

PRÁCTICAS DE LABORATORIO

2026-2027

Práctica 1

Soluciones

Tiempo de la práctica: 105 minutos

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).*

Responda las siguientes preguntas:

- 1.- ¿Qué es una solución?
- 2.- ¿Cuántas clases de soluciones existen?
- 3.- ¿Qué significan los siguientes términos: mol, solución molar, solución osmolar?
- 4.- ¿Qué significan: v/v, p/v, p/p?
- 5.- ¿Qué es una solución isotónica?
- 6.- ¿Cómo se calcula la osmolaridad de una solución?
- 7.- ¿Qué les pasa a los eritrocitos cuando se ponen en contacto con soluciones salinas de diferente osmolaridad?
- 8.- ¿Qué se entiende por dilución y dilución seriada de las soluciones?

INTRODUCCIÓN

Las soluciones son mezclas homogéneas de dos o más sustancias. La sustancia que se disuelve se llama soluto (la cual se encuentra en menor cantidad) y el medio en que se disuelve es el solvente o disolvente, presente en mayor cantidad (en muchas ocasiones, una solución consta de varios solutos). En el ser humano los solutos están representados por iones inorgánicos (Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+}) y moléculas orgánicas de mayor peso molecular (glucosa, urea, proteínas). El solvente universal en los sistemas biológicos es el agua, que en el caso de la especie humana representa aproximadamente el 55-70% del peso corporal total en un individuo adulto promedio. Estos componentes se distribuyen en dos compartimientos principales, intracelular y extracelular, como se muestra en la figura 1.1.

El cuerpo se mantiene en un equilibrio hídrico, lo que significa que cada uno de los compartimentos tiene las cantidades necesarias de agua y solutos. Sin embargo, cabe recordar que el intercambio de agua y solutos entre los diferentes compartimentos es continuo a través de la filtración, la osmosis y otros procesos físicos; el volumen de líquido en cada compartimento permanece casi constante sin que se altere el equilibrio hidroelectrolítico.

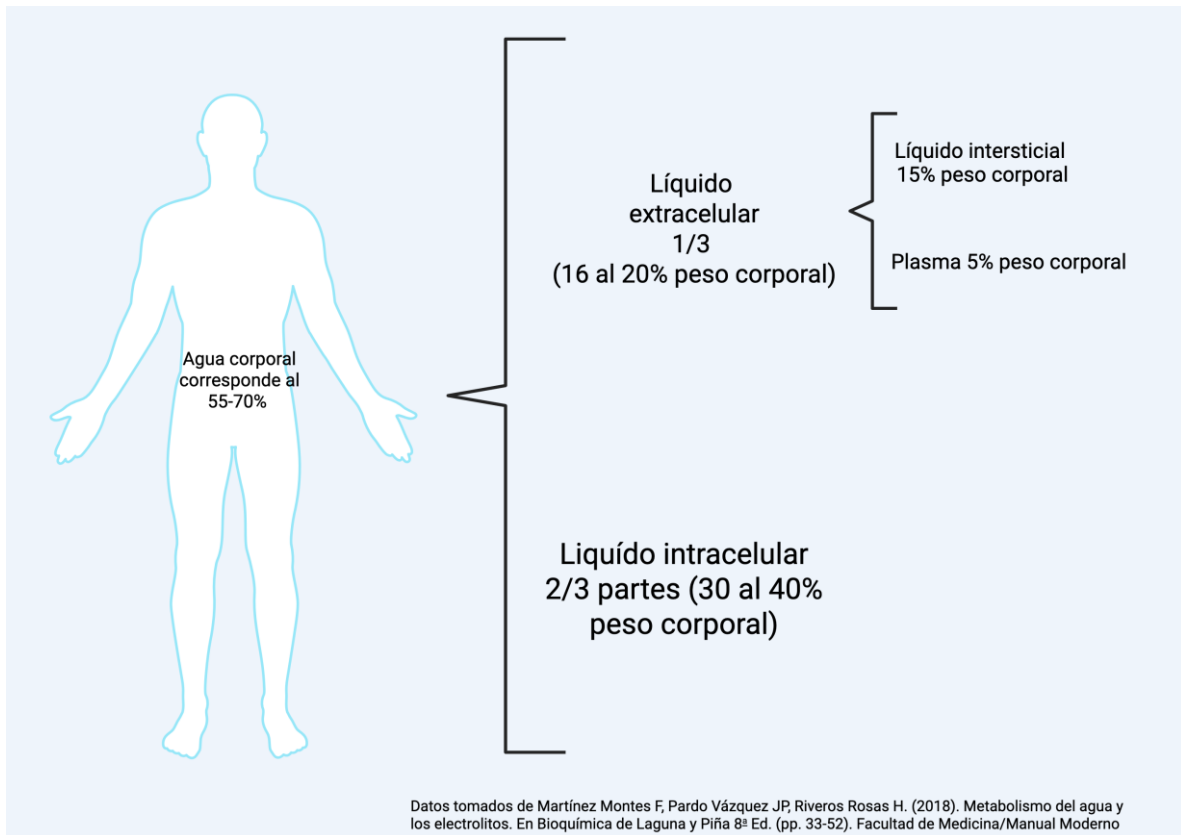


Figura 1.1. Distribución del agua corporal en el ser humano. Elaborada en <https://BioRender.com>

La ósmosis constituye el medio primario para el desplazamiento del agua entre el líquido intracelular y el intersticial, y la concentración de solutos en ellos – dada como osmolaridad – determina la dirección en la cual se va a desplazar el agua.

La osmolaridad de las soluciones refleja la concentración total de los solutos osmóticamente activos disueltos en el solvente, se define a la osmolaridad como el número de moles de soluto por litro de solución (un osmol representa un mol de partículas osmóticamente activas, independientemente de su naturaleza química).

La osmolaridad del plasma sanguíneo humano es de 290-310 mOsm/L (1 Osmol = 1000 mOsmoles), y se puede medir con un osmómetro o calcularse mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{mOsm}}{\text{L}} = 2 (\text{Na}^+ \text{mM}) + \frac{\text{Glucosa } (\frac{\text{mg}}{\text{dL}})}{18} + \frac{\text{BUN } (\frac{\text{mg}}{\text{dL}})}{2.8}$$

En esta fórmula, el factor de 2 que multiplica a la concentración de sodio considera la concentración de los aniones (principalmente los iones cloruro y bicarbonato) que contrarrestan la carga positiva de los cationes y que también son osmóticamente activos. Las concentraciones de glucosa y BUN (Blood Urea Nitrogen) están dadas en mg/dL y los números 18 y 2.8 que aparecen en el denominador respectivo representan el resultado final de los factores de conversión para transformar de mg/dL a mOsm/L.

Para mantener o restablecer el equilibrio hídrico y electrolítico en un paciente se necesitan determinadas soluciones, las cuales se han de calcular y preparar con precisión; éstas van desde el simple suministro de agua y sal (en el caso de pacientes con deshidratación o quemadura mayor a 2º grado), hasta la corrección de posibles deficiencias de otros iones - por ejemplo potasio - o bien aporte de aminoácidos o calorías en forma de solución glucosada (para pacientes en terapia intensiva o falla orgánica múltiple). Algunas de estas soluciones requieren además un compuesto amortiguador para tratar estados de acidosis o alcalosis. Para poder realizar un cálculo adecuado de las soluciones que se necesita se deben considerar los siguientes aspectos:

1. Existen compartimientos celulares (intracelular y extracelular) en los que se lleva a cabo el intercambio de sustancias entre ellos para mantener un equilibrio integral (homeostasis).
2. El agua corporal total (TBW) de un individuo depende del porcentaje de masa muscular y del tejido graso, como se muestra en la tabla 1.1.

Agua Corporal Total (%)			
Complexión	Lactante	Hombre	Mujer
Delgado	80	65	55
Promedio	70	60	50
Obeso	65	55	45

Tabla 1.1. Porcentaje de agua corporal total por género y complexión. Hall JE. (2021) Unidad V Los líquidos corporales y los riñones. Cap. 31 Regulación ácido-básica. En Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica 14ª (pp. 1000-1055) Elsevier España.

Ingresos	mL	Pérdida	mL
Líquido ingerido	2100	Insensible: piel	350
Del metabolismo	200	Insensible: pulmones	350
		Sudor	100
		Heces	100
		Orina	1400
Total	2300	Total	2300

Tabla 1.2. Ingresos y pérdida de agua diarios (mL/día). Hall JE. (2021) Unidad V Los líquidos corporales y los riñones. Cap. 31 Regulación ácido-básica. En Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica 14ª (pp. 1000-1055) Elsevier España.

Con base en las consideraciones anteriores, para un individuo masculino de 70 kg de peso de complexión promedio:

$$TBW = (\text{peso Kg}) (\% \text{ agua corporal total})$$

$$TBW = (70\text{Kg}) (0.60) 42 \text{ litros}$$

Si se tienen 42 litros de agua corporal total y el volumen de líquido extracelular (LEC) corresponde al 40%, entonces:

$$42 \text{ litros} \text{-----} 100\% \text{ del agua corporal total}$$

$$x \text{-----} 40\% \text{ del LEC}$$

$$\frac{(42 \text{ litros})(40\%)}{100\%} = 16.8 \text{ L de LEC}$$

3. En cada compartimento los electrolitos se distribuyen de manera diferente; esto se debe a la permeabilidad selectiva de las membranas celulares, la presencia de transportadores y canales que permiten su difusión. La concentración de solutos determina la distribución del agua y la osmolaridad de la solución. Por ejemplo, en el LEC el sodio representa un porcentaje importante de las partículas osmóticamente activas, por lo que si hay cambios en su concentración cambiara la osmolaridad debido al desplazamiento del solvente hacia otros compartimentos.

4. Necesidades de mantenimiento: para que se metabolice una caloría se necesita 1 mL de agua, por lo que las necesidades calóricas – y por lo tanto de agua - son proporcionales al peso corporal. Los datos que se mencionan a continuación pueden servir de guía para el cálculo de los requerimientos de agua:

0 a 10 Kg de peso corporal → 100 cal/Kg

11 a 20 Kg de peso corporal → 50 cal/Kg adicionales por cada Kg después de los 10 Kg

Más de 20 kg de peso corporal: 20 cal/Kg adicionales por cada Kg después de los 20 Kg

De acuerdo con lo anterior, las necesidades diarias de agua se calcularían así:

1 a 10 Kg de peso corporal: 100 mL/Kg día (= 4 mL /Kg h)

11 a 20 Kg de peso corporal: 1000 mL + 50 mL/Kg día (= 2 mL /Kg h adicional)

>20 Kg de peso corporal: 1500 mL + 20 mL /Kg día (= 1 mL /Kg h adicional)

5. Existen factores que modifican las necesidades basales de agua, tales como:

a) Fiebre: por cada grado centígrado que aumente la temperatura por arriba del valor basal, se incrementa en un 12% las necesidades de agua.

b) En estados hipometabólicos - como en el estado de coma - las necesidades de agua disminuyen aproximadamente 20%.

6. La osmolaridad de los distintos compartimentos depende principalmente de los electrolitos más abundantes disueltos en ellos. Así, la osmolaridad extracelular depende de la $[Na^+]$ y la osmolaridad intracelular de la $[K^+]$; por lo que es necesario mantener los requerimientos basales de tales electrolitos, de acuerdo con la figura 1.2:

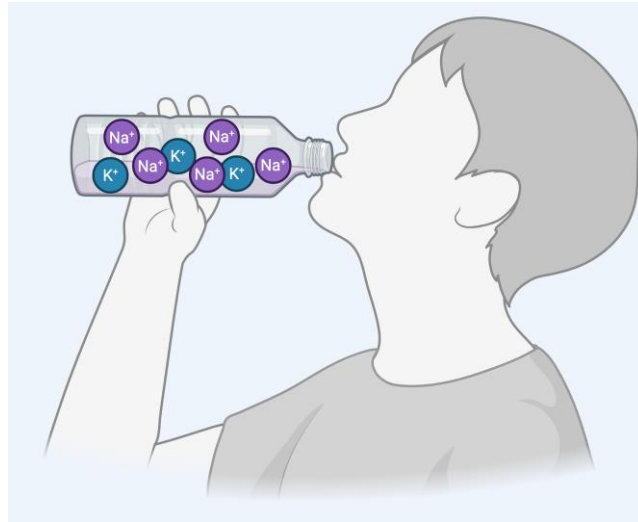


Figura 1.2. Requerimientos basales de sodio y potasio. Elaborada en <https://BioRender.com>

Para ilustrar lo anterior, tomemos como ejemplo un individuo que pesa 60 Kg; en este caso, sus requerimientos serán:

1) Necesidades diarias de líquido:

$$1000 \text{ mL} + 500 \text{ mL} + 40 \text{ Kg} \times 20 \text{ mL/Kg/día} = 2300 \text{ mL}$$

2) Necesidades de sodio

$$3 \text{ mEq /Kg/ día} \times 60 \text{ Kg de peso} = 180 \text{ mEq/L}$$

3) Necesidades de potasio:

$$2 \text{ mEq/Kg/ día} \times 6 \text{ Kg de peso} = 120 \text{ mEq /L}$$

Con base en esta información, será más fácil poder decidir qué solución se requerirá según los déficit hidroelectrolíticos de cada paciente.

MATERIAL

Por equipo:

- 1 Portaobjetos y 3 cubreobjetos
- Lanceta
- Soluciones con diferentes osmolaridades

Por grupo:

- 3 Microscopios

PROCEDIMIENTO

1. Hacer los cálculos correspondientes para comprobar que la solución de cloruro de sodio (NaCl) al 0.9% es isotónica con respecto al plasma. Hay que considerar que:
 - a) El cloruro de sodio (NaCl) se disocia completamente en solución acuosa en los iones sodio y cloruro, por lo que su concentración osmolar será el doble de su concentración molar ($1 \text{ mol/L} = 2 \text{ osmol/L}$).
 - b) La presión osmótica normal del plasma es de 290-310 mosm/L.
2. Realizar los cálculos correspondientes para preparar 20 mL de una solución de NaCl al 4.5% (esto corresponde a la solución 1).
3. Realizar los cálculos correspondientes para que a partir de la solución 1, preparar 25 mL al 0.9% (solución 2) y 50 mL al 0.045% (solución 3).
4. De las soluciones con diferentes osmolaridades colocar una gota por separado en un portaobjetos, adicionar a cada gota de solución una de sangre (la cual se tomará de la punción de la yema del dedo con una

lanceta) y observarlas al microscopio para valorar el efecto de la osmolaridad de las soluciones sobre los eritrocitos.

Nota: Los estudiantes no prepararán ninguna solución; la Coordinación de Prácticas proporcionará las soluciones ya elaboradas.

RESULTADOS

1. Expresar en forma ordenada los cálculos efectuados para cada uno de los ejercicios.
2. Deducir el movimiento neto del solvente – en caso de que lo haya – cuando se ponen en contacto eritrocitos con soluciones hipo, hiper e isoosmóticas.

PROBLEMAS ADICIONALES

1. Realizar los cálculos correspondientes para preparar 250 mL de una solución de Na_2CO_3 0.20 M.
2. Realizar los cálculos correspondientes para preparar 150 mL de una solución de NaCl al 4.5%.
3. Realizar los cálculos correspondientes para preparar 250 mL de una solución de NaOH al 35%.
4. Realizar los cálculos correspondientes para preparar 1.5 litros de H_3PO_4 0.75 M.
5. Realizar los cálculos correspondientes para preparar 150 mL de una solución 0.6 M de KMnO_4 .
6. Realizar los cálculos correspondientes para preparar 400 mL de una solución de histidina al 0.03M (PM = 155.15/mol).
7. Realizar los cálculos correspondientes para preparar 25 mL de una solución 0.25 M de KOH a partir de una solución de KOH 0.4 M. ¿Cuántos mL de esta solución concentrada deberá utilizar?
8. Realizar los cálculos correspondientes para cuantos miliequivalentes están presentes en una solución de Ca^{2+} al 0.1%.

BIBLIOGRAFÍA

- Bloomfield, M. (1999). *Química de los organismos vivos*. México: El Manual Moderno.
- Farias, G. (1999). *Química clínica*. México: Manual Moderno.
- Hall, E.J. (2016). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*: Elsevier
- Hernandez, M. (2004). *Transtornos clínicos de agua y electrolitos*. McGraw Hill.
- Holum, J. (2001). *Fundamentos de química general, organica y bioquímica para ciencias de la salud*. México: Limusa Wiley.
- Martínez, F., Riveros H. & Pardo, J.P. (2018). *Bioquímica de Laguna y Piña*. México: Manual Moderno.
- Montgomery, R. (1988). *Bioquímica: casos y texto*. Elsevier.

- Villazón, S., Cárdenas, C. & Sierra, U. (2000). *Fluidos y electrolitos*. México: JGH.

Práctica 5

Determinación de glucosa en sangre

Tiempo de la práctica: 105 minutos

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.*

INTRODUCCIÓN

La glucosa representa una fuente de energía importante en el humano; el funcionamiento adecuado de órganos como el cerebro y células como los eritrocitos depende de un aporte continuo de dicho carbohidrato. Por consiguiente, la concentración de glucosa en sangre (glucemia) debe mantenerse dentro de un intervalo de 70 a 90 mg/dL para satisfacer los requerimientos energéticos del organismo.

En la práctica clínica, la determinación de la concentración de glucosa sanguínea – en condiciones de ayuno – le permite al médico realizar un diagnóstico adecuado acerca de la homeostasis de la glucosa en un individuo, ayudándole a detectar alteraciones potenciales en dicha homeostasis (por ejemplo: diabetes).

La concentración de glucosa en sangre está determinada por factores como el estado de alimentación del individuo, situaciones que generen estrés, los niveles de hormonas e incluso la edad.

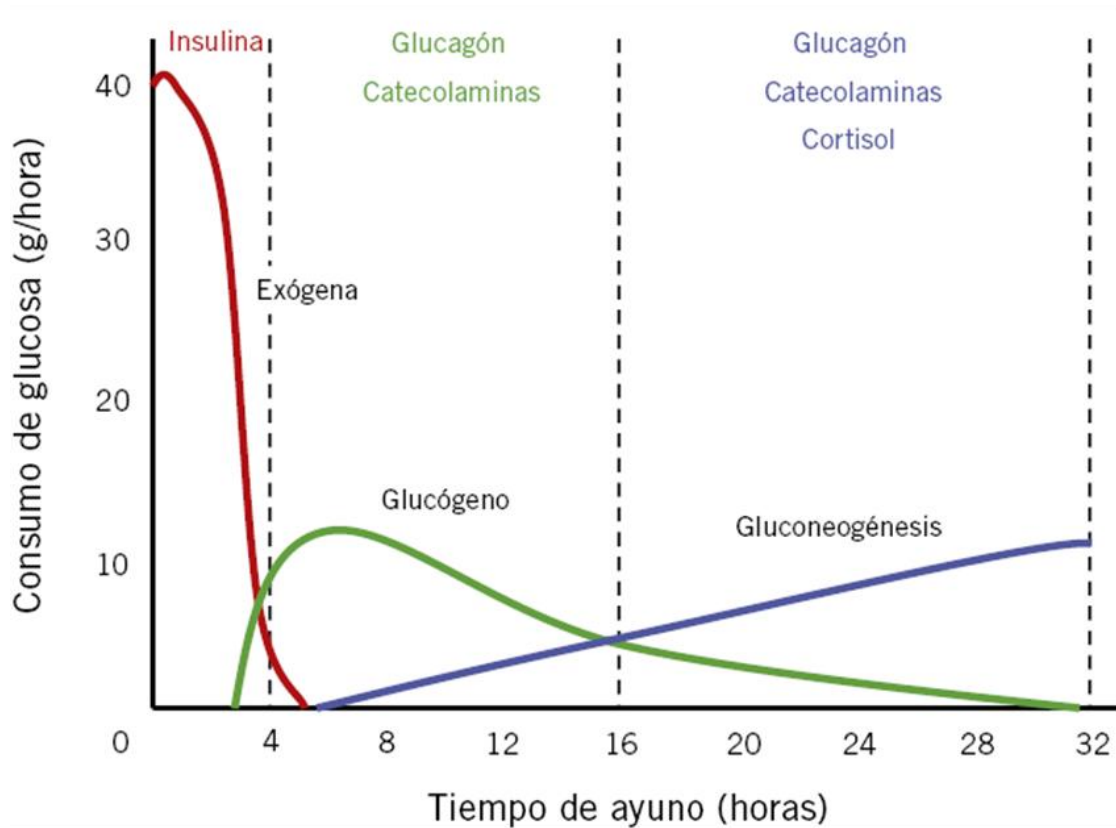
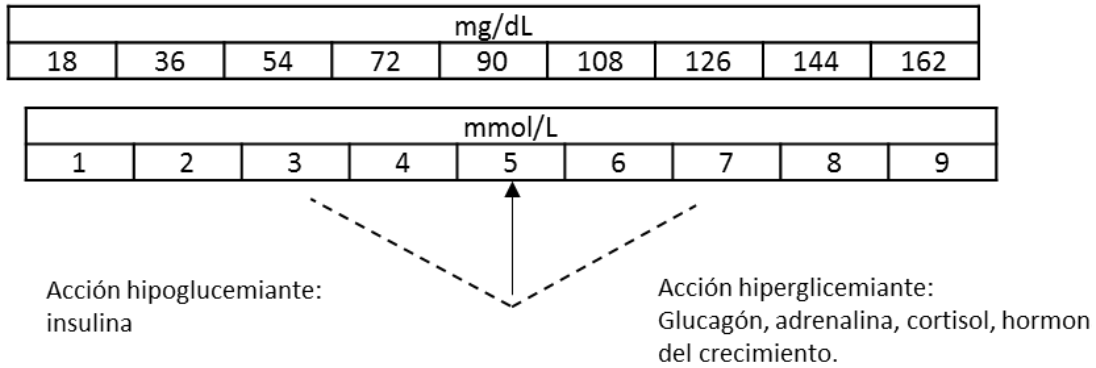
Algunos minutos después de la ingesta de una comida, aumentan los niveles de insulina sanguínea. La glucosa y algunos aminoácidos de la dieta – tales como la leucina, la isoleucina y la lisina – son estimulantes potentes de las células beta del páncreas, haciendo que éstas secreten insulina. La mayor parte de las células del cuerpo responden al aumento en la concentración de la glucosa sanguínea con un incremento en la velocidad de transporte de ésta hacia el interior de las células. De esta manera, los niveles de glucosa sanguínea aumentan solamente de un 20% a un 40% en los individuos no diabéticos. Es importante señalar que aproximadamente el 80% de la captación de glucosa por los tejidos no depende de la insulina (por ejemplo: el cerebro, los glóbulos rojos, el hígado y los intestinos) El músculo y el tejido adiposo son los tejidos más importantes que dependen de insulina (ver Tabla 5.1). Por otra parte, los niveles crecientes de insulina y glucosa sanguíneas inhiben la lipólisis, así como aproximadamente el 60% de la liberación normal de glucosa producida por la gluconeogénesis hepática.

La velocidad con la que aumenta la concentración de glucosa en sangre depende notablemente de la fuente del azúcar en la dieta, así como de su abundancia. Así, la ingesta de una solución de glucosa se manifestará más rápidamente en el nivel de glucosa en sangre en comparación con la ingesta de una comida sólida rica en carbohidratos. Ello se debe a que la glucosa contenida en los alimentos no se encuentra en forma libre, sino que está unida en forma covalente a otras moléculas, ya sea a otros monosacáridos como la galactosa o la fructosa – como en la lactosa y la sacarosa, respectivamente – o a otras moléculas de glucosa – como en el almidón – y los enlaces correspondientes deben ser hidrolizados por enzimas específicas en el intestino delgado antes de quedar disponible para su absorción.

En el estado de postabsorción (ayuno temprano) de los individuos normales, disminuye la concentración de insulina en sangre y se incrementa la concentración de glucagón, por lo que baja la relación insulina/glucagon sanguínea, favoreciendo que el glucógeno muscular y hepático sea degradado como una fuente de glucosa. Si el ayuno es de largo plazo, entonces ocurre la degradación de las proteínas a aminoácidos en el músculo esquelético, y la lipólisis de los triacilglicérols a ácidos grasos y glicerol en el tejido adiposo. El aminoácido alanina y el glicerol son usados para sintetizar glucosa por medio de la gluconeogénesis estimulada por glucagón. Por otra parte, los ácidos grasos libres pueden ser usados como combustible por el corazón, los músculos esqueléticos y el hígado (1,2).

Transportador	Órgano o Tejido	Propiedades
Glut 1	Eritrocitos, barrera hematoencefálica, placenta, retina, riñón cerebro	Ingreso basal de glucosa Km 1.6 mM
Glut 2	Hígado, páncreas e intestino	Transportador de glucosa, galactosa y fructosa Sensor de glucosa Km 15 mM o más
Glut 3	Cerebro, placenta, hígado, riñón y corazón	Ingreso basal de glucosa Km 2 mM
Glut 4	Tejido adiposo, corazón y músculo esquelético	Dependiente de insulina Km de 5 mM
Glut 5	Yeyuno, riñón, cerebro y espermatozoides	Transportador de fructosa

Tabla 5.1. Presencia de GLUTs en diferentes tejidos. (Lieberman M. Peet A. (2018). Digestión, absorción y transporte de carbohidratos. En Bioquímica Médica Básica 5ª Ed. (pp.415 - 443). Wolters Kluwer).



Pozo Román J., Martín Rivada A., Güemes Hidalgo M Hipoglucemia no diabética . Pediatr Integral 2019; XXIII (2): 90, e1 – 90.e22

Figura 5.1. Control hormonal de la homeostasis de la glucosa. La concentración de glucosa plasmática refleja el equilibrio entre la acción hipoglucemiante (disminución de la glucosa) de la insulina y la acción hiperglicemiante (aumento de glucosa) de las hormonas anti-insulínicas. En el gráfico inferior se muestra el patrón diario de secreción de la insulina y del glucagón, así como las variaciones correspondientes en la concentración de glucosa plasmática como resultado de la ingesta de alimentos. La concentración de glucosa se mantiene dentro de un margen relativamente estrecho durante el día.

DETERMINACIÓN DE GLUCOSA

Requisito para la práctica: ayuno de 6-8 horas.

Podrá participar un integrante por equipo, de manera que en todo el grupo se puedan trabajar las diferentes condiciones.

MATERIALES

- Glucómetros "One Touch Ultra"
- Tiras reactivas "One Touch Ultra" [Glucosa Oxidasa (*Aspergillus niger*)]
- Lancetas estériles.
- Recipiente para material punzo cortante
- Recipiente para material biológico infeccioso
- Jabón para manos
- Torundas de algodón con alcohol

Tres voluntarios que hayan ingerido alguna de las siguientes fuentes de glucosa:

- a) 15 gramos de glucosa (1er Equipo).
- b) 15 gramos de sacarosa (2º Equipo).
- c) 15 gramos de cereal (3er Equipo).

MÉTODO

A cada uno de los sujetos se le determinará la concentración de glucosa en sangre total – por medio de un glucómetro – en los siguientes tiempos: 0 minutos (antes de ingerir la carga de los diferentes carbohidratos) y a los 30, 60 y 90 minutos, después de la ingesta.

Para realizar la determinación de glucosa en sangre total seguir los siguientes pasos:

1. Inserte la tira reactiva en el puerto de análisis, con el extremo de las barras de contacto al frente y mirando hacia arriba. Empújela hasta que no avance más.
2. Los estudiantes voluntarios deben lavar sus manos con agua y jabón y desinfectar la zona donde se realizará la punción utilizando una torunda con alcohol.
3. Puncione el dedo con una lanceta y aplique un masaje suave a la punta de su dedo, lo que le ayudará a obtener una gota de sangre adecuada; no exprima en exceso el área de punción.
4. Acerque y mantenga la gota de sangre en el canal estrecho del borde superior de la tira reactiva.

Para asegurarse de que la cantidad de sangre es adecuada, utilice como guía los esquemas adjuntos del apéndice:

- a) Muestra adecuada.
- b) Muestra insuficiente.

5. Llene el capilar del glucómetro, lo que inicia la cuenta regresiva para dar la concentración de glucosa.

Es importante desechar con mucho cuidado la lanceta usada, con el fin de evitar que se produzcan lesiones accidentales con la punta de éstas.

Para el desecho de las lancetas y del material contaminado con sangre siga los siguientes pasos:

- Deposite la lanceta en un recipiente para material punzo cortante.
- Deseche las tiras reactivas, junto con las torundas de algodón empleadas en la práctica, en una bolsa para material biológico-infeccioso.

Con los datos obtenidos completar el cuadro anexo y hacer una gráfica en papel milimétrico de todas las variantes usadas en la práctica.

Nombre:	
Edad:	
Sexo:	
Tiempo (min)	Glucosa (mg/dL)
0	
30	
60	

Tabla 5.2. Resultados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Martínez Montes F, Pardo Vázquez JP, Riveros Rosas H. (2018). Metabolismo de los carbohidratos. En Bioquímica de Laguna y Piña 8ª Ed. (pp.279-314). Facultad de Medicina/Manual Moderno.
2. Lieberman M. Peet A. (2018). Gluconeogénesis y mantenimiento de los niveles de glucosa en sangre. En Bioquímica Médica Básica 5ª Ed. (pp.566-589). Wolters Kluwer.

BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA

- Baynes, W. (2011). *Bioquímica médica*. elsevier.
- Kaplan, L. & Pesce, A. (2002). *Química clínica. Teoría , análisis y correlación*. Pesce .
- NOM-030-SSA2-1999, N.O. (1999). *Para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial*. Obtenido de para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/030ssa29.html>.
- SSA (2001). *manual para el manejo de las insulinas*. Obtenido de Secretaría de salud: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/DOCSAL6250.pdf>.

Práctica 7

Integración Metabólica

Tiempo de práctica: 105 min

OBJETIVOS

Al terminar la práctica el estudiante:

- 1. Integrará las vías metabólicas de los carbohidratos, de los lípidos y proteínas en una persona sana.*
- 2. Identificará los sitios denominados encrucijadas metabólicas y las enzimas reguladoras de las distintas vías.*
- 3. Correlacionará el papel que tienen las hormonas en la regulación de las vías.*
- 4. Analizará los datos de las pruebas clínicas en un sujeto normal.*
- 5. Identificará las vías que están alteradas en un paciente diabético.*

INTRODUCCIÓN

Los alimentos que ingiere el ser humano deben contener los seis componentes básicos: proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas, minerales y agua. La cantidad que se requiere ingerir de cada uno varía de acuerdo con la constitución, la edad y la actividad física que se realiza; tanto la falta como el exceso de consumo de alguno – o algunos – de los componentes básicos lleva a diversos trastornos metabólicos.

Metabolismo de los carbohidratos

Aproximadamente entre el 40 y el 45% de nuestra ingesta calórica diaria proviene del consumo de carbohidratos complejos los cuales, al ser digeridos, dan lugar a los diferentes monosacáridos entre los que sobresale la glucosa. Esta última se distribuye por la sangre a las células, siendo la principal fuente de energía. Algunos tipos celulares dependen de la insulina liberada por el páncreas para captar la glucosa, como es el caso de las células musculares. Si el nivel de insulina no es el adecuado, la glucosa permanece en la sangre causando un aumento en su concentración; a esto se le denomina hiperglucemia valores de glucosa sanguínea en ayuno por arriba de 100 mg/dL. Una de las enfermedades que se caracteriza por la hiperglucemia es la Diabetes Mellitus, la cual se caracteriza por un defecto en la secreción de insulina, en la acción de la insulina o en ambas. La hiperglucemia crónica de la diabetes puede conducir a lesiones, así como disfunción y fallo de varios órganos (especialmente de los ojos, los riñones, el corazón y los vasos sanguíneos).

En el desarrollo de la diabetes están implicados varios procesos patogénicos; estos van desde una destrucción autoinmune de las células β del páncreas – con la consiguiente deficiencia de insulina – hasta anomalías en las que el páncreas produce suficiente insulina, pero los tejidos dependientes no responden a ella. La acción deficiente de la insulina en los tejidos diana es la responsable del metabolismo anómalo de los carbohidratos, las grasas y las proteínas en la diabetes. Frecuentemente coexisten en el mismo paciente una secreción inadecuada de insulina, así como defectos de la acción de ésta.

A nivel celular, la acción deficiente de la insulina ocasiona una respuesta inadecuada en uno o más puntos de la compleja red de señalización en la que esta hormona tiene un papel esencial.

La mayoría de los casos de diabetes pueden incluirse en dos amplias categorías etiopatogénicas. En el primer caso (diabetes tipo I) la causa es una

deficiencia absoluta en la secreción de insulina debido a la destrucción de las células β de los islotes de Langerhans. Los individuos con alto riesgo de desarrollar este tipo de diabetes pueden ser identificados mediante evidencias serológicas de un proceso autoinmune que se produce en los islotes pancreáticos y también mediante marcadores genéticos. En la segunda categoría (diabetes tipo II), mucho más prevalente, la causa es una combinación de una resistencia a la acción de la insulina y de una inadecuada respuesta secretora compensadora. La diabetes tipo II se caracteriza por estar presente muchos años antes de que aparezcan los síntomas clínicos (sed, pérdida de peso), pero suficiente para ocasionar cambios patológicos y funcionales sobre los órganos blanco. Durante este período asintomático es posible demostrar trastornos en el metabolismo de los carbohidratos determinando la glucosa plasmática en ayunas o después de una sobrecarga de glucosa por vía oral.

Metabolismo de los lípidos

El exceso en la ingesta de carbohidratos no solamente mantiene la reserva de energía en forma de glucógeno, sino que una parte importante de dicho exceso es convertido en triacilglicerol. En el hígado, los triacilglicerol se sintetizan a partir de acil-CoA y glicerol 3-fosfato, son empaquetados para su exportación en lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y secretados al torrente sanguíneo. Cuando las VLDL llegan al tejido adiposo, los triacilglicerol son degradados y los ácidos grasos que se liberan se incorporan nuevamente en triacilglicerol para su almacenamiento. Para su utilización, los triacilglicerol son hidrolizados a glicerol y ácidos grasos. En la dieta es crucial la presencia de lípidos, ya que son precursores de diferentes componentes de la célula (por ejemplo: los fosfolípidos). Un lípido particularmente importante es el colesterol, ya que disminuye la fluidez de las membranas celulares y es precursor de las sales biliares, así como de hormonas esteroideas. El colesterol se puede obtener mediante la alimentación y por la síntesis de novo en el propio organismo, siendo las células hepáticas y las suprarrenales las de mayor actividad biosintética. Para llevar a cabo la síntesis de colesterol se requiere de acetil-CoA, el cual proviene

de la degradación de glucosa, ácidos grasos y aminoácidos. Debido a que el acetil-CoA puede tener diferentes destinos en su metabolismo, se le denomina un metabolito de encrucijada metabólica.

El colesterol es insoluble en agua, por lo que su transporte en la sangre requiere de tres tipos de lipoproteínas, que son las de muy baja densidad (VLDL), las de baja densidad (LDL) y las de alta densidad (HDL). En un individuo adulto, los niveles normales de colesterol total en sangre en un adulto son de <200 mg/dL; cuando estos valores se ven aumentados se asocian a la formación de placas ateroscleróticas, que pueden ocluir los vasos sanguíneos y provocar alteraciones cardiovasculares e incluso infarto al miocardio.

Por lo anterior, es importante la cuantificación de las LDL en sangre, ya que concentraciones elevadas indican el desarrollo de la aterosclerosis.

En el caso de las HDL se presenta una situación inversa, ya que al disminuir su concentración aumenta el riesgo de desarrollar aterosclerosis.

Metabolismo de los compuestos nitrogenados

Las proteínas constituyen la fuente primaria del nitrógeno en el organismo. Los aminoácidos producidos por la digestión de las proteínas que se consumen en los alimentos son utilizados por el cuerpo para la síntesis de sus propias proteínas y de compuestos nitrogenados, o bien pueden ser oxidados para producir energía.

El hígado es el órgano principal en donde se realiza la oxidación de los aminoácidos. El nitrógeno de los aminoácidos forma amoníaco, el cual es tóxico para el organismo. El amoníaco y los grupos amino se convierten en urea en el hígado, molécula que no es tóxica y se elimina fácilmente por la orina, ya que es hidrosoluble.

Otro de los componentes del metabolismo nitrogenado son los nucleótidos, que contienen purinas y pirimidinas. Los nucleótidos son precursores del DNA y el RNA, forman parte de la estructura de muchas coenzimas, y participan en el metabolismo energético, como el ATP. La degradación de las purinas no genera energía y el producto de la degradación del anillo purínico es el ácido úrico, que se elimina por la orina. Debido a que tiene una solubilidad limitada, su exceso da como resultado la formación de cristales en regiones del organismo como los dedos gordos del pie, trastorno que se conoce como gota. Los valores elevados de ácido úrico se presentan en: ingestión de alimentos ricos en nucleoproteínas, insuficiencia renal, azoemias prerrenales.

Otro de los componentes del metabolismo nitrogenado es la creatina que en el músculo en su forma fosforilada sirve como almacén de alta energía y se transforma con facilidad en ATP por la enzima creatina fosfocinasa. La creatina es inestable y se cicla espontáneamente para formar la creatinina que se elimina en la orina. La producción de creatinina es proporcional a la masa muscular corporal. La cantidad de creatinina que se elimina diariamente puede utilizarse como indicador de la normalidad de la función renal (1,2).

MATERIAL

Determinación de glucosa

- Glucómetros One Touch Ultra
- Tiras reactivas One Touch Ultra [Glucosa oxidasa (*Aspergillus niger*)]
- Lancetas estériles
- Recipiente para material punzo cortante
- Recipiente para material biológico-infeccioso
- Jabón para manos
- Torundas de algodón con alcohol

Determinación de colesterol y triacilgliceroles

Dichas determinaciones solo se realizarán al tiempo 0:

- Accutrend Roche para determinación de colesterol y triacilgliceroles
- Tiras reactivas para determinación de colesterol
- Tiras reactivas para determinación de triacilgliceroles
- Lancetas estériles

Determinación de urea y ácido úrico en orina

Las muestras de orina se realizarán solo al tiempo 0 y a los 120 minutos.

Nota: La muestra de orina del tiempo 0 es a la que se le realizará el EGO.

La muestra de orina deberá ser del alumno a quien se le haya determinado glucosa, colesterol y triacilgliceroles para poder discutir todos los valores en conjunto y poder enlazar en un mismo individuo el efecto que tiene la dieta sobre el metabolismo.

Determinación de urea

- Pipetas automáticas (10 a 200 μ L)
- Puntas para micropipetas
- Propipetas
- Reactivo para determinación de urea
- Estándar de urea (50 mg/dL)
- Espectrofotómetro
- Celdas
- Agua destilada

Determinación de ácido úrico

- Pipetas de 5 ml
- Gradilla con 2 tubos de ensaye
- Reactivo para ácido úrico
- Estándar de ácido úrico (6 mg/dL)

MÉTODO

Determinación de glucosa

Podrá participar un integrante por equipo, de manera que en todo el grupo se puedan trabajar las diferentes condiciones.

1.-Dos sujetos, uno de los cuales consumirá una dieta rica en carbohidratos y el otro una dieta rica en proteínas.

2.-A cada uno de los sujetos se les determinará la concentración de glucosa en sangre total por medio de un glucómetro (revisar Apéndice III) en los siguientes tiempos:

0 minutos (antes de ingerir los alimentos), 30 minutos y 60 minutos, después de ingerir los alimentos.

3.- Con los datos obtenidos completar el cuadro 7.1 y analizar.

Fecha: _____	
Nombre: _____	
Edad: _____	Sexo: _____
Tiempo (min)	[Glucosa mg/dL]
0	
30	
60	
90	

Cuadro 7.1 Resultados.

Determinación de colesterol y triacilgliceroles

1. Lavarse las manos cuidadosamente esto es con la finalidad de retirar residuos de crema o grasa en las manos para evitar determinaciones erróneas, principalmente cuando se realiza la determinación de triacilgliceroles.
2. Con la ayuda de unas pinzas extraer una tira reactiva del envase y taparlo inmediatamente para evitar que las tiras se sequen.
3. Realice la lectura de la concentración de colesterol y triacilgliceroles según sea el caso.

Nota: Tener cuidado al realizar la determinación, ya que solo cuentan con una tira reactiva para cada prueba.

4. Anote la lectura.

Determinación de urea en orina

La urea presente en la muestra reacciona con o-ftaldehído en medio ácido originando un complejo coloreado puede identificarse espectrofotométricamente.

La urea es estable 5 días a 2-8 °C.

1.-Para la determinación de urea en orina, tomar la muestra como se esquematiza en el cuadro.

Tubo	1	2
Muestra	25 µL	-
Estándar	-	25 µL
Solución de reactiva para urea	1 mL	1 mL

La determinación se realiza en tubos de ensaye

Estándar de urea (50 mg/dL).

Mezclar e incubar 20 minutos a temperatura ambiente.

Determinación de ácido úrico en orina

1.-Para la determinación de ácido úrico en orina, tomar la muestra como se esquematiza en el cuadro.

Tubo	1	2
Orina	100 µL	-
Estándar	-	100 µL
Solución reactiva de ácido úrico	1 mL	1 mL

La determinación se realiza en tubos de ensaye.

Estándar de ácido úrico (6 mg/dL). Mezclar e incubar 10 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia (A) en el espectrofotómetro frente a blanco de reactivos a 520 nm.

Cálculo de la concentración de ácido úrico.

$$[\text{ácido úrico}] = \frac{\text{Abs muestra}}{\text{Abs estándar}} \times [\text{Estándar mg/mL}]$$

BIBLIOGRAFÍA

1. Martínez Montes F, Pardo Vázquez JP, Riveros Rosas H. (2018). Metabolismo de los lípidos. En Bioquímica de Laguna y Piña 8ª Ed. (pp.315-343). Facultad de Medicina/Manual Moderno.
2. Lieberman M. Peet A. (2018). Acciones de las hormonas que regulan el metabolismo energético. En Bioquímica Médica Básica 5ª Ed. (pp.845- 868). Wolters Kluwer.

BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA

- Kaplan, L. & Pesce, A. (2002). *Química clínica. Teoría, análisis y correlación*. Pesce .
- Koolma, J. & Roehm, K. (2004). *Bioquímica Texto y Atlas*. Médica Panamericana.

- NOM-030-SSA2-1999, N. O. (1999). *Para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial*. Obtenido de Para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial.: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/030ssa29.html>.
- NOM-015-SSA2-1994 (1994). Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/015ssa24.html>.
- Smith, C. & Liberman, M. (2005). *Bioquímica médica básica*. Marks. 2005: LWW.
- SSA (2001). *manual para el manejo de las insulinas*. Obtenido de Secretaría de salud: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/DOCSAL6250.pdf>.

Práctica 8

Examen general de orina (EGO)

Tiempo de práctica: 40 min

OBJETIVOS

Al terminar la práctica el estudiante:

- 1. Interpretará y analizará los resultados de un examen general de orina (EGO).*
- 2. Correlacionará los resultados del examen general de orina (EGO) en un sujeto sano.*
- 3. Identificará la utilidad del empleo de las tiras reactivas para un diagnóstico presuntivo de las diversas patologías.*

INTRODUCCIÓN

Los riñones filtran de 0.5 a 10 litros aproximadamente de orina al día, siendo 0.5 L el mínimo necesario para eliminar los productos del metabolismo, en condiciones fisiológicas normales la orina no presenta glucosa, así como tampoco aminoácidos y pueden presentarse mayores cantidades de aminoácidos debido a diversas fisiopatologías el riñón permite la salida de diferentes compuestos como proteínas.

El análisis de orina se puede llevar a cabo con tiras reactivas, éstas contienen los reactivos y las enzimas en un soporte de plástico que al interaccionar con la orina se desencadena una reacción que se manifiesta con un producto coloreado.

En una tira reactiva se llevan a cabo las siguientes determinaciones: urobilinógeno, glucosa, cuerpos cetónicos, bilirrubina, proteínas, nitritos, leucocitos, indicios de sangre, pH y densidad.

La realización del Examen General de Orina (EGO), proporciona información que puede ser útil en el diagnóstico diferencial de enfermedades que se pueden presentar no solo a nivel renal, sino también a nivel hepático, la diabetes, así como la preeclampsia.

Examen Físico

El examen comprende la evaluación de color, olor, volumen y densidad.

Color: el color normal de la orina es amarilla y transparente, la presencia de otros colores sugiere una patología. En la Tabla 8.1 se presentan una serie de colores que puede presentar la orina y su posible causa.

Color	Posible causa
Pálido	Orina diluida
Obscuro	Fosfatos, uratos, oxalatos, leucocituria, bacteriuria y contaminación fecal
Blanquecino	Leucocituria, lipiduria y quiluria
Amarillo-naranja	Orina concentrada o la presencia de bilirrubina
Amarillo verdoso	Presencia de bilirrubina-biliverdina
Rojizo	Hemoglobina, eritrocituria, mioglobinuria, porfiria, contaminación menstrual, así como ingestión de betabel o tratamiento con rifampicina
Café-negruzco	Metahemoglobina y melanina

Tabla 8.1. Posibles colores de la orina y su causa probable. (Morales- López S., Morales-García N., Milán R. Elaborada en <https://BioRender.com>)

El olor de la orina en condiciones normales es característico (Tabla 8.2); sin embargo, algunos padecimientos pueden alterarlo

Olor amoniacal	Infección urinaria
Olor a rancio	Tirosinemia
Olor a ratón	Fenilcetonuria
Jarabe de arce	Enfermedad de jarabe de arce
Olor a pies	Acidemia glutárica

Tabla 8.2. Olor que puede presentar la orina. (Morales- López S., Morales-García N., Milán R. Elaborada en <https://BioRender.com>)

El volumen de la orina solo es influido por la ingesta de agua. Un adulto puede presentar un volumen urinario de 600 a 2 000 mL al día; sin embargo, algunas patologías pueden aumentar el volumen de orina como es el caso de la diabetes, también la diuresis osmótica, por el contrario, en algunos casos el volumen de excreción puede ser menor y esto como consecuencia de la obstrucción del tracto urinario o la disminución del volumen plasmático.

Gravedad o densidad específica: Indica la cantidad relativa de solutos que contiene un volumen definido de orina, del 70 al 80 % de estos solutos corresponde a la urea.

Electrolitos como el sodio, cloro, urea, fosfatos y sulfatos intervienen de manera importante en la densidad de la orina.

El examen químico comprende: pH, proteínas, glucosa, cetonas, hematuria, bilirrubina, urobilinógeno, nitritos y leucocitos.

pH de la orina: Riñones y pulmones trabajan de manera equilibrada para mantener un equilibrio ácido-base en todos los líquidos corporales. La orina es normalmente ácida, los valores de pH oscilan entre 4.5 a 8.

Alteraciones del pH urinario

Como se observa en la Tabla 8.3, el pH de la orina se puede modificar bajo ciertas condiciones.

Disminución en el pH	Aumento en el pH
Acidosis metabólicas	Ingestión de bicarbonato
Dietas ricas en proteínas	Utilización de acetozolamida
Cetoacidosis diabética	Neomicina, kanamicina
Alcalosis hipocalémica	Kanamicina

Tabla 8.3. Alteraciones del pH de la orina. (Morales- López S., Morales-García N., Milán R. Elaborada en <https://BioRender.com>)

Proteínas: Las proteínas circulantes acceden a las células renales y no deben de excretarse más de 150 mg de proteína en la orina de 24 horas, de esta cantidad aproximadamente la tercera parte es albúmina y el resto se refiere a α , β y γ -globulinas.

La proteína de Tamm-Horsfall (uromucoide) se investiga para confirmar si el sitio de sangrado se localiza a nivel renal.

La presencia en la orina de un exceso de albúmina es un indicador de lesión glomerular o tubular. Por la cantidad de proteína excretada se puede clasificar en:

Proteinuria leve: menos de 1 g/día

Proteinuria moderada: entre 1 y 4 g/día

Proteinuria grave: mayor de 4 g/día

Patologías que presentan proteinuria

- Glomerulonefritis
- Enfermedad renal poliquística
- Fiebre
- Diabetes mellitus
- Lupus eritematoso generalizado
- Síndrome nefrótico
- Intoxicación con mercurio, opiáceos
- Obstrucción crónica de las vías urinarias
- Trombosis de la vena renal

Glucosa: Se presentan cantidades detectables de glucosa en la orina, cuando los valores de glucosa sérica se encuentran por arriba de los 180 mg/dL, debido a que superan la capacidad de reabsorción tubular.

Cetonas: La presencia de cuerpos cetónicos como el acetato y el hidroxibutirato productos del metabolismo de ácidos grasos, refieren algún defecto en la utilización de los carbohidratos de la dieta, por lo que se asocia a diabetes mellitus descontrolada.

Sangre: La tira reactiva positiva indica tres posibilidades

- Hematuria: La presencia de células sanguíneas en orina y puede presentarse en traumatismos de los órganos urinarios, lesiones neoplásicas, hemofilia, glomerulopatías, cálculos, lupus eritematoso generalizado, así como en padecimientos hematológicos y pacientes que utilizan anticoagulantes.
- Mioglobinuria: Indica la presencia de mioglobina en orina y es una proteína que se libera de las células musculares y la patología asociada es el daño muscular severo que puede ser causado por convulsiones, ejercicio prolongado, shock eléctrico.
- Hemoglobinuria: Es secundaria a crisis hemolíticas de cualquier etiología

Bilirrubina: Una reacción positiva indica enfermedades hepáticas. La presencia de trazas refiere realizar una investigación con enzimas hepáticas. Este metabolito proviene de la hemoglobina de los eritrocitos que son destruidos en el sistema retículo endotelial distribuido en todo el organismo, la Hb es transportada al hígado donde se lleva a cabo su conjugación, misma que le permite ser filtrada a través del glomérulo renal. Por el contrario, la bilirrubina no conjugada o indirecta no es capaz de pasar a la orina.

Urobilinógeno: Éste deriva principalmente de la bilirrubina transformada por acción de bacterias intestinales, parte del urobilinógeno es excretada por las heces y una mínima fracción es removida por el hígado, llevado al riñón para ser excretada y finalmente dar color a la orina. Se encuentra en la orina cuando hay un aumento de bilirrubina no conjugada en sangre, por ejemplo, en anemias hemolíticas.

	Color	Enfermedad hemolítica	Enfermedad hepática	Enfermedad obstructiva
Urobilinógeno urinario	Normal	Incrementado	Incrementado	Bajo o ausente
Bilirrubina urinaria	Negativa	Negativa	Positiva o negativa	Positiva

Tabla 8.4. Alteraciones del urobilinógeno y la bilirrubina. (Morales- López S., Morales-García N., Milán R. Elaborada en <https://BioRender.com>)

Nitritos: Su presencia en orina sugiere la posibilidad de infección urinaria, incluso en pacientes asintomáticos. El ácido ascórbico puede dar resultados falsos negativos y esto no indica ausencia de infección, ya que algunos gérmenes no producen nitritos. La enzima reductasa bacteriana metaboliza los nitratos urinarios en nitritos, lo que indica presencia de bacterias.

Leucocitos y bacteriuria: Se aceptan cinco células por campo y cuando esta cifra es superada se sugiere infección, la presencia de leucocitos en orina, se denomina piuria. Las tiras reactivas detectan a estas células por la presencia de esterasas producidas por los neutrófilos. La leucocituria es muy valiosa para detectar infección.

MATERIAL

- Vaso con tapa para la muestra de orina
- Muestra de orina
- Tira reactiva para examen general de orina
- Recipiente para desechos biológicos

MÉTODO

1. Para la toma de muestra: El alumno deberá recolectar de la primera orina de la mañana, una cantidad del chorro intermedio de la misma.
2. Una vez obtenida la muestra, observar el color y la claridad de la muestra.
3. Tomar con una pinza la tira reactiva.
4. Poner en contacto la tira reactiva con la orina evitando el exceso de ésta. Leer los resultados de acuerdo con la etiqueta de colores del frasco.
5. Anotar los datos en la tabla de resultados.



Figura 8.1. Inserto tiras EGO.

Prueba	Valores de referencia	Resultados
Densidad	1.016 a 1.0035	
pH	4.5 a 8.5	
Sangre	Ausencia	
Leucocitos (esterasa)	Ausencia	
Nitritos	Ausencia	
Proteína	Ausencia	
Bilirrubina	Ausencia	
Glucosa	Ausencia	
Cuerpos cetónicos	Ausencia	
Urobilinógeno	Ausencia	

Tabla 8.5. Resultados.

Nota: Debido a los horarios en que se realizan las prácticas y considerando que en la práctica de integración se requiere de una muestra de orina, la determinación de EGO se realizará en dicha práctica con la muestra del tiempo cero, sin olvidar las condiciones en que debe ser tomada la muestra; sin embargo, por fines prácticos no se podrá cumplir con este requisito para todos los grupos.

BIBLIOGRAFÍA

- Baynes, W. (2011). *Bioquímica médica*. Elsevier.
- Nicoll, D., McPhee, S. & Pignone, M. (2014). *Guía de pruebas diagnósticas*. McGraw-Hill.
- Ruiz-Reyes, G. & Ruiz-Arguelles, A. (2010). *Fundamentos de interpretación clínica de los exámenes de laboratorio*. Panamericana.
- Synder, L. & Williamson, M. (2013). *Wallach. Interpretación clínica de pruebas diagnósticas*. LWW.

Práctica 9

Huella génica

Tiempo de práctica: 105 minutos

OBJETIVOS

Al terminar la práctica el estudiante:

- 1. Conocerá la aplicación de las técnicas de DNA recombinante.*
- 2. Analizará e interpretará los datos generados a partir de una prueba de huella génica.*
- 3. Conocerá el manejo de muestras para el análisis de ácidos nucleicos.*
- 4. Desarrollará destreza en la interpretación de resultados de métodos básicos de análisis molecular.*

INTRODUCCIÓN

El DNA es un polímero lineal formado por desoxirribonucleótidos que contienen a las bases nitrogenadas adenina, guanina, citosina y timina. La interacción de las bases nitrogenadas por puentes de hidrógeno permite la formación de la doble cadena de DNA. Cada grupo fosfato está unido al carbono 5' de una desoxirribosa y al carbono 3' de la otra desoxirribosa del nucleótido contiguo. Las cadenas se mantienen unidas por puentes de hidrógeno entre las bases.

En la molécula de DNA reside la información genética de un organismo, específicamente en la secuencia de los nucleótidos, de tal manera que cada tres bases forman un codón que corresponde a su vez a uno de los 20 aminoácidos. Hay un total de 64 codones, los cuales conforman el código genético. En ciertas

regiones del DNA una de las hebras tiene la misma secuencia del RNA mensajero y se le llama hebra sentido o codificante y a la complementaria hebra antisentido o molde. La hebra que se transcribe para dar al RNAm es la antisentido o hebra molde.

Algunas de las secuencias de nucleótidos no codificantes se caracterizan por ser cortas, estar alineadas en tándem y repetirse miles de veces de manera constante a lo largo del DNA. Un ejemplo de esta secuencia puede ser la siguiente: ATTCGGTATTCGGTATTCGGT. A estas secuencias se les denomina STR por sus siglas en inglés (Short Tandem Repeat). El genoma eucariótico contiene muchas de estas secuencias de DNA, y se ha visto que el número de unidades repetidas presenta diferencias de individuo a individuo, por lo que se consideran como las huellas digitales. En el caso de gemelos idénticos estas secuencias son idénticas. Estas regiones pueden ser aisladas del DNA con enzimas de restricción apropiadas y separadas de acuerdo con su longitud mediante electroforesis en gel. Cuando se completa el proceso de separación, el resultado se parece a un código de barras de un envase de supermercado. Este código de barras de DNA "huella génica", ha permitido esclarecer algunos hechos criminales y pruebas de paternidad, a la cual se denomina técnica de "Huella génica".

Es muy frecuente que en la escena de un crimen se encuentren, en pequeñas cantidades, muestras de naturaleza biológica como son la sangre, la saliva, la piel, el músculo, el cabello, el semen, los dientes y el hueso, entre otros, a partir de las cuales se puede extraer el DNA.

Un método que permite tomar una pequeña cantidad de DNA y en pocas horas sintetizar millones de copias de una región de éste, es el conocido como PCR (reacción en cadena de la polimerasa), el cual fue desarrollado por K. Mullis (1990). En este método se requiere conocer la secuencia de nucleótidos de los extremos del fragmento que se desea amplificar. Estas secuencias se usan para diseñar desoxiligonucleótidos sintéticos de DNA complementarios a cada uno de estos extremos de la cadena de la doble hélice (CEBADOR). La muestra de

DNA se coloca en una solución que contiene una DNA polimerasa, grandes cantidades de los cuatro y los dos desoxioligonucleótidos sintetizados previamente.

El método se basa en un ciclo de tres reacciones sucesivas: en la primera reacción, la solución se calienta para que el molde de DNA se separe en sus dos cadenas. En la segunda reacción, la temperatura se reduce para permitir que los desoxioligonucleótidos se apareen por complementariedad de bases con el DNA molde y en la tercera reacción, la DNA polimerasa cataliza la síntesis simultánea de las dos cadenas a partir de cada desoxioligonucleótido que actúa como cebador. Al cabo del primer ciclo de tres reacciones, el fragmento de DNA elegido se ha duplicado y por lo tanto, la cantidad de DNA molde disponible para el segundo ciclo es doble.

La obtención de múltiples copias requiere 20 a 40 ciclos. El éxito de esta técnica radica en el uso de una DNA polimerasa termoestable, que no se desnaturaliza por los repetidos ciclos de calentamiento. Esta enzima se aisló originalmente de la bacteria termófila *Thermus aquaticus*.

La base de la técnica conocida como huella génica se basa en las diferencias individuales de estas secuencias. Generalmente se trata de cambios en un solo par de bases pertenecientes a diferentes individuos, que se presentan una vez cada 500 a 1,000 pares de bases, como promedio.

BIBLIOGRAFÍA

- Lewin, B. (2000). *Genes*. Oxford.
- Curtis, H. & Barnes, N. (2008). *Biología*. Médica panamericana.
- Jeffreys, A. (2005). Genetic fingerprinting. *Nature medicine*, 1035-1039.
- Mullis, K. (1990). Unusual origen of polymerase chain reaction. *Science Am*, 56-65.

- Nelson, D. & Cox, M. (2009). *Principios de bioquímica. Lehninger*. McMillan.
- Piedra-Bernal, L. (1999). El análisis de DNA para pruebas de paternidad e identificación forense . *Acta científica venezolana*, 24-28.
- Sivolap, Y., Krivda, G., Kozhuhova, S., Chebotar, S. & Benecke, M. (2001). DNA-based identification of a Boiled.skeletozined. *The american journal of forensic medicine and pathology*, 412-414.
- Souza, G., DaSilva, D., Santana, D. & Marreiro, S. (2002). identification of a criminal by DNA typing in a rape case in Rio de Jainero , Brazil. *Sao Paulo medical journal*, 77-80.

SESIÓN 1 DE LABORATORIO PARA LA PRÁCTICA DE HUELLA GÉNICA

Escena del crimen

El crimen se lleva a cabo en la calle Lago Manitoba No. 520, Col. Ampliación Granada, Delegación Miguel Hidalgo. En el sofá de la sala se encuentra el cuerpo de la dueña de la casa, una mujer de 42 años. El cadáver presenta signos de estrangulamiento, pero sin marcas de sogas o cinturones; tampoco se encuentran huellas digitales en su cuello. La víctima presenta una lesión defensiva en el brazo derecho con arma punzo cortante. En el sofá se observan varias manchas de sangre, algunas de ellas secas. Las más abundantes todavía están frescas. Se ignora si la sangre pertenece a la víctima o a sus agresores.

El laboratorio forense se encarga de recopilar la información de la escena dando a conocer los siguientes aspectos: el cuerpo de la víctima se descubrió 20 minutos después del asesinato. Presentaba un golpe en la cabeza, y había señales de forcejeo en su brazo; debajo de las uñas se encuentran depositados restos de piel, sangre, y de cabellos. Algunos de ellos presentan folículos. Todo señala que la víctima forcejeó con su o sus agresores.

En el lugar también se halló un florero con restos de sangre, la cual no se sabe es de la víctima o de los agresores. En un extremo del sofá se encuentra una pieza dental y, debido a que la víctima conserva su dentadura completa, es probable que el diente sea del victimario. En el brazo izquierdo, la víctima presenta varias mordidas, algunas con sangre coagulada y otras con restos de saliva mezclados con sangre.

En el interior de la casa faltan algunas piezas de valor, lo que sugiere que el móvil fue el robo.

La policía cuenta con varios sospechosos, entre los que se encuentra el esposo, con el cual la víctima tuvo una discusión la noche anterior. Se desconoce el tema de la discusión y el paradero del esposo. Otros sospechosos son los dos repartidores del gas, que una hora antes habían proporcionado el servicio. Uno de ellos tiene problemas con la dentadura y aclara que se encuentra en tratamiento dental, ya que ha presentado sangrado y pérdida de algunas piezas dentales. Los otros sospechosos son los dos empleados de la casa, el jardinero, que tiene una antigüedad de 4 años y presenta una lesión en el brazo que confiesa se hizo arreglando el jardín, y la cocinera, quien tiene sólo 3 meses laborando en la casa.

Con esta evidencia se compara el DNA de cada sospechoso para encontrar al culpable o culpables del crimen, por lo que debe determinar si las muestras de sangre, cabellos, pieza dental y saliva sirven para estudiar el DNA y establecer las características que permitan utilizar alguna o todas las muestras para el estudio.

Cada equipo debe escoger alguna de las evidencias previamente descritas y justificar su elección.

Para realizar la comparación entre el DNA encontrado en la escena con el DNA de los sospechosos deben contarse con muestras proporcionadas por los mismos. Mencione de dónde obtendría dicho material. En el caso del esposo debe tenerse en cuenta que no se conoce su paradero, por lo cual la muestra debe ser extraída de algún objeto de uso personal; defina cuál sería éste y justifique la elección del mismo.

SESION 2 DE LABORATORIO PARA LA PRÁCTICA HUELLA GÉNICA

Material

- Tubo verde con 10 µl de DNA de la escena del crimen
- Tubo azul con 10 µl DNA del sospechoso 1
- Tubo naranja con 10 µl DNA del sospechoso 2
- Tubo violeta con 10 µl DNA del sospechoso 3
- Tubo rojo con 10 µl DNA del sospechoso 4
- Tubo amarillo con 10 µl DNA del sospechoso 5
- Mezcla de enzimas de restricción EcoRI/PstI, 1800 U, con 80 µl
- Marcador de DNA de fago lambda digerido con Hind III 0.2µg /µl, 12 µL
- Geles de agarosa al 1.0%.
- Amortiguador de electroforesis TAE (Tris-Acetato-EDTA) Tris-base 39 mM, ácido acético glacial 18 mM, EDTA 10 mM
- Gradillas para microtubos
- Recipiente para teñir geles
- Pipeta automática de 10-100 µL
- Puntas para pipetas automáticas
- Marcador indeleble.
- Cámara horizontal de electroforesis.
- Microcentrífuga

Procedimiento

1. Se le proporcionará a cada equipo una gradilla con cada uno de los tubos conteniendo los 10 µl de la muestra.

Rotular cada uno de los microtubos de la siguiente forma:

Color	Muestra	Abreviatura
Verde	Escena del crimen	EC
Azul	Sospechoso 1	S1
Naranja	Sospechoso 2	S2
Violeta	Sospechoso 3	S3
Rojo	Sospechoso 4	S4
Amarillo	Sospechoso 5	S5

2. Observar cuidadosamente que los 10 μ L de la muestra se encuentren en el fondo del tubo, si se encuentra dispersa en las paredes del mismo, con la ayuda de una centrífuga, dar un pulso para que todo el líquido quede en el fondo del tubo.

3. Pipetear 10 μ L de la mezcla de enzimas en el fondo de cada tubo. Tener cuidado de cambiar la punta para cada muestra, para evitar contaminación.

4. Tapar los tubos y mezclar los componentes golpeando suavemente los tubos con el dedo, posterior a la agitación, proceder como lo indica el punto 2. Golpear con el dedo.

5. Colocar los tubos en una gradilla e incubar a 37° C por 45 minutos.

Nota: en este caso no se realizará, pero si considerarlo para la práctica original, ya que en este caso es solo una simulación

6. Utilizando una pipeta diferente para cada muestra, añadir 10 μ L del amortiguador de carga en cada tubo. Cerrar los tubos y mezclar los componentes golpeando suavemente con los dedos y repetir lo indicado en el punto 2.

7. Colocar un gel de agarosa en la cámara de electroforesis. Llenar la cámara con buffer de corrida hasta cubrir el gel, compruebe que los pozos del gel están del lado del electrodo negro (-) y que la base del gel está del lado del electrodo rojo (+).

8. Utilizando una punta de pipeta diferente para cada muestra, cargar el gel de la siguiente manera:

Carril	Muestra	Abreviatura
1	Marcador de peso molecular	PM
2	Escena del crimen	EC
3	Sospechoso 1	S1
4	Sospechoso 2	S2
5	Sospechoso 3	S3
6	Sospechoso 4	S4
7	Sospechoso 5	S5

Tabla 9.1. Secuencia de carga en el gel de agarosa.

Nota: En el momento de depositar la muestra en el pozo, tomar la micropipeta de manera normal (con la mano derecha) y apoyar con la mano izquierda la punta de la micropipeta para obtener mayor equilibrio, introducir la punta de la micropipeta en el pozo de forma que no se rompa el gel, ya que de esta manera el pozo se quedaría vacío.

Otra indicación es que cuando la punta de la micropipeta se encuentre en el pozo ir subiendo poco a poco y al mismo tiempo dejar caer la muestra lentamente para que el espacio que ocupa la punta no obstruya el espacio del pozo y la muestra no salga del mismo. Tratar de no contaminar los pozos con las otras muestras a la hora de cargar el gel.

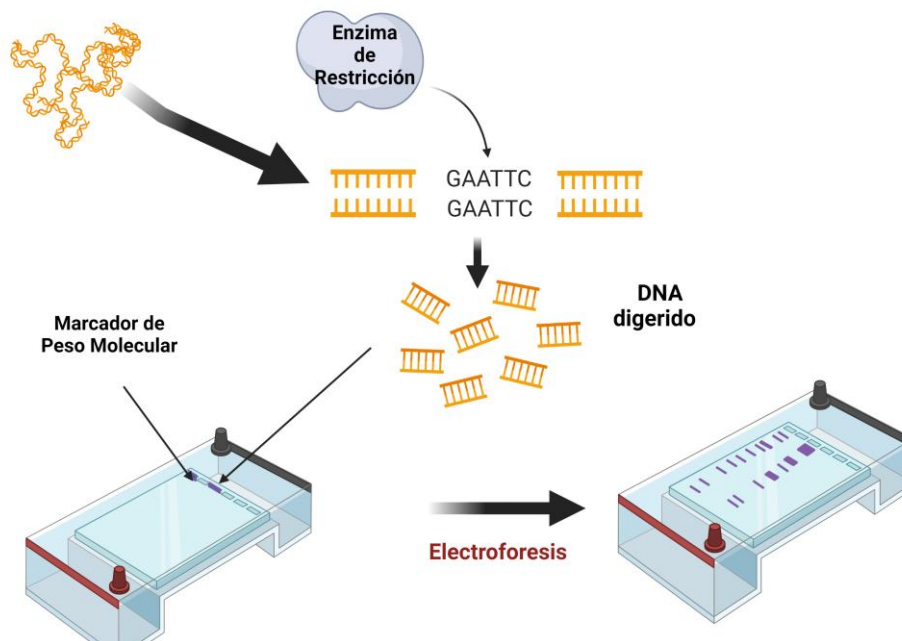


Figura 9.1. Electroforesis. Elaborada en <https://BioRender.com>

BIBLIOGRAFÍA

- BioRad (2017). *Bio-Rad Explorer™ Forensic DNA Fingerprinting Kit*. Obtenido de <https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lse/literature/1660077EDU.pdf>.
- Lieberman M. Peet A. (2018). Uso de las técnicas de DNA recombinante en medicina. En *Bioquímica Médica Básica* 5ª Ed. (pp.319-343). Wolters Kluwer.

II. Colaboradores

ELABORACIÓN O REVISIÓN DE LAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO

1. Soluciones. *Celia Virginia Sánchez Meza y Rebeca Milán Chávez, Norma Lilia Morales García.*
5. Determinación de glucosa en sangre total. *Rebeca Milán Chávez y Eugenia Flores Robles.*
7. Integración Metabólica. *Rebeca Milán Chávez y Eugenia Flores Robles.*
8. Examen General de Orina (EGO). *Rebeca Milán Chávez y Eugenia Flores Robles.*
9. Huella génica. *Rebeca Milán Chávez y Eugenia Flores Robles.*

La revisión y la actualización de los *Objetivos* del curso se realizó en colaboración con el proyecto: *Mejoramiento de la Enseñanza de la Bioquímica y Biología Molecular* (EN-206603) del Programa de Apoyo a Proyectos Institucionales para el Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME), siendo el responsable del proyecto el doctor Federico Martínez Montes.

Edición 2026-2027 Dr. Miguel Ángel Jorge Guevara Fonseca