



# **PRÁCTICAS SECAS DE LABORATORIO BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR**

**SEGUNDO 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

<b>Práctica</b>	<b>Página</b>
4. Estudio del bombeo de protones por levaduras. Efecto de los inhibidores y de los desacoplantes sobre la cadena de transporte de electrones	3
5. Determinación de glucosa en sangre	7

## Práctica 4

### Estudio del bombeo de protones por levaduras. Efecto de los inhibidores y de los desacoplantes sobre la cadena de transporte de electrones

#### Objetivos

Al terminar la práctica el estudiante:

1. Relacionará el consumo de glucosa con los cambios de pH producidos por las levaduras.
2. Describirá las vías por las cuales la glucosa genera los cambios de pH.
3. Interpretará el efecto de los inhibidores y los desacoplantes sobre la salida de protones.

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

#### ACTIVIDAD 1

**1.1** Hacer una gráfica de cada uno de los experimentos, utilizando los valores de las lecturas de pH contra tiempo (Tabla 1).

**1.2** Analizar el significado de los cambios de pH en el experimento control, con dinitrofenol como desacoplante y con azida de sodio como inhibidor del complejo IV de la cadena de transporte de electrones.

**1.3** Hacer una relación de las vías que producen estos cambios; tome en cuenta que las levaduras tienen dos ATPasa de protones: una ubicada en la membrana mitocondrial que se encarga de sintetizar ATP y la otra en la membrana plasmática, cuya función es similar a la bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  en las células de los mamíferos que se encarga de mantener la homeostasis celular, regulando la concentración de iones en la célula.

Tabla 1.

Tiempo (minutos)	CONTROL	DINITROFENOL	AZIDA DE SODIO
	pH		
0	7.0	6.8	6.8
5	6.7	6.5	6.7
10	6.4	6.3	6.4
15	6.3	6.2	6.3
20	6.1	6.1	6.2
30	5.8	5.9	6.1
40	5.6	5.7	6.0

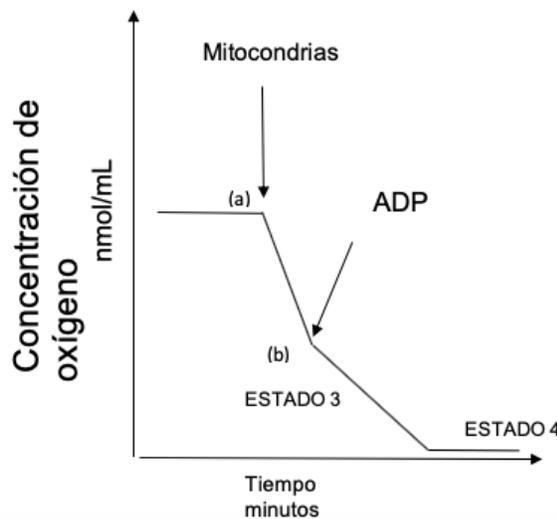
Una de las funciones de las mitocondrias es sintetizar ATP (fosforilación oxidativa) debido al gradiente de protones que se genera al bombearlos de la matriz mitocondrial al espacio intermembranal. Este gradiente se genera por los complejos de la cadena respiratoria en un proceso que involucra el bombeo de protones, mientras se da la transferencia de electrones hasta la molécula de oxígeno que es su aceptor final.

En las mitocondrias aisladas se puede determinar el consumo de oxígeno mediante la adición de varios sustratos e inhibidores y al graficarlo se puede analizar los diversos estados de la respiración mitocondrial (Gráfica 1). Cuando se realiza la adición de mitocondrias aisladas en un buffer que contiene succinato como sustrato además de Pi (a), el oxígeno disminuye al agregar ADP (b), entrando en un estado fosforilante, es decir, de síntesis de ATP (estado 3).

En la célula, las vías metabólicas responden a los requerimientos de energía, la relación entre la cantidad de ADP (responsable de regular la velocidad de funcionamiento de la cadena respiratoria) y ATP (ADP/ATP) es una forma de expresarlo; si existe más ADP, indica que se está consumiendo el ATP en los procesos celulares, por lo cual las vías metabólicas que producen oxidación de las moléculas se incrementan, con el fin de tener pares de hidrógenos que se transportan a la cadena respiratoria para generar el gradiente electro-químico de protones y acoplarlo a la síntesis de ATP. Estos procesos de oxido-reducción pueden ser representados por la relación  $NAD^+/NADH$ , que también indirectamente permitirá conocer las condiciones energéticas de la célula.

En caso de agregar inhibidores de la cadena transportadora de electrones el consumo de oxígeno se frenaría, ya que no existiría la transferencia de éstos hacia el oxígeno.

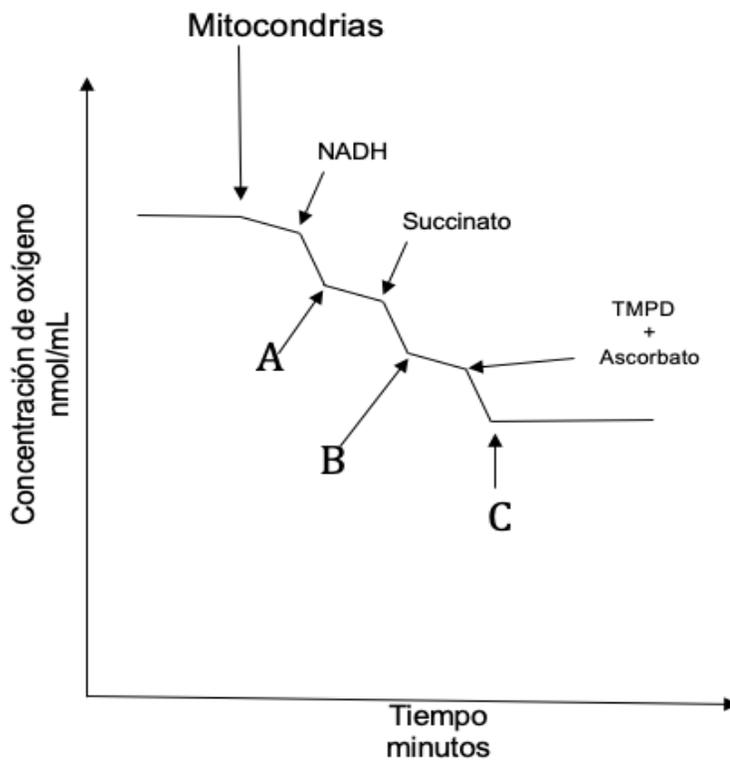
**Gráfica 1**



## ACTIVIDAD 2

2.1 En la gráfica 2 se muestra el consumo de oxígeno de la mitocondria con diferentes sustratos e inhibidores. Coloque en los espacios correspondientes, el probable inhibidor (letras) que se adicionó en este trazo.

Gráfica 2



Respuestas

A: \_\_\_\_\_

B: \_\_\_\_\_

C: \_\_\_\_\_

### ACTIVIDAD 3

3.1 Tomando en cuenta los componentes de la cadena respiratoria, así como los inhibidores y desacoplantes que actúan en sus componentes; complete la siguiente tabla:

<b>NOMBRE</b>	<b>FUNCIÓN</b>	<b>SITIO DE ACCIÓN</b>
Rotenona	Inhibidor	
		Complejo I
Antimicina A		
Malonato		
	Inhibidor	Complejo IV
	Desacoplante	Elimina el gradiente de H <sup>+</sup>
	Inhibidor	Fracción OSCP de ATP sintasa
Azida de sodio		

## Práctica 5

### Determinación de glucosa en sangre total

#### Objetivos

Al terminar la práctica el estudiante:

1. Describirá el metabolismo de la glucosa en sujetos sanos en diferentes condiciones.
2. Discutirá los cambios de la glucosa y la insulina después de la ingesta de alimentos y en condiciones de ayuno.
3. Interpretará las curvas de índice glicémico obtenidas con glucosa de diferentes fuentes.

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

#### ACTIVIDAD 1

1.1 Con los datos de la curva de índice glicémico que se presentan en la Tabla 1, los estudiantes discutirán la diferencia en los valores de glucosa debida a la ingesta de diferentes tipos de alimentos.

**Tabla 1.** Curva de tolerancia a la glucosa después de la ingesta de diversos alimentos.

Tiempo (minutos)	Glucosa capilar (mg/dL)		
	15 g de glucosa	15 g de sacarosa	15 g de cereal
0	85	80	80
30	110	80	82
90	90	110	85
60	80	95	80

#### ACTIVIDAD 2

Paciente de 50 años que inició hace 6 meses consumiendo hasta 2 litros de una bebida que le recomendaron para tener más energía; esta bebida está endulzada con fructosa.

2.1 ¿Qué GLUT es el que ingresa la fructosa a la célula?

**2.2** ¿Cómo se encontrará la glicemia del paciente después de ingerir medio litro de la bebida con fructosa?; aumentada, disminuida o normal ¿Por qué?

**2.3** El nivel de insulina en sangre después de 30 min de la toma de su bebida, ¿estará aumentada o disminuida? ¿Por qué?

**2.4** La fructosa puede ingresar a la glucólisis en dos niveles. Mencione cuál de ellos propicia la formación de ácidos grasos.

### **ACTIVIDAD 3**

Paciente femenino de 14 años se presenta para realizarse exámenes de laboratorio rutinario ya que ha notado que su cabello se ha ido adelgazando. En los estudios de laboratorio se encontró que presentaba glucosa 9.3 mM y Hemoglobina glucosilada 78 mM (9.3%). La paciente presenta obesidad con un índice de masa corporal 32 kg/m<sup>2</sup>. Como antecedentes heredo familiares de importancia: los dos padres fueron diagnosticados con diabetes tipo 2.

**3.1** Con estos datos, ¿puede proponer el diagnóstico de diabetes? Explique su respuesta.

**3.2** Con base en los datos de laboratorio calcule la concentración de glucosa en ayunas en mg/dL.

### **ACTIVIDAD 4**

Buscar la información correspondiente a la hemoglobina glucosilada.

**4.1** ¿Cuáles son los valores de normalidad?

**4.2** ¿Con que temporalidad se puede valorar y por qué?