



PRÁCTICAS SECAS DE LABORATORIO BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

PRIMER BLOQUE

2023-2024

**DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

Elaboración:

Dra. Rebeca Milán Chávez

Dra. Sara Morales López

Dra. Norma Lilia Morales García

ÍNDICE

Práctica	Página
1. Soluciones	3
2. Regulación del equilibrio ácido-base por los riñones después del ejercicio muscular intenso y de la ingestión de bicarbonato de sodio	6
3. Cinética enzimática. Efecto de la concentración del sustrato sobre la velocidad de reacción enzimática	8

Práctica 1

Soluciones

Objetivos

Al terminar la práctica el estudiante:

1. Reconocerá las diferencias correspondientes a las soluciones porcentuales y molares que se emplean en la práctica clínica.
2. Realizará los cálculos y procedimientos para preparar soluciones porcentuales, y molares, así como las diferentes diluciones de éstas.
3. Reconocerá algunas de las soluciones utilizadas en medicina (solución isotónica, Ringer).

Es necesario para realizar las actividades propuestas revisar la introducción de la práctica que se encuentra en el Manual de Prácticas.

ACTIVIDAD 1

En la práctica clínica se emplean diferentes tipos de soluciones que le permiten a los médicos mantener el equilibrio hidroelectrolítico de los pacientes.

La hiponatremia en hospitalizados se presenta cuando los valores séricos de sodio son <135 mEq/L. El uso de soluciones parenterales que se emplean en el hospital debe garantizar que el paciente no presente pérdida de agua corporal, así como de electrolitos. Pero no solamente se tiene que tomar en cuenta la pérdida de electrolitos que pueden ocasionar un desequilibrio, sino que también la osmolaridad que presentan distintas soluciones que se emplean en la clínica.

Las diversas soluciones que se emplean en la práctica clínica expresan la concentración de iones en mEq/L y otros compuestos presentes se pueden mostrar como una concentración porcentual, o bien, molar, lo cual se asocia a la osmolaridad de dichas soluciones. Dado que la aplicación de estas soluciones puede modificar la osmolaridad de los líquidos corporales de los pacientes, es importante que los médicos conozcan cómo calcular la osmolaridad de las soluciones cuando se emplean en la práctica clínica.

A continuación, se le proporciona la información de los componentes de dos soluciones. Realice las operaciones necesarias para completar las siguientes tablas:

Solución 1: 77 mEq/L NaCl + 5 % dextrosa (glucosa)

Compuesto	mEq/L	mM	Porcentual
NaCl	77		
Dextrosa			5

Solución 2: 150 mEq/L NaCl + 0.5% dextrosa (glucosa)

Compuesto	mEq/L	mM	Porcentual
NaCl	150		
Dextrosa			0.5

1.1 ¿Cuál es la osmolaridad plasmática?

1.2 Considerando sus cálculos de NaCl, ¿Cuál de las dos soluciones es isotónica con respecto al plasma?

1.3 Al adicionar la glucosa a la solución, ¿cuál es la osmolaridad de las dos soluciones?

ACTIVIDAD 2

Observe la figura 1 con eritrocitos humanos colocados en soluciones con diferente osmolaridad.

2.1 Escriba qué tonicidad tendría en cada inciso.

2.2 Explique qué proceso se manifiesta en los eritrocitos.

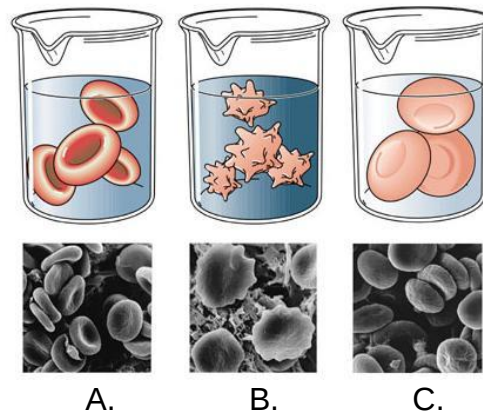


Figura 1. Cambios en la estructura de eritrocitos.
Modificado de <https://sites.google.com/site/lacelulaunidadfundamental/osmosis>.

ACTIVIDAD 3

Usted tiene 3 soluciones comerciales de suero para “rehidratar”

MARCA A		MARCA B	
Cloruro de potasio	0.15 %	cada 100 mL	
Cloruro de sodio	0.35 %	Cloruro de potasio	149 mg
Citrato trisódico dihidratado	0.29%	Cloruro de sodio	12 mg
Glucosa	2%	Cloruro de calcio dihidratado	30 mg
		Glucosa	5 g

MARCA C	
Potasio	3.45 mEq/L
Sodio	19.86 mEq/L
Cloruro	23.31 mEq/L
Glucosa	361.11 mEq/L

3.1 Calcule la osmolaridad de cada suero

	Marca A	Marca B	Marca C
Osmolaridad (mOsm/L)			

3.2 En un paciente adulto con deshidratación leve a causa de un síndrome diarreico, usted elige la marca A (ya que reconoce que se trata de vida suero oral). Seleccione la justificación por la cual es la mejor opción:

- a) La concentración de calcio de la MARCA B es mejor para reforzar la masa ósea del paciente y no para hidratar.
- b) La elevada concentración de glucosa en la MARCA B y C, ejerce un efecto osmótico en el lumen intestinal lo cual favorece a la disminución de consistencia de las evacuaciones.
- c) La elevada concentración de glucosa de la MARCA C, favorece el incremento de expresión de los GLUT hidratando y nutriendo al paciente.

Práctica 2

Regulación del equilibrio ácido-base por los riñones después del ejercicio muscular intenso y de la ingestión de bicarbonato de sodio

Objetivos

Al terminar la práctica el estudiante:

1. Comprenderá el papel de los riñones en el mantenimiento del equilibrio ácido-base en una situación de alcalosis metabólica y en una de acidosis metabólica.
2. Observará los datos en la variación de la concentración de hidrogeniones en un individuo que ha realizado ejercicio muscular intenso y en otro que ha ingerido una carga de bicarbonato, mediante la determinación del pH en orina.
3. Relacionará los resultados obtenidos con los cambios metabólicos originados por el ejercicio muscular intenso.

Es necesario para realizar las actividades propuestas se revise la introducción de la práctica que se encuentra en el Manual de Prácticas.

ACTIVIDAD 1

Realizar un mapa conceptual mencionando la función del riñón en la regulación del equilibrio ácido-base y cuál es el efecto en el caso de una alcalosis y de una acidosis metabólica.

ACTIVIDAD 2

Analizar los datos de la siguiente tabla y describir cuál de las dos condiciones es la que permite observar el cambio y ajuste del pH en los diferentes voluntarios.

Voluntario	Condición	Basal	15 minutos	30 minutos	45 minutos	60 minutos
		pH en orina				
1	Bicarbonato	5.85	6.68	7.18	7.50	7.52
2	Bicarbonato	6.65	6.92	7.45	7.34	7.20
3	Bicarbonato	5.73	6.10	6.80	7.06	5.30
4	Bicarbonato	6.20	6.30	7.52	7.77	7.77
5	Ejercicio	6.33	5.62	5.43	5.71	5.75
6	Ejercicio	6.78	4.82	5.60	6.18	6.70
7	Ejercicio	7.20	5.72	5.46	6.40	6.70
8	Ejercicio	6.53	4.68	4.98	5.18	4.34

ACTIVIDAD 3

Completar y analizar las siguientes gasometrías:

GASOMETRÍA 1	GASOMETRÍA 2	GASOMETRÍA 3
pH:	pH: 7.4	pH: 7.15
pCO ₂ : 32 mmHg	pCO ₂ : 28.7 mmHg	pCO ₂ :
HCO ₃ ⁻ : 11.2 mEq/L	HCO ₃ ⁻ :	HCO ₃ ⁻ : 11.2 mEq/L
Trastorno que presenta:	Trastorno que presenta:	Trastorno que presenta:

ACTIVIDAD 4.

Lea la siguiente viñeta clínica y conteste a las preguntas que se le piden:

Paciente femenino de 58 años es llevado al servicio de urgencias presentando náusea severa, vómito y dolor abdominal. La semana anterior se le realizó una resección laparoscópica estomacal debido a una perforación gástrica. Su historia médica hace constar de enfermedad úlcera péptica tratada, diabetes tipo 2 e hipertensión. En la sala de emergencia, la paciente presenta signos de hipovolemia y abdomen distendido. Los datos de laboratorio son creatinina 0.7 mg/dL, potasio 4.8 mEq/L, glucosa 110 mg/dL, sodio 129 mEq/L, cloro 82 mEq/L y albúmina 5 g/dL. La gasometría mostró: pH 7.29, pCO₂ 15.5 mmHg, HCO₃⁻ 7 mM, lactato 12 mg/dL.

4.1 ¿Qué padecimiento ácido-base presenta la paciente?

4.2 ¿Cuál es el valor de la brecha aniónica?

Práctica 3

Cinética enzimática

Efecto de la concentración del sustrato sobre la velocidad de reacción enzimática

Objetivos

Al terminar la práctica el estudiante:

1. Explicará el efecto de la concentración del sustrato sobre la velocidad de una reacción enzimática.
2. Calculará por métodos gráficos la velocidad máxima y la constante de Michaelis de una reacción enzimática.
3. Conocerá los diferentes tipos de inhibidores enzimáticos que existen y estudiará su efecto sobre la K_m y la $V_{máx}$.

Es necesario para realizar las actividades propuestas revisar la introducción de la práctica que se encuentra en el Manual de Prácticas.

ACTIVIDAD 1

Para observar el efecto que tienen la concentración de sustrato sobre la actividad enzimática, es necesario realizar una curva con diferentes concentraciones del sustrato. En la Tabla 1 se encuentra indicado el volumen adicionado de glucosa; en los tubos 5 al 8 la concentración es de 40 mM (solución A) y en los tubos del 1 al 4 es de 4 mM (solución B).

1.1 Tomando en cuenta las concentraciones de las soluciones A y B. Calcule la concentración de glucosa (sustrato) en cada uno de los tubos. Considere que el volumen final en cada tubo es de 4 mL ya que además del agua se adicionó a todos los tubos 3 mL de la solución de enzima.

Tabla 1. Concentración de sustrato

# Tubo	H ₂ O (mL)	Solución de glucosa	Volumen de la solución de glucosa (mL)	Concentración de glucosa μ M
1	1.0	B	0	
2	0.90		0.10	
3	0.75		0.25	
4	0.50		0.50	
5	0.90	A	0.10	
6	0.75		0.25	
7	0.50		0.50	
8	0		1.0	

Tabla 2. Datos obtenidos en la práctica de cinética enzimática.

# TUBO	Concentración de sustrato (μmol de glucosa L^{-1})	Velocidad de la reacción (unidades Klett/min)	Velocidad de la reacción con el inhibidor (unidades Klett/ min)
1	Coloque la concentración de glucosa (μM) que obtuvo en la tabla 1 para cada tubo	0	0
2		40	20
3		58	32
4		95	65
5		125	90
6		160	105
7		185	140
8		200	162

Después de completar cada tabla:

1.1 Graficar los datos obtenidos en la Tabla 2 (considere que el tiempo de incubación de la reacción fue de 20 min).

1.2 Realizar una gráfica de Lineweaver-Burk con los valores de $1/v$ Vs $1/[S]$.

1.3 A partir del gráfico doble recíproco, calcular el valor de la velocidad máxima ($V_{\text{máx}}$) y de la constante de Michaelis (K_m) con y sin inhibidor.

1.4 Determinar el tipo de inhibición de acuerdo con las gráficas del punto anterior.

El estudio de las enzimas no solo permite entender la importancia que tienen en el metabolismo celular y conocer cómo se catalizan diferentes reacciones, sino que además se emplean como blanco farmacológico o marcadores de ciertas enfermedades.

ACTIVIDAD 2

Masculino de 44 años que es encontrado por sus familiares con un cuadro severo de desorientación; el paciente refiere visión borrosa. Como antecedente importante, una noche antes compró una botella de tequila de un expendio cerca de su hogar. A la exploración física se encuentra consciente, orientado en persona y desorientado en tiempo, lugar. Frecuencia cardíaca de 120 latidos por minuto, frecuencia respiratoria: 30 respiraciones por minuto, abdomen sin alteraciones y reflejos osteotendinosos normales. Fondo de ojo: alterado sugerente a pérdida de la visión.

Diagnósticos: Intoxicación por metanol y disminución de visión secundaria a intoxicación.

Una de las secuelas más frecuentes de la intoxicación por metanol es la ceguera, la cual se debe a la formación del ácido fórmico como producto del metabolismo del metanol. Ver figura1. El ácido fórmico ejerce acción citotóxica sobre los fotorreceptores (bastones y conos).

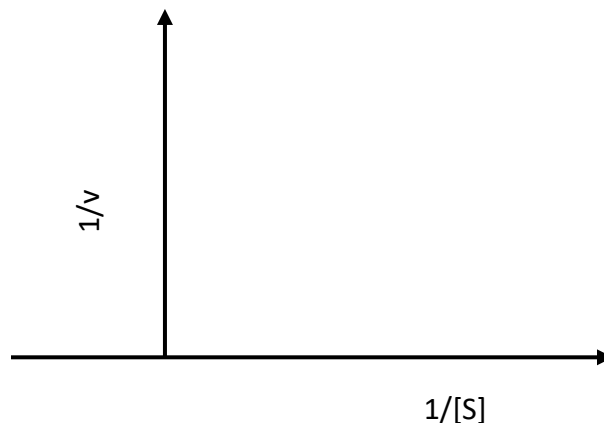


Figura 1. Comparación del metabolismo del etanol Vs metanol.

El tratamiento para la intoxicación por metanol es la administración de un compuesto que **compita con el sitio activo** de la enzima encargada de la degradación del metanol.

2.1. Con el uso de etanol ¿cuál es el parámetro cinético que se modificaría?

2.2. Esquematice en una gráfica de doble recíproco la actividad de la enzima en presencia de metanol y etanol.



ACTIVIDAD 3

A continuación, se presentan dos viñetas clínicas. Con base en el diagnóstico que se proporciona, complete la tabla que se encuentra al final.

CASO 1

Paciente masculino de 45 años que inició con mareo y sudoración excesiva (diaforesis) después de hacer una mudanza; 10 minutos después comenzó con dolor en el pecho del lado izquierdo y dificultad para respirar. Por esta razón llega a urgencias con ayuda de sus familiares. Exploración física: IMC 35 Kg/m², 120 latidos por minuto, 25 respiraciones por minuto, 160/90 mmHg de presión arterial. Antecedentes personales patológicos: tabaquismo positivo desde los 20 años a razón de 6 cigarrillos al día, dislipidemia diagnosticada hace 6 meses sin tratamiento. En la sala de urgencias se le realiza un electrocardiograma que revela un patrón que correlaciona con isquemia en ventrículo derecho. Se inicia protocolo administrándole ácido acetilsalicílico y nitroglicerina, así como el monitoreo continuo de signos vitales y electrocardiograma.

Diagnóstico: Síndrome coronario agudo.

CASO 2

Paciente femenino de 35 años acude a consulta porque hace 2 días inicio con fiebre de 38°C por la noche, se acompaña de dolor abdominal que se incrementa cuando se recuesta de lado derecho, al caminar y al toser. En la exploración física se encuentra dolor a la palpación media en cuadrante superior derecho, se delimita el hígado a 3 cm debajo del borde costal derecho. Usted decide realizar un ultrasonido donde se observa hepatomegalia y una lesión redonda de 10 cm de diámetro de bordes bien delimitados hipoeoica que sugiere absceso hepático. En sangre se encuentran presentes anticuerpos contra *E. histolytica*. Se inicia tratamiento con metronidazol y se sigue en vigilancia para evitar el drenaje quirúrgico del absceso.

Diagnóstico. Absceso hepático amebiano.

3.1 Escriba la(s) enzima(s) de escape que podría encontrar elevadas en sangre en cada caso

CASO 1	CASO 2

3.2 Con respecto al caso 1 ¿Cuál enzima de escape tiene mayor duración en el plasma e indique el tiempo que permanece?**3.3** ¿Se deben considerar a las enzimas de escape hepáticas como marcadores en el diagnóstico de daño biliar?