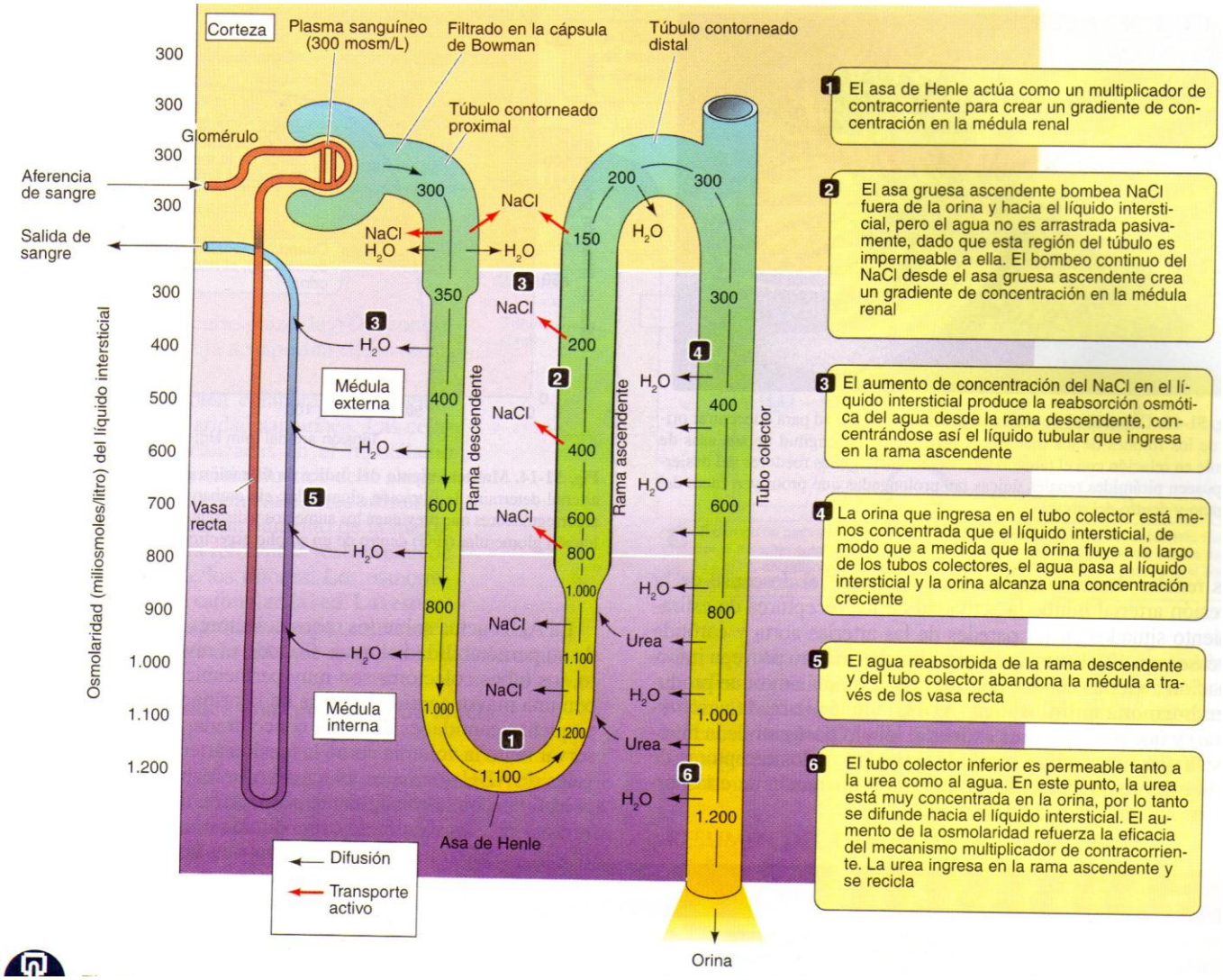


***Figura 4**: Concentración de la orina*

La rama delgada ascendente, como la gruesa, no es permeable al agua. Sin embargo, lo es al Cl^- y al Na^+ . A medida que el líquido tubular concentrado asciende por la rama delgada ascendente, adquiere una mayor concentración que el líquido intersticial circundante, de manera que el Cl^- y el Na^+ se difunden fuera de ella. Cuando el líquido tubular alcanza la rama gruesa ascendente, el transporte activo continúa movilizando Cl^- y el Na^+ desde el líquido tubular hacia el intersticial, como se vio.

Como resultado de esos procesos, el líquido tubular que alcanza el túbulo contorneado distal está menos concentrado que el plasma sanguíneo y los solutos que han quedado detrás en la médula renal han creado un gradiente de concentración en el intersticio circundante. El líquido intersticial de la médula renal se concentra cada vez más a medida que nos movemos desde el límite con la corteza y descendemos hasta los vértices de las pirámides renales.

El líquido tubular que ingresa en el tubo colector presenta igual concentración que el plasma, pero su composición es muy diferente.

El gradiente de concentración establecido en la médula renal por las asas de Henle permite que la orina se concentre en los tubos colectores. Éstos comienzan a nivel de la corteza renal y discurren por la médula renal antes de desembocar en el uréter, en los vértices de las pirámides renales. A medida que aumenta la concentración de los solutos en el líquido intersticial circundante, mayor cantidad de agua se reabsorbe de la orina en el tubo colector. Cuando llega al uréter, la orina alcanza su máxima concentración.

La capacidad de un mamífero para concentrar orina estará determinada por el máximo gradiente de concentración que pueda establecer en la médula renal. Una adaptación que poseen los mamíferos que viven en ambientes extremadamente áridos es el alargamiento de las asas de Henle. El gerbo del desierto, por ej., posee asas de Henle tan largas que su pirámide renal (posee una por riñón) se proyecta a una considerable distancia de la superficie cóncava del riñón y dentro del uréter. Estos animales son tan eficaces en la conservación del agua que pueden sobrevivir con el agua liberada por el metabolismo del alimento ingerido.

Los riñones poseen mecanismos para mantener el aporte de sangre y su presión independientemente de lo que ocurra en otras partes del organismo. Estos ajustes autorreguladores compensan las disminuciones de la frecuencia cardíaca o de la presión arterial para mantener elevado el *índice de filtración glomerular* (IFG).

Un mecanismo autorregulador es la vasodilatación de las arteriolas glomerulares aferentes cuando disminuye la presión arterial. La dilatación disminuye la resistencia en las

arteriolas y ayuda a mantener la presión arterial en los capilares glomerulares. Si la dilatación arteriolar no logra evitar el descenso del IFG, el riñón libera una enzima, la **renina**, a la circulación. Ésta actua sobre una proteína circulante para convertirla en una hormona activa, la **angiotensina.**

La angiotensina ejerce diversos efectos que contribuyen a normalizar el IFG:

- ✓ Provoca la vasoconstricción de la arteriola eferente, lo que aumenta la presión en los capilares glomerulares.
- ✓ Produce vasoconstricción de los vasos sanguíneos periféricos de todo el cuerpo, lo que determina la elevación de la presión arterial central.
- ✓ Estimula la corteza suprarrenal para liberar la hormona aldosterona. Ésta estimula la reabsorción de sodio por el riñón, determinando que la reabsorción de sodio sea más eficaz.
- ✓ Actúa sobre estructuras cerebrales para estimular la sed.

Cuando una persona pierde sangre, la presión arterial tiende a disminuir. Además de activar los mecanismos osmorreguladores descriptos arriba, este descenso de presión arterial inhibe la actividad de receptores de estiramiento situados en las paredes de las arterias aorta y carótida. Dichos receptores proveen información a células del hipotálamo que producen **hormona antidiurética** (ADH, o vasopresina) y que proyectan sus axones al lóbulo posterior de la hipófisis. Cuando se inhibe la actividad de los receptores de estiramiento, aumenta la producción y liberación de esta hormona.

La ADH aumenta la permeabilidad al agua en los tubos colectores:

- ✓ Cuando el nivel circulante es alto, los tubos colectores son muy permeables al agua, reabsorben una mayor cantidad de ésta de la orina y se producen pequeñas cantidades de orina concentrada.
- ✓ Cuando los niveles son bajos, el agua no se reabsorbe en los tubos colectores con la consiguiente producción de orina diluida.

La ADH controla la permeabilidad en los tubos colectores mediante la estimulación de la producción y de la actividad de las proteínas de membrana que forman los canales de agua, llamadas acuaporinas (las acuaporinas se encuentran, por ej. en la rama descendente del asa de Henle pero no en la ascendente).

En las células del tubo colector se encuentra una acuaporina particular, que es controlada por la ADH a corto y a largo plazo. En el largo plazo, los niveles de ADH influyen sobre la expresión del gen para esta acuaporina y a corto plazo, la ADH controla la inserción de la acuaporina en las membranas celulares.

La ADH también regula la osmolaridad sanguínea: si aumenta la osmolaridad, aumenta la liberación de ADH para reforzar la reabsorción de agua por parte de los riñones. Al producirse también una estimulación de la sed por los osmorreceptores, se diluye la sangre a medida que se expande su volumen.

Cuando la tensión arterial está anormalmente elevada, o cuando un corazón insuficiente no bombea sangre de manera eficaz, las aurículas comienzan a estirarse, lo que produce la liberación de una hormona peptídico, la **hormona natriurética auricular**. Ésta es liberada a la circulación y cuando alcanza el riñón produce una disminución de la reabsorción de sodio, provocando un aumento de la pérdida de sodio y agua, que disminuye la volemia y la tensión arterial.

Objetivo:

Realizar diversos análisis de orina en personas con distinto consumo de sales y nutrientes y comparar los resultados obtenidos.

Materiales:

Solución de cromato de K 20%	Pipeta 20 μl
10 pipetas de 1 ml	tubos
Solución de nitrato de Ag 2,9%	reactivos para uremia
Tiras reactivas multistik SG	guantes de latex
probetas de 500 ml	

Procedimiento:

Analice los datos del siguiente cuadro, que presenta las cantidades de 7 de las sustancias más importantes contenidas en la sangre, el mismo presenta además los cambios que sufre la concentración de tales sustancias desde el momento en que la sangre entra al glomérulo, hasta que sale por la vena renal, así como su concentración en la orina. La concentración de las sustancias va

cambiando a medida que el filtrado avanza hacia la pelvis renal. Las cifras representan las cantidades de cada sustancia contenidas en 100 l de sangre y 1 l de orina.

Sustancia	***Sangre arterial***	***Filtrado glomerular***	***Sangre Venosa***	***Orina***	***% reabsorbido en túbulo***
Agua (l)	100	50	99	1	
Cloruros (gr)	370	195	364	6	
Glucosa (gr)	70	35	70	0	
Urea (gr)	30	15	20	10	
Acido úrico (gr)	4	2	3.5	0.5	
Calcio (gr)	10	5	9.85	0.15	
Creatinina (gr)	1	0.5	0.5	0.5	

Para cada una de las 7 sustancias calcule el porcentaje que es reabsorbido en el túbulo por la red de capilares que lo rodean.

- ¿Todas las sustancias se absorben en cantidades iguales?
- ¿Cuáles son las dos sustancias que el riñón elimina de la sangre en mayor cantidad?
- ¿Cuáles son las sustancias que regresan de los túbulos hacia la sangre en mayor cantidad?
- ¿Cómo se modificarían estos valores por una gran ingestión de agua?
- ¿Cómo lo harían por una dieta con alto contenido en sales?
- ¿Cómo en una dieta alta en proteínas?
- ¿Cómo en una dieta rica en glucosa?

Con el objetivo de probar el efecto de la ingestión de diferentes alimentos sobre la composición de la orina, se pedirá a varios voluntarios que durante los 2 o 3 días anteriores a la prueba y hasta el momento del práctico, ingieran alguna de las dietas siguientes:

- **Dieta 1: Alta en proteínas:** Deberán evitarse los almidones (pastas, pan, papas), las grasas y los azúcares. Coma carne, huevo, queso descremado, leche, galletas o pan de trigo entero.
- **Dieta 2: Baja en sal:** Tome gran cantidad de agua y asegúrese de que los alimentos ingeridos contengan tan poca sal como sea posible.
- **Dieta 3: Alta en sal:** A su dieta habitual agregue la mayor cantidad de sal que le resulte tolerable.
- **Dieta 3: Alta en glucosa:** A su dieta normal agregue varios dulces, caramelos, frutas, jaleas, etc.
- **Dieta 4: Normal:** Coma lo que acostumbra, tratando de hacer una dieta balanceada.

– Cada estudiante deberá vaciar la vejiga antes de iniciar las dietas, recoger la orina, rotular y mantener en heladera (no en freezer) hasta el día del práctico. Ésta servirá como testigo.

– El día del trbajo práctico (jueves 18/10) se tomará otra muestra de orina, que se analizará en el laboratorio. No deben ingerirse otros alimentos o líquidos durante el experimento.

– Todos los datos se anotan en la hoja de resultados.

• ***Análisis de orina****:*

Se anota el aspecto, el olor y color de la orina, luego se hacen las mediciones que corresponden a las tiras reactivas multistik SG; densidad, pH, glucosa y otros que interesen.

•***Medición de cloruros****:*

Se ponen 0,5 ml de orina en un tubo de ensayo. Se añade una gota de solución de cromato de potasio 20% con un gotero, luego solución de nitrato de plata 2,9%, empleando otyro gotero. La mezcla se agita continuamente durante la adición del nitrato de plata, se cuentan las gotas de nitrato necesarias para que la solución pase de amarillo claro a pardo. Cada gota de la solución necesaria para producir el cambio de color representa aproximadamente 1 g. de cloruro de sodio en una muestra de orina.

NaCl (gr) = volumen de la muestra x gotas de NO_3Ag que se añadieron

Se calculan los gr. de NaCl en la orina control y en cada una de las muestras sucesivas de orina.

- ***Medición de urea**:*

La ureasa descompone específicamente la urea produciendo CO_2 y amoníaco. Este reacciona en medio alcalino con salicilato e hipoclorito para dar indofenol de color verde.

Reactivos provistos:

Reactivo 1 concentrado: solución buffer fosfatos 200 mmol/l, pH 7, ác. salicílico 750mmol/l, nitroprusiato de sodio 20mmol/l, EDTA 10mmol/l.

Reactivo 2 concentrado: solución de hipoclorito de sodio 10 mmol/l en hidróxido de sodio 0,1mmol/l.

Ureasa: ureasa > 75 U/ml en solución glicerinada.

Standard: solución de urea 0,60 g/l.

Instrucciones:

Reactivo 1: preparar diluyendo 1 parte de reactivo 1 concentrado + 4 partes de agua destilada.

Reactivo 2: preparar diluyendo 1 parte de reactivo 2 concentrado + 4 partes de agua destilada.

Reactivo 1 + ureasa: se prepara agregando 4 ml de ureasa cada 100 ml de reactivo 1.

- Diluir la orina en agua destilada o solución fisiológica de acuerdo a la densidad

densidad hasta 1,015	**1/10**
densidad de 1,016 a 1,025	**1/20**
densidad mayor de 1,025	**1/40**

- En un tubo para fotocolorímetro colocar 10 □l de standard de urea con 1ml de Rvo1+ureasa, mezclar e incubar 5 min. a 37ºC o 10 min. a temperatura ambiente.

- En otro tubo para fotocolorímetro colocar 10 □l de orina con 1ml de Reactivo1+ureasa, proceder de la misma forma. A continuación agregar a cada tubo 1ml de Reactivo2, incubar otros 5 min. a 37ºC o 10 min. a temperatura ambiente.Comparar el color obtenido en la muestra de orina con el color del standard de urea, estimando así el contenido de urea de la muestra.

Resultados:

Muestra Testigo	Aspecto	Color	Densidad	pH	Glucosa	Cloruros	Urea	Otros
1								
2								
3								

Discusión y conclusiones:

- Según la hipótesis planteada por Ud. inicialmente, hay concordancia o no en los valores obtenidos y los esperados? Cuál es la explicación en cada caso?

Bibliografía:

Purves, W.; Sadava, D., Orians, G. y Heller, H. 2001. Vida. La ciencia de la Biología. 6ta Edición. Ed. Panamericana.

Schmidt-Nielsen, K. 1984. Fisiología animal.. Ed. Omega.