

Manual de
Bioquímica

Manual de Bioquímica / Melba Fernández Rojas y Eduardo Rojas Tenorio, coordinadores.– Ciudad de México: Colofón; Universidad Autónoma de Tamaulipas, 2018
100 páginas; ilustraciones; 17 x 23 centímetros

LC: **HD75.6 P52**

DEWEY: **333.7 P52**

Consejo de Publicaciones UAT
Tel. (52) 834 3181-800 • extensión: 2948 • www.uat.edu.mx
Centro Universitario Victoria
Centro de Gestión del Conocimiento. Tercer Piso
Cd. Victoria, Tamaulipas, México. C.P. 87149
consejopublicacionesuat@outlook.com

ISBN: 978-607-8626-10-6

 **Fomento Editorial** Una edición del Departamento de Fomento Editorial de la Universidad Autónoma de Tamaulipas

D. R. © 2018 Universidad Autónoma de Tamaulipas
Matamoros SN, Zona Centro Ciudad Victoria, Tamaulipas C.P. 87000
Edificio Administrativo, planta baja, CU Victoria
Ciudad Victoria, Tamaulipas, México
Libro aprobado por el Consejo de Publicaciones UAT

Colofón
Franz Hals núm. 130, Alfonso XIII
Delegación Álvaro Obregón C.P. 01460, Ciudad de México
www.paraleer.com/colofonedicionesacademicas@gmail.com

ISBN: 978-607-8622-73-3
Publicación financiada con recurso PFCE 2017

Se prohíbe la reproducción total o parcial de esta obra incluido el diseño tipográfico y de portada, sea cual fuera el medio, electrónico o mecánico, sin el consentimiento del Consejo de Publicaciones UAT.

Impreso en México • *Printed in Mexico*

El tiraje consta de 300 ejemplares

Este libro fue dictaminado y aprobado por el Consejo de Publicaciones UAT mediante un especialista en la materia. Asimismo fue recibida por el Comité Interno de Selección de Obras de Colofón Ediciones Académicas para su valoración en la sesión del segundo semestre 2017, se sometió al sistema de dictaminación a “doble ciego” por especialistas en la materia, el resultado de ambos dictámenes fueron positivos.

Manual de **Bioquímica**

COORDINADORES:

Q.F.B. MELBA FERNÁNDEZ ROJAS

Q.F.B. EDUARDO ROJAS TENORIO

FACULTAD DE MEDICINA DE TAMPICO

"ALBERTO ROMO CABALLERO"

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TAMAULIPAS





Ing. José Andrés Suárez Fernández
PRESIDENTE

Dr. Julio Martínez Burnes
VICEPRESIDENTE

Dr. José Manuel Cappello y García
SECRETARIO TÉCNICO

C.P. Guillermo Mendoza Cavazos
VOCAL

Dra. Rosa Issel Acosta González
VOCAL

Lic. Víctor Hugo Guerra García
VOCAL

Consejo Editorial del Consejo de Publicaciones de la Universidad Autónoma de Tamaulipas

Dra. Lourdes Arizpe Slogher • Universidad Nacional Autónoma de México | **Dr. Amalio Blanco** • Universidad Autónoma de Madrid, España | **Dra. Rosalba Casas Guerrero** • Universidad Nacional Autónoma de México | **Dr. Francisco Díaz Bretones** • Universidad de Granada, España | **Dr. Rolando Díaz Lowing** • Universidad Nacional Autónoma de México | **Dr. Manuel Fernández Ríos** • Universidad Autónoma de Madrid, España | **Dr. Manuel Fernández Navarro** • Universidad Autónoma Metropolitana, México | **Dra. Juana Juárez Romero** • Universidad Autónoma Metropolitana, México | **Dr. Manuel Marín Sánchez** • Universidad de Sevilla, España | **Dr. Cervando Martínez** • University of Texas at San Antonio, E.U.A. | **Dr. Darío Páez** • Universidad del País Vasco, España | **Dra. María Cristina Puga Espinosa** • Universidad Nacional Autónoma de México | **Dr. Luis Arturo Rivas Tovar** • Instituto Politécnico Nacional, México | **Dr. Aroldo Rodríguez** • University of California at Fresno, E.U.A. | **Dr. José Manuel Valenzuela Arce** • Colegio de la Frontera Norte, México | **Dra. Margarita Velázquez Gutiérrez** • Universidad Nacional Autónoma de México | **Dr. José Manuel Sabucedo Cameselle** • Universidad de Santiago de Compostela, España | **Dr. Alessandro Soares da Silva** • Universidad de São Paulo, Brasil | **Dr. Akexandre Dorna** • Universidad de CAEN, Francia | **Dr. Ismael Vidales Delgado** • Universidad Regiomontana, México | **Dr. José Francisco Zúñiga García** • Universidad de Granada, España | **Dr. Bernardo Jiménez** • Universidad de Guadalajara, México | **Dr. Juan Enrique Marcano Medina** • Universidad de Puerto Rico-Humacao | **Dra. Ursula Oswald** • Universidad Nacional Autónoma de México | **Arq. Carlos Mario Yori** • Universidad Nacional de Colombia | **Arq. Walter Debenedetti** • Universidad de Patrimonio, Colonia, Uruguay | **Dr. Andrés Piqueras** • Universitat Jaume I, Valencia, España | **Dr. Yolanda Troyano Rodríguez** • Universidad de Sevilla, España | **Dra. María Lucero Guzmán Jiménez** • Universidad Nacional Autónoma de México | **Dra. Patricia González Aldea** • Universidad Carlos III de Madrid, España | **Dr. Marcelo Urra** • Revista Latinoamericana de Psicología Social | **Dr. Rubén Ardila** • Universidad Nacional de Colombia | **Dr. Jorge Gissi** • Pontificia Universidad Católica de Chile | **Dr. Julio F. Villegas** • Universidad Diego Portales, Chile | **Ángel Bonifaz Ezeta** • Universidad Nacional Autónoma de México

Índice

PRÓLOGO	9
REGLAMENTO DEL LABORATORIO	11
INTRODUCCIÓN	15
PRÁCTICA No. 1 OPERACIONES BÁSICAS DEL LABORATORIO DE BIOQUÍMICA.....	17
PRÁCTICA No. 2 ESPECTROFOTÓMETRO.....	25
PRÁCTICA No. 3 FLEBOTOMÍA.....	33
PRÁCTICA No. 4 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES	39
PRÁCTICA No. 5 PRESIÓN OSMÓTICA.....	51
PRÁCTICA No. 6 DETERMINACIÓN DE CLORO, SODIO Y POTASIO.....	57
PRÁCTICA No. 7 pH Y SOLUCIONES AMORTIGUADORAS.....	65
PRÁCTICA No. 8 MECANISMOS DE REGULACIÓN DEL EQUILIBRIO ÁCIDO- BASE DESPUÉS DEL EJERCICIO MUSCULAR Y DE LA INGESTIÓN DE BICARBONATO.....	71
PRÁCTICA No. 9 INTERPRETACIÓN A NIVEL LABORATORIO	

DE UNA GASOMETRÍA ARTERIAL.....	79
PRÁCTICA No. 10	
ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE PROTEÍNAS.....	85
PRÁCTICA No. 11	
PROPIEDADES GENERALES DE LOS AMINOÁCIDOS.....	91
PRÁCTICA No. 12	
FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD DE UNA REACCIÓN ENZIMÁTICA.....	95
PRÁCTICA No. 13	
CADENA RESPIRATORIA.....	103
PRÁCTICA No. 14	
OXIDACIONES BIOLÓGICAS: PRESENCIA DE CATALASA EN TEJIDO HEPÁTICO	111
PRÁCTICA No. 15	
ANÁLISIS DE AZÚCARES REDUCTORES.....	119
PRÁCTICA No. 16	
DETERMINACIÓN DE GLUCOSA EN SANGRE.....	125
PRÁCTICA No. 17	
PERFIL DE LIPÍDOS.....	131
PRÁCTICA No. 18	
INTEGRACIÓN DEL METABOLISMO.....	138
PRÁCTICA No. 19	
ESTUDIO DE CASOS CLÍNICOS.....	145
LISTA DE REFERENCIAS.....	151

Prólogo

La Bioquímica y la Medicina se encuentran estrechamente relacionadas, la salud depende de un perfecto equilibrio de reacciones bioquímicas que acontecen en el organismo a nivel molecular, por lo que la enfermedad evidencia anomalías en biomoléculas, reacciones bioquímicas o procesos bioquímicos.

El laboratorio es considerado como un lugar donde se facilita el trabajo en equipo, requiere de un trabajo integrador; de comunicación, investigación, aporte de ideas; es el lugar propicio donde las tareas experimentales coadyuvan a reestructurar los conocimientos teóricos y favorecen lograr un aprendizaje significativo e integrador.

La utilización de diversas pruebas bioquímicas de laboratorio es un componente integral del diagnóstico y de la vigilancia del tratamiento, por lo que el manual de prácticas colabora a reforzar el proceso de enseñanza aprendizaje, requiriendo de la participación del alumno y guía del profesor.

El manual contiene prácticas que conllevan la secuencia del programa de estudios por competencias, por lo que cada práctica representa la actividad integradora de cada una de las unidades. Cada práctica incluye actividades de aprendizaje donde el alumno deberá proporcionar la respuesta correcta sustentada en las referencias bibliográficas correspondientes.

La metodología utilizada y fundamentada en este Manual de prácticas posibilita de manera sencilla, pero validable y científica, el interés del alumno por aplicar los conocimientos obtenidos en un salón de laboratorio a través de experimentos y reacciones hasta llevarlo a la vida profesional.

Durante el periodo se observará la existencia de una gran cantidad de información que se debe asimilar en un periodo de tiempo corto, por lo que revisando aspectos prácticos se puede generar sinergia entre ambas fases (teoría-práctica) con un fin en común: LA BÚSQUEDA DEL CONOCIMIENTO, QUE SE TRADUCE EN SER UN MEJOR ESTUDIANTE.

Experimentar de forma adecuada todos los aspectos que son importantes es complicado, por lo que se debe contribuir con esfuerzo, empeño y dedicación durante el desarrollo de las actividades que este manual sugiere.

Queda claro que el manual es susceptible a la mejora continua, lo cual representa una oportunidad, para que de manera conjunta, alumnos, académicos y personal relacionado con el área trabajemos por un bien común: LA FORMACIÓN DE PROFESIONALES DE LA SALUD Y EL DESARROLLO DE SU CAPACIDAD ANALÍTICA.

La sesión de clase es del alumno, y la búsqueda del CONOCIMIENTO y la ACTUALIZACIÓN CONTINUA forma mejores profesionistas, nunca se debe dudar en cuestionar, y atesorar las herramientas necesarias para entender y comprender una de las materias más importantes en su formación: la Bioquímica.

Q.F.B. Melba Fernández Rojas

Q.F.B. Eduardo Rojas Tenorio

Reglamento del laboratorio

A. DE LOS ALUMNOS

1. Asistir al laboratorio 5 minutos antes de la sesión de la práctica. Se tomará lista de asistencia en punto de la hora de sesión, se darán hasta 10 minutos después de la hora que serán considerados retardo, dos retardos equivalen a una inasistencia.
2. Obligatorio asistir a las sesiones de laboratorio con bata y zapato cerrado, guantes de látex y gorro que cubra el cabello en su totalidad (personas que tengan cabello largo deberán sujetarlo de manera que no obstruya la visibilidad)
3. Mostrar una actitud disciplinada, guardar respeto tanto por los compañeros como del personal que labore en dicha instalación.
4. Estrictamente prohibido fumar y comer dentro de las instalaciones del laboratorio. Tampoco se permitirá el uso del CELULAR en horario de clase, salvo cuando se requiera evidencia fotográfica para el reporte de la práctica.
5. En caso necesario, proporcionar espécimen orgánico u otro material de trabajo que se solicite para la práctica.
6. Entregar los reportes en el tiempo que establezca el profesor de clase, así como los trabajos académicos que sean encomendados.
7. Lavar las manos al llegar y después de salir del laboratorio, así como cuantas veces sea necesario durante el desarrollo de la práctica. Secar las manos con papel desechable.
8. Durante el desarrollo de la práctica, no tocar el celular o algún material didáctico como laptops, libros, cuadernos, para evitar contaminación y llevarla a áreas ajenas al laboratorio.

9. Utilizar el equipo de laboratorio siguiendo cautelosamente las instrucciones establecidas para su manejo.

10. En cuanto al transporte del microscopio de así requerirse, deberá sujetarse por el brazo y la base. Será obligatorio limpiar los oculares, objetivos y platinas antes y después de utilizarlo. Nunca deberá dejarse encendido en los periodos donde no se utilice.

11. Mantener las mesas de trabajo limpias y en orden. Al término de la práctica, se higieniza el área de trabajo.

12. Depositar la basura correspondiente de RPBI en los contenedores (rojos) así como la basura común en el área destinada.

13. Cuidar el material del laboratorio que sea proporcionado para la práctica. Concluida la sesión, es obligatorio lavar y entregar al instructor o profesor el material utilizado en buenas condiciones, de lo contrario el alumno será responsable de sustituir el material roto o extraviado.

14. Antes de salir del laboratorio, rectificar que el equipo no utilizado quede desconectado y comprobar que las llaves de agua y gas se encuentren cerradas.

B. DEL PROFESOR

1. Es obligación y deber de asistir a clases e impartirlas en el horario marcado.

2. Actualiza y enriquece los conocimientos de la asignatura para mantener al alumno a la vanguardia médica y aproximarlos al conocimiento.

3. Es responsable de atender y evaluar a los alumnos que se encuentren inscritos en el grupo. No tiene facultad para inscribir ni obligación de evaluar alumnos que no estén inscritos.

4. Expresa al inicio del módulo la forma de evaluación del curso y proporciona a los alumnos los informes de práctica ya evaluados como máximo dos semanas después de recibirlos.

5. Los asuntos relacionados con el trabajo académico y entrega de calificaciones deben tratarse entre el alumno y el profesor, exclusivamente en las instalaciones del laboratorio respetando el horario de clase.
6. Proporciona, en la fecha establecida, calificaciones con el número de grupo de cada alumno al responsable del laboratorio, así como la información académica o la documentación solicitada.
7. Asume la autoridad como responsable del grupo propiciando el orden y el respeto recíproco con los alumnos y el personal del laboratorio.
8. Imparte las prácticas de Laboratorio que se incluyan en la programación por módulo y de acuerdo al calendario vigente en la facultad.
9. Inicia y concluye con puntualidad la sesión en el laboratorio; como caso de excepción, la práctica inicia con un máximo de diez minutos de retraso. implica que el trabajador cuente con certidumbre y protección en su condición

Introducción

EL MÉDICO Y SU RELACIÓN CON EL LABORATORIO CLÍNICO

La medicina es una ciencia en constante desarrollo y el uso de la tecnología en la actualidad tiene una función muy importante para el diagnóstico de las enfermedades, por lo que adquiere vital relevancia la capacitación del personal de la salud para el uso correcto de estas herramientas, el proceso del diagnóstico médico no sólo debe basarse en la clínica y experiencia del médico tratante. El laboratorio clínico mediante el desarrollo de nuevas técnicas analíticas ha ocasionado un extraordinario progreso de la medicina del siglo XXI.

Los análisis complementarios confirman diagnósticos y rechazan otros, asisten en el tratamiento de afecciones ya definidas, proveen ayuda pronóstica, son imprescindibles en la determinación de la extensión y gravedad de un gran número de enfermedades y en la evolución de otras muchas; intervienen en la decisión de opciones terapéuticas, en la detección de efectos indeseables de los medicamentos que se utilizan, rastrean enfermedades ocultas, revelan posibilidades diagnósticas allí donde no llega la sensibilidad de la clínica y también tienen el poder de tranquilizar tanto al paciente como al médico, por lo que el uso del laboratorio clínico como una herramienta para los médicos adquiere dimensiones excepcionales.

La medicina es una ciencia cuya mayor singularidad está dada porque tanto el objeto como el sujeto del conocimiento son seres humanos y la relación no puede ser médico-aparato, ni médico-componente bioquímico de la sangre, sino médico-paciente. Comprender este principio es el humanismo en medicina.

Para un científico de la molécula, la enfermedad de Gaucher podrá ser un trastorno autosómico recesivo del lisosoma, con déficit de B-glucosidasa y que por resultado acumula en las células glucosilceramida, pero para el médico que atiende pacientes, no es el lisosoma quien se enferma, sino el hombre.

El laboratorio clínico agrupa médicos, químicos, biotecnólogos, ingenieros especializados en cualquier rama de la medicina, todos con un enfoque diferente pero con una finalidad común: la búsqueda del bienestar de la humanidad.

El uso del laboratorio clínico ideal debe colaborar al máximo con el médico tratante, sobre todo en aquellos casos que, por presentar problemas de diagnóstico, lo ameriten y no debe aceptarse, ni propiciarse, que sus servicios se limiten a proveer la impersonal información técnica de resultados numéricos, como respuesta a

la requisición de estudios del médico tratante. Estimular el diálogo entre ambos profesionales de la salud (médicos y químicos) debe ser tarea permanente.

El crecimiento de la demanda de determinaciones analíticas ha sido relevante en los últimos años. Quizá por ofrecer diagnósticos nuevos, el abaratamiento de los costes y el recorte en los tiempos de espera de los resultados. No se pueden soslayar otras causas como el hecho de que el diagnóstico y el seguimiento clínico dependan cada vez más de las pruebas del laboratorio.

Práctica No. 1

**OPERACIONES BÁSICAS
DEL LABORATORIO DE BIOQUÍMICA**

COMPETENCIA

Identifica diferentes tipos de materiales y equipo utilizado en el laboratorio de Bioquímica.

INTRODUCCIÓN

El trabajo de laboratorio, sea clínico, de investigación, de patología o con fines estudiantiles requiere del uso de una gran cantidad de materiales de diversos tipos tales como: material volumétrico, instrumentos de análisis, equipos para centrifugación, equipos de calor y frío, etc. El conocimiento de estos materiales es fundamental en el momento de desempeñar funciones al interior del laboratorio.

FUNDAMENTO

El material de laboratorio se puede clasificar de varias formas:

1. Según su naturaleza y composición: vidrio, metal, plástico, porcelana o corcho.
2. Según precie de reposición continua: fungible o inventariable.
3. Según la función o el uso: Material volumétrico (para realizar medidas exactas de volúmenes), material no volumétrico (mide volúmenes aproximados y se utiliza principalmente para calentar líquidos, disolver diversos componentes), material de uso específico (tiene funciones muy diversas, variadas y concretas), material de soporte (sirve como elemento auxiliar de sujeción y soporte para otros materiales).

Equipos de uso frecuente en el laboratorio de bioquímica

Potenciómetro: Equipo que permite medir los cambios de potencia relativos a la concentración de ion hidrogeno (pH), utilizando un sistema de referencia externo (Ag/AgCl) y una solución de KCL.

Espectrofotómetro: Instrumento usado en la física óptica que sirve para medir, en función de la longitud de onda, la luz transmitida o absorbida por una muestra coloreada (Ley de Beer). Si el equipo tiene un diseño de doble canal (manejo simultáneo de dos haces luminosos), de manera automática puede eliminar los valores de absorbancia causados por otros componentes de la muestra (blanco de reacción).

Microscopio: Es un instrumento que permite observar objetos no perceptibles a al ojo humano. Esto se logra mediante un sistema óptico compuesto por lentes, que forman y amplifican la imagen del objeto observado.

Pipetas automáticas: Se encuentran, en una amplia gama, de diferentes volúmenes comprendidos de 0.2 microlitros (μl) y 100 μl . Son de gran precisión y de fácil mantenimiento. Su interior es de acero inoxidable, lo que permite su uso prolongado con un mínimo de cuidados. Su volumen se puede ajustar según las necesidades de medición.

Pipeteadores automáticos: Sirven para succionar líquidos con pipetas aforadas y/o graduadas, en vidrio o plástico, en una gama de volúmenes de 0.1 a 100 mL. Si se maneja correctamente el líquido pipeteado solo entra en contacto con la pipeta y evita que se contamine.

Pipeteadores manuales: instrumento de goma o plástico que una vez adaptados a las pipetas permiten succionar los diferentes líquidos y evitar accidentes o contaminaciones.

METODOLOGÍA

1. El profesor y/o personal de laboratorio mostrará las áreas del Laboratorio de Bioquímica, ubicando los recipientes de RPBI y basura común, botiquín de primeros auxilios, salida del laboratorio, regadera y lavador de ojos, mencionando su uso exclusivo.
2. Para fomentar la confianza e interacción entre el alumno y el profesor, este último comentará su experiencia en diferentes tipos de laboratorio de uso clínico en hospitales y/o centros de investigación visitados alguna vez durante su experiencia profesional, de manera que los alumnos refieran sus conocimientos y permitan saber qué tanto están familiarizados con el uso de materiales y reactivos.
3. El profesor deberá mostrar el equipo de laboratorio utilizado con mayor frecuencia durante el curso, así como algunas operaciones básicas enlistadas a continuación:

A) TITULACIÓN

1. Montar el soporte universal con la doble nuez y la pinza, y la bureta.
2. Colocar el vaso de precipitado debajo de la bureta, para recibir el vertido.

3. Llenar la bureta evitando salpicaduras o formación de burbujas.
4. Empezar a verter “X” cantidad de volumen en el vaso de precipitado, comprobando que el menisco cae justo en la medida deseada.
5. Teniendo en cuenta que con una mano se debe manipular la llave y controlar la velocidad de vertido y con la otra mano se deberá agitar el vaso de precipitado, para ayudar a diluir la mezcla.
6. Al terminar, desmontar la bureta del soporte.

B) USO DE PIPETAS

1. Llenar medio vaso de precipitado con agua destilada.
2. Colocar pipetador automático o perilla de succión: medir 5 mL y vaciar el volumen en un tubo de ensaye.
3. Repetir la operación 3 veces (punto 3 y punto 4)

C) USO DE MICROPIPETAS

1. Seleccionar la micropipeta y las puntas a utilizar teniendo en cuenta el volumen de solución a pipetear.
2. Seleccionar el volumen por medio de la rueda y/o tornillo de graduación, de forma firme, pero suavemente de vuelta al tornillo mientras observa el cambio de la numeración del *display*. Teniendo cuidado de no exceder los límites de la micropipeta.
3. Colocar la punta correspondiente, presionar la punta firmemente usando un movimiento de torsión ligero.
4. Parar la aspiración y la dispensación de líquido, efectuar lo siguiente:
 - a) Presionar el botón superior hasta el primer tope positivo.
 - b) Sostener la pipeta verticalmente, sumerja la punta en el líquido. La profundidad a la que la punta se sumerge en la muestra depende del modelo; en general menos de 6 mm.
 - c) Soltar el botón despacio y fácilmente para aspirar.
 - d) Esperar unos segundos y entonces retire la punta del líquido succionado, que en este caso será agua destilada.
 - e) Dispensar el líquido succionado en un tubo de ensaye
 - f) Presionar el botón suavemente hasta el primer tope.
 - g) Una vez dispensado el líquido, repetir la operación un par de veces para revisar la técnica.
 - h) Expulsar la punta presionando el botón de eyección.

D) ENFOQUE EN EL MICROSCOPIO

Los pasos a seguir para la perfecta utilización del microscopio son las siguientes:

1. Conectar el microscopio.
2. Colocar la preparación sobre la platina de forma que la estructura a observar quede en el orificio central de la platina.
3. Poner en el objetivo de menor aumento cuyo amplio campo visual facilita el hallazgo de estructuras importantes.
4. Subir la platina accionando el tornillo macrométrico y observar la preparación desde fuera hasta alcanzar el tope superior. En ningún caso tocar la preparación con los objetivos.
5. Observar por los oculares, bajando lentamente la platina con el tornillo macrométrico hasta conseguir ver el objeto lo más nítido posible.
6. Ajustar el enfoque con el tornillo micrométrico hasta distinguir claramente.
7. Para observar la preparación a mayores aumentos cambiar de objetivo con un simple giro del revolver (SIN MOVER EN NINGÚN CASO EL TORNILLO MACRO). Las pequeñas variaciones en el enfoque se producen al cambiar de objetivo y se corrigen con el micro.
8. Para observar otros campos, desplazar la preparación moviendo los tornillos de la platina.
9. Para cambiar la preparación: Bajar la platina, colocar el objetivo de menor aumento, quitar la preparación y colocar la siguiente
10. Una vez terminada la observación es necesario quitar la preparación y desconectar el microscopio.

REPORTE

1. Investigar y complementar la siguiente tabla:

Nombre	Dibujo o Imagen	Función
Probeta graduada		

Nombre	Dibujo o Imagen	Función
Termómetro		
Mechero de Bunsen y Fisher		
Vaso de precipitados		
Tubo de ensayo		
Bureta		

Nombre	Dibujo o Imagen	Función
Pipetas graduadas		
Microscopio		
Micropipeta		
Portaobjetos		
Cubreobjetos		

- Utilizar evidencia fotográfica o esquemas donde se describa lo efectuado en clase, elaborar sus conclusiones.

Práctica No. 2

ESPECTROFOTÓMETRO

COMPETENCIA

Comprende, el principio físico y químico así como el manejo y funcionamiento del espectrofotómetro.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, el laboratorio clínico dispone de una amplia variedad de técnicas instrumentales que utilizan distintos métodos para la medición de una gran variedad de analitos. Un espectrofotómetro es un aparato electrónico que se utiliza para medir las proporciones de luz de diferentes longitudes de onda, que son absorbidas y transmitidas por una solución usualmente coloreada.

La luz del sol es una forma de energía conocida como energía electromagnética, también llamada **RADIACIÓN** que viaja en ondas rítmicas. La distancia entre las crestas de las ondas electromagnéticas se conoce con el nombre de longitud de onda, se representa por una letra griega llamada lambda (λ) y su dimensional se expresa en nanómetros ($1 \text{ nm} = 10^{-9}$).

Cuando la energía incide en un objeto que no absorbe energía luminosa, lo vemos de color blanco, porque refleja toda la energía: El blanco es la suma de todos los colores. En contraste, vemos negros a los objetos que absorben la totalidad de la energía luminosa (no reflejan nada) y se recalientan muy rápido por lo que el negro es la ausencia de color.

Se denominan fotómetros o colorímetros a los instrumentos que utilizan filtros para aislar una región o parte del espectro, mientras que los instrumentos que emplean redes de difracción o prismas son llamados espectrofotómetros.

La radiación electromagnética está caracterizada por medio de la longitud de onda (λ) y de la frecuencia (ν). La relación entre la energía de los fotones y la frecuencia está representada en la ecuación $E: h\nu$, donde la h es la constante de Plank. La frecuencia se relaciona con la longitud de onda por medio de la siguiente ecuación ($\nu: c / \lambda$).

El ojo humano es sensible a la luz de longitud de onda entre 380 y 750 nm, pero los instrumentos actuales permiten realizar medidas tanto $<380 \text{ nm}$ (ultravioleta, UV) como a $>750 \text{ nm}$ (infrarrojo, IR).

La ley de **Lambert-Beer** establece que la concentración del analito es directamente proporcional a la cantidad de la luz absorbida (Absorbancia) o inversamente proporcional a la cantidad de la luz transmitida (Transmitancia)

Cuando se desea determinar la concentración de un compuesto en una solución mediante el uso de un espectrofotómetro, en casi todas las técnicas de laboratorio debe procederse a la preparación de tres tubos: Un tubo blanco, un tubo estándar, y un tubo muestra.

$$A = abc = \log \frac{100}{T}$$

Donde:

A = absorbancia

a = coeficiente de absorción

b = es el paso de la luz en cm

c = es la concentración del analito

T = Transmitancia en % (definida como la relación en porcentaje entre la intensidad de la luz transmitida I e incidente I_0)

Se debe tener en cuenta que la absorbancia no es directamente cuantificable, sino que es calculada. Esta ley tiene varias limitaciones y ocurre cuando:

1. Se miden concentraciones muy elevadas.
2. La radiación incidente es monocromática.
3. La absorción del solvente es significativa.
4. Existencia de fenómenos de luz errática (energía radiante que alcanza al detector a las longitudes de ondas distintas a las establecidas por el monocromador).
5. Los lados de la celda no son paralelos.

COMPONENTES DE UN ESPECTROFOTÓMETRO

La radiación es emitida por una fuente de radiación, el monocromador selecciona una determinada longitud de onda que incidirá sobre la cubeta de análisis, donde se producirá la absorción de parte de la radiación, el resto de la misma alcanzará el detector, donde se transforma en una señal cuantificable.

Fuente de radiación: Por lo general en el espectro visible es la lámpara de tungsteno, aunque dependiendo de la longitud de onda se utilizaran otras lámparas de otros materiales como hidrogeno, deuterio (región ultravioleta), vapores de mercurio o fuentes de laser (región visible de IR) por mencionar solo algunas.

Selectores de longitud de onda: se realiza por medio de filtros o monocromadores;

los filtros son dispositivos sencillos , compuestos por un solo material, que transmite selectivamente la longitud de onda deseada, absorbiendo el resto de las longitudes. En los monocromadores, la energía radiante es dispersada por una red de difracción o por un prisma en un espectro y la longitud de onda deseada se aísla por medio de hendiduras mecánicas.

Detectores: Los hay de diferentes materiales, pero su función es producir una señal eléctrica analizada en un microprocesador cuando es registrada.

CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS:

Para algunas determinaciones de concentración es necesario utilizar métodos espectrofotométricos, por lo que, se debe tener una gradilla con las siguientes preparaciones:

- **TUBO “BLANCO”** contiene algún diluyente, estabilizador químico de pH, como un punto importante debe destacarse que esta preparación no debe contener el elemento que se desea estudiar. La finalidad principal es efectuar la calibración del espectrofotómetro, desechando la absorbancia de todos los componentes diferentes de la sustancia de estudio, ajustando la absorbancia de la pantalla del espectrofotómetro a “cero”.
- **TUBO “ESTÁNDAR”** contiene la sustancia o el elemento de estudio que deberá de estar referenciado con una determinada longitud de onda. Tiene la finalidad de comparar la absorbancia (de una concentración conocida) con la absorbancia de la muestra.
- **TUBO “MUESTRA”** con propiedades semejantes a las del tubo blanco, pero con la característica de que sí podrá contener el elemento que se desea estudiar pero en una concentración no conocida. En el campo de la bioquímica el tubo de muestra se efectúa por lo general a partir de líquidos biológicos como sangre, suero, plasma, líquido cefalorraquídeo, orina por mencionar algunos.

La fórmula para calcular la **CONCENTRACIÓN ([])** de una sustancia para cualquier técnica espectrofotométrica en una solución siempre será:

$$\text{CONCENTRACIÓN MTA.} = \frac{\text{Concentración del estándar} \times \text{ABS de la mta.}}{\text{Absorbancia del estándar}}$$

EQUIPO y MATERIAL	REACTIVOS
Espectrofotómetro	Solución de azul de metileno o safranina
Cubetas	Agua destilada
3 Tubo de ensaye	
2 pipetas de 5 mL	
1 Perilla de succión	
1 gradilla	

METODOLOGÍA

1. Utilizando colorantes como azul de metileno o safranina efectuar una solución patrón y al menos tres diluciones seriadas, siguiendo indicaciones del profesor.
2. Las soluciones anteriores deben ser contenidas en un tubo de ensaye.
3. Investigar previamente la longitud de onda del espectro visible de acuerdo a la coloración que se desea analizar.
4. El personal del laboratorio describirá la operación del equipo y las consideraciones importantes acerca del uso y el cuidado del espectrofotómetro.
5. Efectuar la lectura de la solución patrón y las diluciones realizadas, con el objeto de registrar sus valores en unidades de absorbancia y transmitancia.

REPORTE

Contestar las siguientes preguntas:

1. Describir el principio bajo el cual la radiación de rayos X es utilizada en el campo de la medicina.
2. Enlistar en términos espectrofotométricos la diferencia de color entre la sangre arterial y la sangre venosa.
3. Graficar e interpretar los resultados.

Práctica No. 3

FLEBOTOMÍA

COMPETENCIA

Aplica la técnica de flebotomía para la toma de muestra sanguínea por punción venosa.

INTRODUCCIÓN

Las venas de un paciente constituyen una de las principales fuentes de especímenes para análisis de laboratorio, ya que son el sitio ideal para transfusiones sanguíneas en la administración de medicamentos. El proceso mediante el cual la sangre es extraída de la vena es conocido como **flebotomía**.

Una toma de muestra de sangre, puede ser venosa, arterial o capilar. Para la mayoría de los exámenes clínicos se recomienda utilizar **sangre venosa**. En el caso de los neonatos, se recomienda utilizar la yema del *hallux* o del talón, debido a que los accesos venosos resultan ser de difícil acceso.

FUNDAMENTO

La punción venosa ha sido estandarizada por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLL) de Estados Unidos, la cual recomienda que la zona de extracción debe ser la región venosa antecubital (venas mediana basilíca o mediana cefálica), ya que a este nivel existe una piel fina, móvil y las venas son de grueso calibre y relativamente superficiales.

Actualmente se recomienda evitar el uso de jeringa debido al elevado riesgo de exposición que supone el proceso de transferencia de la sangre de la misma al tubo colector. En su lugar se recomienda el uso de sistemas tales como:

1. Sistema colector de tubo al vacío que incorpora una aguja y un portatubos.
 2. Un sistema de portatubos con dispositivo para expulsar la aguja.
 3. Un adaptador para acoplar un catéter o una aguja de alas a un port
1. Previamente el flebotomista verifica la identificación del paciente (nombre completo) y corroborarlo con la solicitud u orden del médico, previo a los analitos requeridos en la solicitud es importante hacer énfasis en el periodo de ayuno del paciente.
 2. Se le indica al paciente sobre el proceso de extracción además de mencionar que puede existir un ligero dolor, y se le cuestiona acerca de algún

padecimiento importante que deba conocer el flebotomista, como por ejemplo una mastectomía reciente.

3. Evitar puncionar en un área con hematoma, fistulas, quemaduras, escoriaciones de la piel, cicatrices o del costado en que se ha realizado mastectomía reciente y donde exista la presencia de una venoclisis.

Extracción de la muestra

1. Solicitar al paciente que extienda completamente el brazo con la superficie palmar hacia arriba, con la finalidad de aplicar el torniquete.
2. El paciente debe abrir o cerrar el puño del paciente, para facilitar al flebotomista la exploración de las venas.
3. Una vez seleccionada la vena o el lugar de la punción, se procede a limpiar con yodopovidona al 1% y después alcohol étílico al 70%, en dado caso no contar con yodopovidona con el alcohol es suficiente.
4. Revisar que la aguja y sistema de recolección se encuentren en perfectas condiciones.
5. Se sujeta el brazo y se indica al paciente que el puño debe permanecer cerrado.
6. Ejecutar la punción.
7. Remover el torniquete, no debe de estar colocado en el paciente por mucho tiempo ya que favorece la hemoconcentración.
8. Extraer la aguja.
9. Presionar suavemente el lugar de la punción con algodón humedecido en alcohol para ayudar a que no se formen hematomas.
10. Una vez recolectada la muestra proceder a la identificación de la misma.
11. Comprobar que la muestra de sangre total no presente microcoágulos o hemólisis, con la finalidad de evitar un rechazo de la muestra por no cumplir el control de calidad requerido para su análisis.
12. Desechar los residuos utilizados de la técnica según lo indica la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-087-ECOL-SSA1-2002. (RPBI)

Precauciones generales

1. Durante la toma de muestra se debe efectuar bajo estrictas normas de higiene y seguridad; ya que toda muestra debe ser considerada potencialmente infecciosa.
2. El material desechable a usar se abrirá sólo al momento de su utilización y, una vez manipulado, no podrá guardarse nuevamente.
3. Tomar precauciones al manipular agujas y/o lancetas.

4. No dejar agujas y/o lancetas usadas en la mesa de trabajo.
5. No coloque el protector a la aguja.
6. Una vez realizada la toma de muestra, desechar inmediatamente los materiales usados en recipientes apropiados para su desecho.
7. Los recipientes que contienen algodón y los de desecho deben estar perfectamente cerrados todo el tiempo y se abrirán solamente al momento de usar.
8. Al momento de hacer la extracción colocarse los guantes desechables, los cuales se mantendrán puestos durante todo el procedimiento.
9. Si ocurre un pinchazo accidental, informar de inmediato al jefe de laboratorio o responsable del área donde se encuentre. Debe mantener la calma, y lavarse inmediatamente con agua, jabón y alcohol. Además de que debe favorecer la salida de sangre por presión continua.

MATERIAL

Agujas	Tubos tapón morado
Jeringas	Tubos tapón azul
Vacutainer	Tubos tapón amarillo
Agujas para vacutainer	Tubos tapón rojo
Torundas con alcohol	
Ligadura	

REPORTE

1. Mencionar cinco causas que dificultan la extracción de la punción venosa.

2. Esquematizar o dibujar las zonas de la región antecubital donde se pueda practicar una punción venosa en recién nacidos, niños de corta edad y adultos.

3. Resumir en qué consiste la técnica de punción capilar y en qué tipo de pacientes se recomienda su uso.

4. Enlistar cinco requisitos a nivel laboratorio para considerar que una muestra de sangre es representativa y de calidad diagnóstica (control de calidad).

5. Escribir los anticoagulantes utilizados para la preservación de muestras sanguíneas e indicar para qué estudios de laboratorio es recomendable su uso.

Práctica No. 4

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

COMPETENCIA

Aplica fundamentos teóricos y prácticos para el cálculo de soluciones químicas, y analiza los diferentes tipos de soluciones en los seres vivos.

INTRODUCCIÓN

Las reacciones químicas de los organismos vivos se llevan a cabo en solución, por lo tanto las propiedades de las soluciones afectan las reacciones químicas e influyen en la fisiología de los seres vivos. La mayoría de las sustancias biológicas tanto intracelulares como extracelulares, se encuentran en forma de solución o en estado coloidal.

FUNDAMENTO

Las soluciones químicas o disoluciones son mezclas homogéneas de dos o más sustancias, a un nivel iónico o molecular podemos definirla como un sistema homogéneo formado por dos partes: un soluto y un solvente. Las soluciones a su vez se pueden denominar “concentradas” si poseen una cantidad relativamente alta de soluto y “diluida” si la cantidad es relativamente baja.

Éstas pueden encontrarse en diversos estados físicos, siendo las más comunes, las soluciones en estado líquido, en donde el soluto comúnmente es un sólido que es agregado a un solvente líquido.

En Bioquímica, las soluciones acuosas son importantes porque todos los procesos químicos que se estudian se efectúan en forma de solución, con agua como solvente.

FORMAS DE EXPRESAR CONCENTRACIÓN

Se define la **concentración** como la cantidad de soluto en una cantidad de solvente. Dicha cantidad puede expresarse de dos formas generales, la primera expresando la cantidad de soluto en cantidad de solución (molaridad, normalidad, osmolaridad, fracción molar y porcentuales) y la segunda forma se expresa respecto de la cantidad de solvente (molalidad y osmolalidad). A continuación se mencionan las unidades más utilizadas.

Soluciones porcentuales: Se expresan en unidades físicas, es decir sólo dependerán de las concentraciones del soluto y solvente, indicando la cantidad de soluto en 100 unidades de solución:

1. **Porcentaje peso/peso (p/p).** Es el número de gramos de soluto en 100 gramos de solución. (Ecuación 1)

$$\% \frac{P}{P} = \frac{\text{peso de soluto (g)}}{\text{peso de solución (g)}} \times (100\%) \dots \text{Ecuación 1}$$

Ejemplo 1.1: Calcular la concentración en porcentaje de peso de 180 gramos de alcohol etílico ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), disueltos en 1,5 litros de agua.

Peso del soluto: 180 gramos de alcohol

Peso del disolvente: 1.5 L = 1500 gramos de agua

Peso de la disolución: 180 + 1500 : 1680 gramos.

$$\% \frac{P}{P} = \frac{180 \text{ gramos de alcohol}}{1680 \text{ de disolución}} \times (100\%) = 10.7\%$$

Ejemplo 1.2: Calcular los gramos necesarios de cloruro de sodio (NaCl) para que esté en 12% en peso en una disolución con 1 litro de agua:

Peso del soluto: desconocido. (x)

Peso del disolvente: 1 L = 1000 gramos de agua

Peso de la disolución: x + 1000

Recordando la (Ecuación 1) se sustituyen valores de la siguiente manera:

$$\%12 = \frac{(x)}{1000 + x} \times 100$$

Despejando:

Primer paso: $12 * (1000+x) = (x) * 100$

Segundo paso: $12,000+12x=100x$

Tercer paso: $12,000 + 12x = 100x$

Cuarto paso: $12,000=100x - 12x$

Quinto paso: $12,000=88x$

Sexto paso: $12,000/88=x$

Séptimo paso: $136.36 = x$

Resultado: 136.36 gramos de Cloruro de sodio para tener una concentración 12% en peso.

2. **Porcentaje masa/volumen (m/v).** Es el número de gramos de soluto en 100 mL de solución; es la forma que utilizada cuando no se habla de pureza se usa solo % para esta concentración. (Ecuación 2)

$$\% \frac{m}{v} = \frac{\text{Masa de soluto (g)}}{\text{Volumen de solución (ml)}} \times (100\%) \dots \text{Ecuación 2}$$

Ejemplo 2.1: Calcular el % (m/v) de una solución que se prepara disolviendo 22 g de metanol (CH_3OH) en etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) para dar 100 mL de solución.

$$\% \frac{m}{V} = \frac{22 \text{ mL metanol}}{100 \text{ mL solución}} \times (100\%) = 22\%$$

3. Porcentaje volumen/volumen (%V/V). Es el número de mililitros de soluto en 100 mililitros de solución.

$$\% \frac{v}{v} = \frac{\text{Volumen de soluto (mL)}}{\text{Volumen de solución (mL)}} \times (100\%) \dots \text{Ecuación 3}$$

Ejemplo 3.1:

Calcular el % en volumen de una solución de alcohol isopropílico preparando 25 mL de alcohol con suficiente agua para dar un volumen total de 125 mL de solución.

$$\% \frac{V}{V} = \frac{25 \text{ mL de alcohol}}{125 \text{ mL solución}} \times (100\%) = 20\%$$

Ejemplo 3.2: Calcular el volumen necesario de un tinte líquido para que esté en 12% en volumen en una disolución con 1 kg. de agua.

Aplicando la ecuación 3 y tomando como ejemplo el planteamiento del problema 1.2 sustituir los datos como se muestra a continuación.

$$\%12 = \frac{(x)}{1 + x} \times 1$$

Resultado: Despejando la ecuación, tenemos como resultado que se necesitan 0.136 litros de tinte para tener una concentración 12% peso.

4. Miliequivalentes por ciento. Es el número de miliequivalentes químicos de soluto en 100 mililitros de solución. En el campo de la química clínica se prefiere hacer uso de una unidad distinta al peso para expresar la cantidad

de electrolitos u otros fluidos biológicos, esta unidad es el **miliequivalente** (*meq*) el cual se define como el número de milimoles del analito multiplicado por la carga del ión del analito. Los resultados generalmente se reportan como meq/L, el uso de estas unidades indica al médico por ejemplo si los electrolitos han aumentado o disminuido de manera notable.

$$mEq = \frac{\text{masa (mg)}}{pEq} \dots \text{Ecuación 4}$$

Ejemplo 4.1 ¿Cuántos miliequivalentes de sodio (Na) recibe una paciente a la cual se le ha administrado una solución de 500 mL de solución salina al 0.9%?

- Primero se debe calcular la masa total del NaCl (solución salina) administrada al paciente (regla de tres simple)

$$\begin{array}{l} 100 \text{ mL} \text{-----} 0.9 \text{ g NaCl} \\ 500 \text{ mL} \text{-----} x \end{array}$$

Donde $x = (500 * 0.9) / 100$

X=4.5 g que expresado a miligramos (mg) es igual a 4 500 mg.

- Posteriormente calculamos los miliequivalentes (meq) administrados.

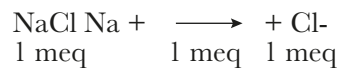
$$\begin{array}{l} 1 \text{ meq de NaCl} \text{-----} 58.5 \text{ mg} \\ x \text{ meq de NaCl} \text{-----} 4,500 \text{ mg} \end{array}$$

Despejando “x”

$$x = (4,500 * 1) / 58.5$$

$$x = 76.92 \text{ meq de NaCl}$$

- Recordar que se efectuó una disociación según su reacción química.



Por lo tanto 76.9 meq de NaCl producen 76.9 meq de Na+

5. Cálculo de partes por millón (ppm). Son las partes de masa de soluto por un millón de partes de solución. El método de cálculo es muy diferente para sólidos, líquidos y gases. La fórmula para el cálculo de ppm en sólidos y líquidos, se expresa según el peso.

$$p.p.m. = \frac{\text{peso de la sustancia analizada}}{\text{peso total}} * 10^6 \dots \text{Ecuación 5}$$

Para el cálculo de ppm de gases es según el volumen.

$$p.p.m. = \frac{\text{peso de la sustancia analizada}}{\text{peso total}} * 10^6 \dots \text{Ecuación 6}$$

Ejemplo 5.1: Una muestra de agua contiene 3.5 mg de iones fluoruro (F-) en 825 mL de solución. Calcular las partes por millón del ion fluoruro en la muestra.

$$\frac{3.5 \text{ mgF}^-}{825 \text{ ml de Sol.} \left(\frac{1 \text{ lto. de sol.}}{1000 \text{ d;ml sol.}} \right)} = 4.2 \text{ ppm}$$

Ejemplo 5.2: Calcular los mg de fluoruro (F-) que hay en una muestra de 1.25 L de solución que tiene 4.0 ppm de ion fluoruro.

$$1.25 \text{ L de sol.} \left(\frac{4.0 \text{ mg F}^-}{1.0 \text{ L. de sol.}} \right) = 5.0 \text{ mg F}^-$$

6. Soluciones molares. La molaridad de una solución se calcula dividiendo los moles del soluto por los litros de la solución. Donde un mol es igual al peso atómico o molecular expresado en gramos (átomo gramo o molécula gramo). Un mol contiene el número de Avogadro (6.023×10^{23}) de partículas, átomos o moléculas. Si un mol de una sustancia se disuelve en agua hasta un volumen de un litro, se obtiene una solución 1 molar (1M).

$$\text{MOLARIDAD} = \frac{\text{número de moles}}{\text{volumen total de la solución (L)}} \dots \text{Ecuación 8}$$

Ejemplo 6.1: ¿Cuál es la molaridad de una disolución de 20g de NaCl en 180 mL de agua?

Primero debemos saber el número de moles en 20g de NaCl.

$$\# \text{moles NaCl} = \frac{20 \text{ g NaCl}}{58.5 \text{ Peso Molecular}} = 0.34 \text{ moles}$$

Ahora determinamos la concentración de la disolución, suponiendo que el volumen de agua no varía en el proceso de disolución.

$$M = \frac{0.34 \text{ moles de NaCl}}{0.18 \text{ L de disolución}} = 1.89 \text{ M}$$

7. **Soluciones normales.** Al igual que la molaridad, esta unidad de concentración se basa en el volumen de solución. La normalidad se define como el número de equivalentes del soluto por litro de solución.

$$\text{Normalidad} = \frac{\text{peso equivalente}}{\text{litro de solución}} \dots \text{Ecuación 9}$$

Donde:

$$\text{peso equivalente} = \frac{\text{Peso molecular}}{\text{número de hidrógeno sustituibles (n)}} \dots \text{Ecuación 10}$$

Ejemplos de pesos equivalentes: el peso equivalente **de un ácido** se calcula dividiendo el peso molecular entre el número de átomos de hidrógeno sustituibles en la molécula. El ácido sulfúrico (H_2SO_4), de peso molecular 98, tiene dos átomos de hidrógeno sustituibles en cada molécula; por lo tanto, su peso equivalente es: $98/2 = 49$.

El peso equivalente de un **hidróxido** se calcula dividiendo el peso molecular entre el número de grupos hidroxilo (OH^-) de la molécula. El hidróxido de aluminio $\text{Al}(\text{OH})_3$ contiene tres grupos OH^- por molécula; su peso molecular es de 78; por lo tanto, su peso equivalente es $78/3 = 26$.

El peso equivalente **de una sal** se calcula dividiendo el peso molecular entre la valencia total de los cationes (cargas positivas) que contenga la fórmula. La valencia del sodio es 1, y el sulfato de sodio Na_2SO_4 (peso molecular 144) tiene dos iones de sodio en cada molécula; por lo tanto, el peso equivalente del sulfato de sodio será $144/2 = 72$.

El peso equivalente de un **oxidante (reductor)** se calcula dividiendo el peso molecular entre el número de electrones ganados (o perdidos) que puedan aportar por molécula. Para calcular la cantidad de una sustancia que se necesita pesar para preparar un volumen determinado de una solución de cualquier normalidad, se aplica una fórmula semejante:

$$\frac{VOLUMEN * EQUIVALENTE * NORMALIDAD}{1000} = \text{gramos de la sustancia}$$

Ejemplo 7. 1: Preparar una solución 0.1 N de cloruro de calcio (CaCl_2) para obtener un volumen de 300 mL.

Volumen = 300 ml

Normalidad = 0.1

Equivalentes = peso molecular del CaCl_2 $111/2 = 55.5$

$$\frac{300 \text{ ml} * 55.5 * 0.1}{1000} = 1.67 \text{ g}$$

8. Soluciones molales. Es el número de moles expresados en el peso del disolvente, la principal ventaja de esta unidad de concentración, con respecto a la molaridad, radica en el hecho de que la molalidad no está en función del volumen por lo tanto es independiente de la temperatura y la presión.

$$\text{Molalidad} = \frac{\text{moles del soluto}}{\text{peso del disolvente}} \dots \text{Ecuación 11}$$

Ejemplo 8.1 ¿Cuál es la molalidad de una disolución de 3.2g de CH_3OH en 200 g de agua?

i. Primero debemos saber el peso molecular del soluto

$$\text{CH}_3\text{OH} = 12 + (4*1) + 16 = 32$$

ii. Calcular el número de moles del soluto

$$\# \text{moles} = \frac{3.2\text{g CH}_3\text{OH}}{32 \text{ Peso Molecular}} = 0.1 \text{ moles}$$

iii. Cálculo de la molalidad

$$\text{Molalidad} = \frac{0.1 \text{ moles de soluto}}{0.2 \text{ Kg de disolvente}} = 0.5m$$

9. **OSMOLARIDAD.** Se define como el número de osmoles de soluto por kilogramo de solvente. Expresado bioquímicamente se refiere al nivel de concentración de los componentes de diversas soluciones.

Osmolaridad = Osm = molaridad (M) x # partículas ... **Ecuación 12**

Ejemplo 9.1 ¿Cuál es la osmolaridad de una solución salina?

Primero: Hay que recordar que una solución salina es NaCl 0.9%, por lo que tenemos que convertir esta concentración a g/L.

100 mL ----- 0.9 g

1000 mL ----- X

Donde x= 9 g/L

Segundo: Calcular el peso molecular del NaCl que es de 58.5 g/mol.

Tercero: Se efectúa el cálculo de la molaridad de la solución.

$$\frac{9 \text{ g/l}}{58.5 \text{ g/mol}} = 0.153 \text{ mol/L}$$

Por último el NaCl es igual a dos osmoles, por lo que la osmolaridad de la solución.

$$(0.153 \text{ mol/L})(2) = 0.307 \text{ mOsm/L}$$

MATERIAL	REACTIVOS
Vaso de precipitados de 500 mL	NaCl
Vasos de precipitados de 100 mL	Agua destilada
Balanza analítica	NaClO
Vidrio de reloj	
Varilla de vidrio	

METODOLOGÍA

1. Realizar los cálculos correspondientes para preparar:

- Una solución de 50 mL de volumen de blanqueador para lavandería que contenga hipoclorito de sodio o de calcio como ingrediente activo, determinando su concentración en unidades de molaridad.

- Preparar 150 mL de 1.5M de solución fisiológica.
- Realizar una solución en la cual se disuelven 7 gramos de glucosa en 50 mL de agua, efectuando el cálculo de la concentración en unidades de: % peso/volumen, Molaridad y Normalidad.

REPORTE

1. Resolver correctamente los siguientes ejercicios:

- Disolver 3 gramos de glucosa ($C_6H_{12}O_6$) en 150 cm³ de agua destilada ¿Cuál es la concentración de la disolución en %masa?
- Calcular la concentración en mmol/L de una disolución que contiene 8.5 gramos de sal (NaCl).
- ¿Cuál es la masa de cloruro de sodio contenida en 100 mL de disolución cuya concentración es 2 mmol/L?
- Si se disuelven 10g de glucosa hasta un volumen de 150 mL ¿Cuál es la concentración de la disolución en g/L y en mmol/L?
- Al analizar una muestra de suero sanguíneo se encuentra que contiene 102.5 µg de Ca²⁺/mL de suero. Si la densidad del suero es 1.053 g/mL y el peso atómico del calcio es 40.08 ¿Cuál es la concentración de Ca²⁺ expresada en...:
 - a) ...molaridad?
 - b) ...meq Ca²⁺/L de suero?
 - c) ...ppm de Ca²⁺ en peso?

2. Representar mediante esquemas o fotografías la metodología utilizada para la preparación de las soluciones en el laboratorio.

Práctica No. 5

PRESIÓN OSMÓTICA

COMPETENCIA

Comprende el comportamiento de la membrana eritrocitaria en diferentes medios de osmolaridad y analiza la importancia del equilibrio hídrico y sus propiedades.

INTRODUCCIÓN

El agua corporal total corresponde entre 50% y 60% del peso orgánico con algunas diferencias en relación a edad, superficie y composición corporal; está distribuida en dos grandes compartimientos: el volumen intracelular (VIC), y el volumen extracelular (VEC).

La concentración de partículas o solutos en los líquidos corporales es conocida como **osmolalidad** y se expresa en miliosmoles por kilogramo de agua (mOsm/Kg) y **osmolaridad** cuando se expresa en miliosmoles por litro de agua (mOsm/L). La Osmolalidad entre los líquidos intra y extracelular se encuentra en equilibrio aunque existan diferentes osmoles o solutos en cada compartimiento determinado por la permeabilidad, transportadores y bombas activas en las membranas celulares.

Una de las principales funciones de las membranas es mantener solutos a concentraciones particulares e ideales, dentro y fuera de la célula para una efectiva función de las mismas (característica semipermeable). Sin membrana celular los solutos se moverían por **difusión**, a favor de sus gradientes de concentración.

La difusión involucra fenómenos de intercambio de solutos entre dos espacios separados por membranas como también entre dos sitios dentro de un mismo espacio, cada uno de los cuales presenta concentraciones diferentes. El resultado final con el tiempo es el equilibrio dinámico basado en la equivalencia de concentraciones en todo el sistema, producto de la migración de solutos de un espacio o de un sitio a otro.

Los líquidos corporales no son estáticos, continuamente pasan de un espacio a otro, debido a las membranas semipermeables, que no dejan pasar moléculas de soluto, pero sí de agua. Estos intercambios son muy rápidos por lo que los volúmenes de los líquidos ni su composición iónica se modifican en cada compartimiento.

Pero si se producen diferencias en la osmolaridad entre los compartimientos, se produce un flujo de agua compensatorio a través de la membrana, que restablece el equilibrio, a este fenómeno se le conoce como **ósmosis**.

FUNDAMENTO

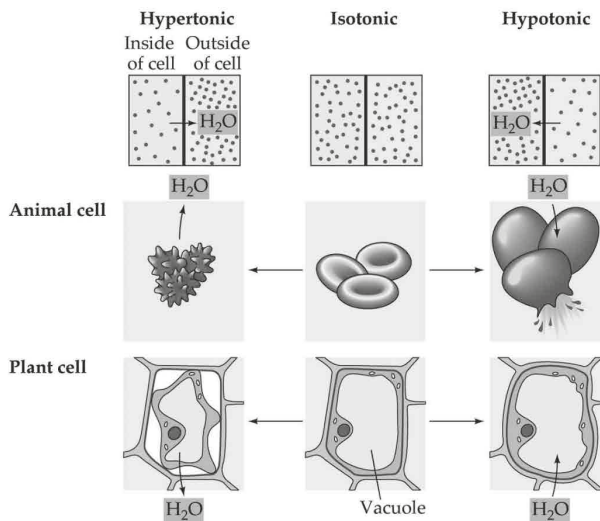
La Ósmosis es de gran importancia en los procesos biológicos donde el agua es el disolvente, ya que permite el paso de ésta, pero no de solutos a través de la membrana.

El movimiento o flujo de las moléculas de agua al desplazarse de un compartimiento a otro para igualar la osmolaridad puede ser impedido aplicando una presión al compartimiento con mayor osmolaridad y se conoce como presión osmótica efectiva.

Se entiende por **presión osmótica**, a aquella fuerza necesaria para detener el flujo de agua a través de una membrana semipermeable. Al considerar como semipermeable a la membrana plasmática, las células de los organismos pluricelulares deben permanecer en equilibrio osmótico con los líquidos tisulares que los bañan.

Si los líquidos extracelulares aumentan su concentración de solutos, se haría hipertónica respecto a las células, como consecuencia se originan pérdida de agua y deshidratación (plasmólisis). De igual forma, si los líquidos extracelulares se diluyen, se hacen hipotónicos respecto a las células. El agua tiende a pasar al protoplasma y las células se hinchan y se vuelven turgentes, pudiendo estallar (en el caso de células vegetales la pared de celulosa lo impediría), por un proceso de turgescencia. Como se ejemplifica en la figura 1.

Figura 1. Presión osmótica



LIFE: THE SCIENCE OF BIOLOGY, Seventh Edition, Figure 5.8 Osmosis Modifies the Shapes of Cells
© 2004 Sinauer Associates, Inc. and W. H. Freeman & Co.

El comportamiento de un glóbulo rojo en una solución, solo depende del tipo de solución al cual sea sometido el eritrocito debido a que la presión osmótica efectiva es afectada con respecto al plasma.

La capacidad de una solución extracelular de mover el agua hacia adentro o hacia fuera de una célula por osmosis se conoce como **tonicidad**. La tonicidad de una solución está relacionada con su osmolaridad, que es la concentración total de todos los solutos en la solución.

MATERIAL	REACTIVO
5 tubos de ensaye	Solución glucosa 5%
1 gradilla	Solución salina 0,9%
1 pipeta de 5 mL	Solución salina 10 %
1 pipeta Pauster	Agua destilada
2 perilla de succión	Solución salina 0.2%
1 microscopio	
3 portaobjetos y cubreobjetos	
Centrifuga	
Papel parafilm o tapones de goma	
Capilares para microhematocrito	

METODOLOGÍA

- Extraer por punción venosa de sangre en un tubo con EDTA.
- De la muestra obtenida tomar una alícuota suficiente para efectuar un microhematocrito (referencia).
- Centrifugar a 4000 r.p.m. durante 5 minutos.
- Utilizar la pipeta Pasteur para separar el plasma a otro tubo limpio y seco.
- Rotular los tubos de la siguiente manera, añadiendo lo mencionado en la tabla:

	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Agua destilada	5 mL				
Solución glucosa 5%		5mL			
Solución salina 0,9%			5mL		
Solución salina 10 %				5mL	
Solución salina 0.2%					5mL
Eritrocitos	4 gotas	4 gotas	4 gotas	4 gotas	4 gotas

- Tapar cada tubo con tapón de goma o papel; de manera que se pueda mezclar por inversión sin que el contenido sea derramado.
- Colocar una gota de cada uno de los tubos en los portaobjetos colocado un cubreobjetos, para su observación en el microscopio, registrando las observaciones efectuadas.
- Elaborar un microhematocrito de cada una de las soluciones efectuadas en los tubos.

REPORTE

1. Mencionar los compuestos químicos responsables de la presión osmótica en plasma y en el líquido intracelular.
2. Comparar y enlistar las diferencias entre la presión osmótica y presión oncótica.
3. ¿Cuál es el valor normal de osmolaridad en sangre y orina?
4. Enlistar tres factores que le confieren a la membrana celular la permeabilidad selectiva.
5. Elaborar un mapa conceptual en donde se explique brevemente el tipo de transportes a través de la membrana mencionando un ejemplo.
6. Registrar las observaciones

Práctica No. 6

DETERMINACIÓN DEL CLORO, SODIO Y POTASIO

COMPETENCIA

El alumno determinará la concentración de los electrolitos séricos: sodio, cloro y potasio presentes en una muestra de sangre, de manera que dichos valores obtenidos puedan ser interpretados clínicamente de acuerdo a su posible causa bioquímica.

INTRODUCCIÓN

El agua es la molécula más abundante en el cuerpo humano, es el solvente en el cual todos los materiales están disueltos o suspendidos; estos materiales incluyen electrolitos, que a su vez, son los solutos disueltos en el agua.

El equilibrio hidroelectrolítico es necesario para una correcta homeostasis, ya que esto regula la mayoría de las funciones orgánicas. El riñón es el principal órgano encargado de mantener este equilibrio, y especialidades médicas como Nefrología y Endocrinología estudian más directamente los trastornos hidroelectrolíticos.

La composición de los solutos es diferente en el agua intracelular y extracelular. Estas diferencias se deben a que la mayoría de las membranas celulares cuentan con sistemas de transporte que hacen que se acumulen o expulsen solutos específicos.

Por ejemplo sodio (Na), potasio (K) y cloro (Cl), están concentrados fundamentalmente en los líquidos extracelulares. El potasio (K), magnesio (Mg) y fosfatos (HPO_4^-) son intracelulares. La Glucosa penetra en la célula mediante transporte activo por la insulina, y una vez en su interior es convertida en glucógeno y otros metabolitos, por lo que sólo se encuentra en cantidades significativas en el espacio extracelular. La urea atraviesa libremente la mayoría de las membranas celulares, por lo que su concentración es similar en todos los espacios corporales y por último las proteínas intravasculares, no atraviesan la pared vascular, creando así una presión oncótica que retiene el agua en el espacio intravascular.

Los electrolitos que existen dentro de la sangre, además de otros líquidos corporales son importantes debido a que mantienen la cantidad de agua del cuerpo, la acidez (pH) de la sangre, la acción de los músculos y otros procesos importantes.

FUNDAMENTO

El paso del agua a través de la membrana celular es libre, dejando pasar solamente moléculas no cargadas iónicamente como la urea, creatinina, etc. De esta forma, el Na^+ , K^+ y Mg^{++} , pasan de un lado a otro por la membrana celular, mediante un paso activo con liberación de energía (ATP), conservando la neutralidad eléctrica. Para ello, el ingreso o salida de un catión o anión, depende de la salida o entrada de otro, acompañándose del movimiento hídrico consiguiente. De manera que si el Na^+ aumenta en el líquido extracelular, se producirá la salida de agua del interior de las células para lograr el equilibrio de la presión osmótica entre ambos compartimientos.

El **potasio K^+** tiene dos procesos distintos de balance externo y el equilibrio interno, regulando su ingreso con la dieta y el consumo de hasta 120 mEq/d, mientras que el equilibrio interno mediante su redistribución dentro y fuera de la célula, se constituye en la forma más importante de regulación. El gradiente químico generado por transporte iónico activo, se constituye en la "*bomba de Na^+/K^+ ATP-asa*", donde por cada 3 iones activos de sodio al espacio extracelular, ingresan 2 iones de potasio al espacio intracelular, seguido de un proceso pasivo, donde el K^+ sale al líquido extracelular por el gradiente químico y la permeabilidad de la membrana de la célula.

La regulación del **cloro**, depende de su consumo y reabsorción renal, considerándose un requerimiento diario de 750 mg/d, que ingresan junto con la ingesta de sodio en la dieta, eliminándose en escasa cantidad por heces. Como el cloro y el sodio se encuentran estrechamente relacionados, las modificaciones de uno afectarán a las concentraciones del otro, por intervención de la aldosterona que retiene o elimina moléculas de sodio. El cloro de esta forma es reabsorbido y excretado en proporción inversa al bicarbonato regulando de esta forma el mecanismo ácido base del cuerpo.

A continuación se menciona en la tabla 1 las principales Funciones de los principales electrolitos:

Tabla 1. Principales electrolitos en el organismo

,	FUNCIÓN	Utilidad Clínica	Valores de referencia
Sodio (Na^+)	Tiene relación con la osmolaridad de la sangre, además de que es de importancia en la contracción de los músculos, equilibrio ácido-base y la sinapsis nerviosa.	Se utiliza para la evaluación del balance hidroelectrolítico especialmente en pacientes que tengan alimentación intravenosa o con tratamiento diurético también pacientes con falla renal aguda alguna nefropatías, enfermedades gastrointestinales, enfermedad de Addison, aldosteronismo. Por mencionar algunas.	140 a 145 mEq/L

Cloruro (Cl ⁻)	Mantiene la neutralidad eléctrica, además de que sirve como un amortiguador para favorecer el equilibrio ácido-base.	Se utiliza para la evaluación de los pacientes deshidratados o sobrehidratados, insuficiencia renal, acidosis metabólica, síndrome de Cushing o en pacientes que presenten vómito o aspiración gástrica prolongada.	104 a 116 mEq/L
Potasio (K ⁺)	Este electrolito tiene efectos en la frecuencia cardíaca y la contractilidad, favorece el potencial eléctrico de la membrana, sobre todo en el tejido neuromuscular, además de que es una parte importante en la síntesis de proteínas y el mantenimiento de la presión oncótica normal además de contribuir en el equilibrio ácido-base, porque los riñones pueden intercambiar el potasio por iones de hidrogeno para mantener el pH fisiológico.	Se utiliza en la evaluación del balance electrolítico, especialmente en pacientes geriátricos con alimentación intravenosa, pacientes con tratamiento diurético, pacientes con falla renal aguda, pacientes con hemodiálisis y pacientes con nefritis intersticial o nefropatía. En la evaluación de hipertensión arterial donde pueda ocurrir hipercalemia y ser causa de falla renal aguda. El potasio debe ser monitorizado en el tratamiento de la acidosis, incluyendo cetoacidosis en la diabetes. Evaluación de debilidad muscular e irritabilidad, confusión mental, seguimientos de leucemias, enfermedades gastrointestinales, encefalopatía hepática, vómitos, fistula, tubo de drenaje. Evaluación y prevención de arritmias. Detección, diagnóstico y seguimiento de hipermineralo-corticismos (aldosteronismo primario, síndrome de Cushing, tumor productor de ACTH ectópica, algunos casos de hiperplasia adrenal congénita)	3.5 a 5.5 mEq/L

Los trastornos hidroelectrolíticos pueden ser secundarios a alteraciones en la concentración electrolítica, los cuales pueden ocasionar:

Hiponatremia: se define como la disminución de sodio plasmático menor a 135 mEq/l, constituyéndose en el trastorno más frecuente, producto de la pérdida por el aparato gastrointestinal, renal o edema.

Hipernatremia: definida como la concentración plasmática de sodio mayor a 145 mEq/l, provocado por exceso de aporte, o reducción de agua libre.

Hipopotasemia o hipocaliemia con potasio plasmático menor a 3,5 mEq/l, provocado por déficit de consumo o pérdida gastrointestinal y urinaria. Esta deficiencia puede llevar a severas alteraciones en el músculo esquelético y liso, así como el sistema nervioso y músculo cardiaco.

Hiperpotasemia o hipercaliemia, con niveles de potasio sérico mayor a 5,5 mEq/l, provocado por aumento de la ingesta o reducción de la excreción urinaria de K^+ . Las arritmias cardiacas resultantes, pueden poner en peligro la vida del paciente.

Hipocloremia, se define así a la disminución de cloro plasmático menor a 96 mEq/l. La disminución de este electrolito afecta los niveles de sodio, potasio y calcio séricos. Este cuadro se presenta por disminución en la ingesta o aumento de pérdidas por el aparato gastrointestinal o riñones, que se manifiesta por alcalosis hipoclorémica.

Hipercloremia, es el cuadro donde el nivel de cloro plasmático supera los 106 mEq/l, y se asocia a disminución del bicarbonato sérico, presentándose en procesos de hiperparatiroidismo, hiperaldosteronismo, toxicidad al salicilato, etc.

MATERIAL	REACTIVO
Espectrofotómetro	Kit de reactivos
Tubo de ensaye de 13x100	Agua destilada
	Muestra de sangre (suero)

METODOLOGÍA

- Leer el inserto proveniente del kit de reactivos, que por lo general pide preparar un BLANCO y un ESTÁNDAR, para cada uno de los electrolitos a analizar, además del tubo correspondiente a la MUESTRA a estudiar.
- Ajustar la longitud de onda del espectrofotómetro de acuerdo a lo indicado en el inserto para cada determinación de concentración de los electrolitos.
- Efectuar los cálculos de concentración correspondientes.

REPORTE

Enlistar los factores que influyen en la concentración sérica del potasio.

Escribir la fórmula para calcular la osmolalidad plasmática.

¿Cuál es el valor de la osmolalidad plasmática?

Definir la causa del porqué el sodio debe ser un factor a considerar en la fórmula de osmolalidad plasmática.

2.- Indicar el aumento o disminución en concentración sérica según corresponda.

PATOLOGÍA	K	Cl	Na
Diarrea y vómito			
Síndrome de Cushing			
Insuficiencia renal crónica			
Quemaduras extensas			
Acidosis metabólica			
Insuficiencia cardíaca congestiva			
Síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética (SIADH)			
Deshidratación severa			
Diabetes			
Gastritis			

3.- Explicar bioquímicamente el estado metabólico de acuerdo a los resultados obtenidos.

Práctica No. 7

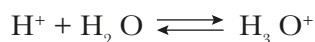
pH Y SOLUCIONES AMORTIGUADORAS

COMPETENCIA

Analiza el pH de los líquidos biológicos, y vincula su capacidad amortiguadora con los principales sistemas *buffers* en el organismo.

INTRODUCCIÓN

El concepto de ácido se define como un donador de protones y una base como un aceptor de los mismos. Existen algunas especies conocidas como álcali que tienen la característica que al disociarse generan iones hidróxido y otras especies iónicas que pueden actuar como ácidos y bases que son conocidos como anfotéricos. Tal es el caso del agua (reacción 1).



. Reacción 1

PROTÓN AGUA HIDRONIO

Debido a que la concentración de hidrogeniones en la mayoría de las soluciones es demasiado baja y para evitar el uso de números con varias cifras decimales, Sorensen introdujo el término de pH como una forma muy adecuada para expresar la concentración de hidrogeniones. El pH se define como el logaritmo negativo de la actividad de hidrogeniones, pero en la práctica se toma por lo general la concentración de hidrogeniones ya que la concentración y actividad son casi las mismas, excepto en soluciones fuertemente ácidas.

Como por ejemplo la sangre humana, tiene una concentración de hidrogeniones de 0.000,000,025 mol/L, lo cual puede expresarse en forma más conveniente como $\text{pH} = 7.4$, debido a que:

$$\text{Plasma } [\text{H}^+] = 0.000,000,025 = 2.5 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$$

$$\text{Por lo tanto } \text{pH del plasma} = -\log(2.5 \times 10^{-7}) = 7.4$$

Entonces podemos definir al potencial de Hidrogeno (pH) como el logaritmo negativo de la concentración.

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+] \dots \text{Ecuación 1}$$

Cuanto mayor sea la concentración de iones hidrógeno en una solución; más bajo será el valor de su pH, es decir más ácido. La escala de pH abarca los valores de 0 a 14, por lo que un **pH de 7 es considerado como neutro, menos de 7 será ácido y mayor de 7 es alcalino**. El pH de una solución amortiguadora puede calcularse con la ecuación de Henderson-Hasselbalch (Ecuación 2), que toma como referencia la disociación del agua.

$$K = \frac{[H^+][OH^-]}{H_2O} \dots \text{Ecuación 2}$$

Puesto que la concentración del agua es para todos los propósitos prácticos constante, se puede escribir:

$$K_w = [H^+][OH^-] = 1 \times 10^{-14} \text{ M} \dots \text{Ecuación 3}$$

Debido a que no todos los ácidos se disocian con la misma facilidad, algunos ácidos o bases débiles tienen importancia biológica, porque evitan el cambio brusco de pH cuando se les agregan pequeñas cantidades de ácidos o bases. A esta propiedad se le denomina capacidad amortiguadora, el objetivo de esto es mantener el pH estable en un intervalo muy estrecho, por ejemplo la sangre va de 7.35-7.45.

FUNDAMENTO

Durante el metabolismo, el cuerpo produce varios ácidos que incrementan la concentración del ion hidrógeno de la sangre u otros líquidos corporales y tienen a disminuir el pH. Estos ácidos pueden clasificarse como ácidos débiles o ácidos fuertes por su grado de disociación en un ion hidrógeno y una base (el componente anión).

El pK es el pH necesario para que un ácido esté 50% no disociado y 50% disociado (es decir, la razón o proporción de ácido disociado y no disociado es 1). Cuando la solución presenta un pH cercano a su pK (+/- 1) posee su mayor capacidad amortiguadora.

Existen sistemas amortiguadores que evitan cambios bruscos de pH, los tres principales sistemas amortiguadores en los seres vivos son las proteínas, el bicarbonato y el fosfato. La importancia relativa de cada uno depende del tipo de célula y del organismo.

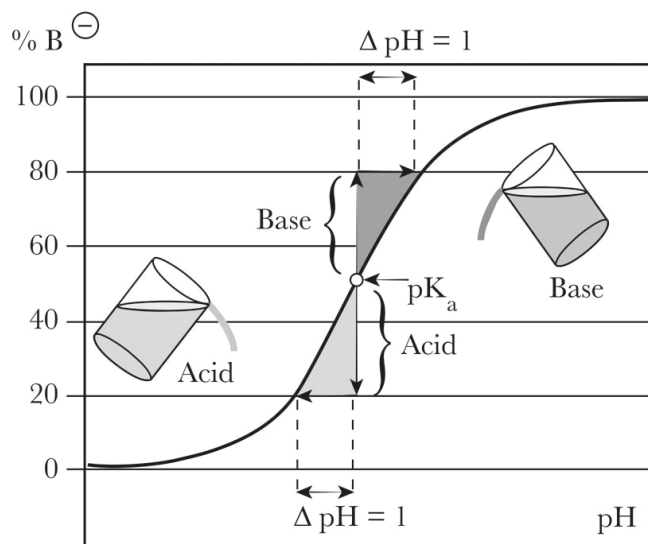
A partir de la fórmula de Henderson-Hasselbalch se puede deducir que el pH de solución amortiguadora depende de dos factores principales:

1. El valor de pKa.
2. La proporción de sal a ácido. Esta proporción se considera igual a las

cantidades de sal y ácido mezcladas en el intervalo de pH entre 4 y 10 donde la concentración de hidrogeniones e hidroxilos es muy baja y se puede ignorar.

Podemos definir la capacidad amortiguadora de un tampón (amortiguador o *buffer*) como la cantidad de ácido o base fuerte que puede neutralizar sufriendo un desplazamiento de pH de una unidad, relacionada con la concentración absoluta del sistema y la proporción relativa de las formas disociada y sin disociar.

Figural. Capacidad amortiguadora



MATERIAL	REACTIVO
10 tubos de ensaye	Solución HCl 0.01 N
papel Hydrión	NaOH 0.01 N
	Agua destilada

METODOLOGÍA

1. Colocar en los tubos de ensaye las muestras indicadas en la Tabla 2.
2. Medir el pH inicial de cada una de las muestras, utilizando papel *Hydrión* y registrar su valor en la Tabla 1.
3. Añadir el Hidróxido de sodio (NaOH) 0.01 N y el ácido clorhídrico (HCl) 0.01 en la cantidad indicada en la Tabla 2 y homogeneizar.

4. Medir y registrar el pH nuevamente utilizando papel *Hydrion*. Para el registro anotar en la Tabla 1.
5. Observar la variación y efectuar las conclusiones adecuadas.

Tabla 1. Registro de pH de las soluciones utilizadas

TUBO	Muestra (2.5 mL)	pH Inicial	NaOH 0.01 N	HCl 0.01 N	pH final
1	Orina		0.5 mL	----	
2	Orina		----	0.5 mL	
3	Suero		0.5 mL	----	
4	Suero		----	0.5 mL	
5	*Melox		0.5 mL	----	
6	*Melox		----	0.5 mL	
7	* Peptobismol		0.5 mL	----	
8	* Peptobismol		----	0.5 mL	
9	Saliva		0.5 mL	----	
10	Saliva		----	0.5 mL	
11	Agua		0.5 mL	----	
12	Agua		----	0.5 mL	

* Se deberá efectuar una dilución la cual será 0.5 mL de peptobismol y melox para los tubos correspondientes más 2 mL de agua destilada para cada uno de los tubos.

REPORTE

1. Registrar las observaciones y explicar bioquímicamente de acuerdo a los resultados obtenidos.

Práctica No. 8

**MECANISMOS DE REGULACIÓN DEL EQUILIBRIO
ÁCIDO-BASE DESPUÉS DE EJERCICIO MUSCULAR
Y DE LA INGESTIÓN DE BICARBONATO DE SODIO**

COMPETENCIA

Comprende los mecanismos de regulación renal y respiratorio en el organismo, para el mantenimiento del equilibrio ácido-base.

INTRODUCCIÓN

El ser humano presenta una tendencia a la acidificación, debido a que de forma continua se producen ácidos en el organismo, dicha producción se debe al metabolismo y a la ingesta diaria de los alimentos que conlleva a ingerir ácidos junto con la dieta.

Existen tres sistemas capaces de controlar el pH y ayudan a mantener la homeostasis; estos son un sistema de amortiguador rápido, uno renal y uno respiratorio.

El sistema de amortiguación rápido, *buffer* o tampón funciona mediante cuatro amortiguadores: bicarbonato, fosfatos, hemoglobina y proteínas. Estos sistemas tienen la capacidad de amortiguar en cuestión de minutos cambios agudos en el equilibrio ácido-base; ante situaciones en las que dicha capacidad se ve rebasada el organismo hace uso de sistemas compensatorios, los cuales son la **vía renal** y la **vía respiratoria**.

FUNDAMENTO

El sistema respiratorio se encarga de eliminar el dióxido de carbono (CO_2), producido, eliminando 20 000 mmol/diarios de CO_2 . Esta cantidad, puede ser modificada en situaciones de ejercicio, estados emocionales variados o patológicos.

Este contribuye al mantenimiento del equilibrio del pH a través de la regulación de la presión parcial de CO_2 . En función de la concentración de CO_2 ($p\text{CO}_2$), se modifica la frecuencia respiratoria.

En la regulación intervienen los pulmones, el diafragma y el centro respiratorio. El centro respiratorio regula la frecuencia y la profundidad de los movimientos respiratorios según los cambios de pH en el líquido cefalorraquídeo y de la sangre, que son detectados por medio de quimiorreceptores centrales y periféricos.

La estimulación de los quimiorreceptores crea aumento en la frecuencia respiratoria (hiperventilación), ocasiona una disminución del CO_2 alveolar y el ácido carbónico (H_2CO_3^-) plasmático.

Ante el déficit del ion hidrógeno en el organismo (alcalosis), el centro respiratorio se deprime, lo que ocasiona una disminución de la frecuencia respiratoria (hipoventilación), aumentando la concentración de CO_2 para contrarrestar el exceso de bicarbonato (HCO_3^-). La disminución de la frecuencia respiratoria está limitada por la necesidad de aporte de oxígeno del organismo lo que origina que, en casos de alcalosis pronunciada, sea insuficiente.

El **sistema renal** actúa de forma gradual, el control del pH se establece en 24 horas y alcanza su efectividad máxima a los cuatro o cinco días. El mantenimiento del pH plasmático es realizado por tres mecanismos principalmente:

- 1. El sistema de intercambio de Na^+ - H^+ .** En los túbulos renales, los H^+ son segregados activamente al fluido tubular, habiendo un intercambio activo de iones de sodio, los cuales son reabsorbidos del filtrado glomerular. Este proceso se ve favorecido en las situaciones de acidosis y de manera contraria en las de alcalosis. En esta fase los iones potasio compiten de manera activa con los H^+ , por lo que, en dado caso de haber Hiperpotasemia, se intercambian más potasio que protones, por iones de sodio. Los H^+ son segregados en la luz tubular reaccionando con el fosfato dibásico para formar fosfato monobásico.
- 2. La producción de amoníaco.** Las células tubulares renales son capaces de producir amoníaco (NH_3) por la acción de la glutaminasa, que escinde la glutamina en glutamato y amoníaco. El amoníaco es un gas muy liposoluble, que atraviesa con facilidad la membrana celular hasta la luz tubular donde se combina con protones y dan lugar a la formación de NH_4^+ (ión amonio). Los iones amonio no traspasan la membrana tubular y son excretados en forma de urea, lo cual da consigo a la formación de compuestos con sulfatos, cloruros y fosfatos.
- 3. La recuperación de bicarbonato (HCO_3^-).** La concentración de HCO_3^- del filtrado glomerular en un principio es idéntica a la plasmática. La recuperación del HCO_3^- se inicia con la excreción a la luz tubular de ion hidrógeno por medio del intercambio Na^+ - H^+ . Los iones hidrógeno, así excretados, reaccionan con el HCO_3^- del filtrado glomerular formando ácido carbónico (H_2CO_3) que a su vez, se escindiría en dióxido de carbono (CO_2) y agua (H_2O). El aumento del CO_2 en el filtrado glomerular provoca su difusión al interior de la célula tubular, donde reacciona con el agua, debido a la acción de la enzima carbonato deshidratasa, para formar ácido

carbónico que, a su vez, se disocia en ion hidrógeno. El HCO_3 pasa al plasma para restablecer la capacidad buffer del mismo mientras que el H^+ será excretado a la luz tubular por acción de intercambio de $\text{Na}^+ \leftrightarrow \text{H}^+$.

MATERIAL	REACTIVO
Tubos de ensaye	Muestras de orina
6 frascos recolectores de orina	Solución de Bicarbonato de Sodio al 3%, preparada con agua
Papel Hydrion	Agua destilada
Oxímetro	

METODOLOGÍA

Seguir estrictamente las indicaciones, para obtener óptimos resultados:

Este procedimiento necesita la participación de cuatro personas voluntarias; dos personas participan en cada fase.

PRIMERA FASE

1. Recolectar la primer muestra de orina de la mañana, usando la técnica de chorro medio, a la cual se le debe medir el pH.
2. Los dos alumnos que trabajen esta fase, deben desayunar o comer normalmente (dependiendo de la hora asignada en la sesión de laboratorio), deben evitar la ingestión de jugos o alimentos demasiado ácidos o bebidas alcohólicas, en un periodo mínimo de 12 horas.
3. Deberán beber aproximadamente entre 100 y 200 mL de agua, cada uno, una hora o hasta 45 minutos antes de la sesión de laboratorio.
4. Previo a la sesión del laboratorio se recolecta nuevamente una muestra de orina.
5. Se deberá ingerir agua nuevamente entre 50-100 mL de volumen, de preferencia unos 10 minutos antes de empezar la sesión de laboratorio.
6. Previo a la realización del ejercicio intenso, se deben registrar en la Tabla 1 los valores de: frecuencia cardíaca y porcentaje de saturación de oxígeno.
7. Realizar ejercicio muscular intenso, como por ejemplo subir y bajar varias veces las escaleras o correr de manera continua u otro ejercicio sugerido por el profesor.
8. Obtener el mayor número de muestras de orina durante un periodo de ejercicio intenso de 40 minutos.
9. Un integrante del equipo distinto debe medir el pH inmediatamente a cada una de las muestras recolectadas durante el periodo que estén haciendo ejercicio.

10. Terminado el periodo de tiempo de ejercicio intenso, se registran nuevamente los datos de frecuencia cardíaca y porcentaje de saturación de Oxígeno.
11. Observar el tipo de respiración: Hiperventilación, apnea, hipoventilación o respiración normal.
12. Una vez transcurrido el tiempo, los dos alumnos participantes en esta fase deben descansar, recuperar energía y normalizar la respiración.

Tabla 1. Registro por alumno (FASE 1)

Alumno:					
Muestra de orina	Valor de pH			Antes del ejercicio	Después del ejercicio
Basal		Hora:		Temperatura corporal	
#1		Hora:			
#2		Hora:		Saturación de oxígeno	
#3		Hora:			
#4		Hora:		Frecuencia cardíaca	
#5		Hora:			

Alumno:					
Muestra de orina	Valor de pH			Antes del ejercicio	Después del ejercicio
Basal		Hora:		Temperatura corporal	
#1		Hora:			
#2		Hora:		Saturación de oxígeno	
#3		Hora:			
#4		Hora:		Frecuencia cardíaca	
#5		Hora:			

SEGUNDA FASE

1. Recolectar la primer muestra de orina de la mañana, usando la técnica de chorro medio, a la cual se le debe medir el pH. (Tabla 2).
2. Los dos alumnos que trabajen esta fase deben ingerir aproximadamente entre 300-500 mL de agua potable, la cual deberá estar preparada con 15 g de bicarbonato si se toma como base de cálculo 500 mL, tres horas antes de ingresar al laboratorio.

3. Una vez inicie la ingestión de agua con bicarbonato, los participantes de esta fase deben recolectar las muestras de orina, deben enumerar el número de muestra de manera ascendente conforme se vayan recolectando.
4. Cada que se ingiera la solución con bicarbonato se debe homogeneizar para evitar la sedimentación del bicarbonato.
5. Medir el pH con tiras reactivas y registrar los resultados en la Tabla 2 para cada participante.

Tabla 2. Registro por alumno (FASE 2)

Alumno:			
Muestra de orina	Valor de pH		
Basal		Hora:	
#1		Hora:	
#2		Hora:	
#3		Hora:	
#4		Hora:	
#5		Hora:	

Alumno:			
Muestra de orina	Valor de pH		
Basal		Hora:	
#1		Hora:	
#2		Hora:	
#3		Hora:	
#4		Hora:	
#5		Hora:	

REPORTE

Registrar las observaciones y explicar bioquímicamente de acuerdo a los resultados obtenidos.

Práctica No. 9

**INTERPRETACIÓN A NIVEL LABORATORIO
DE UNA GASOMETRÍA ARTERIAL**

COMPETENCIA

Identifica los parámetros básicos de una gasometría arterial, y distingue los mecanismos compensatorios en el organismo.

INTRODUCCIÓN

Una de las maneras de evaluar el estado ácido-base de un individuo, es necesario realizar un examen de laboratorio llamado: gasometría realizado en una arteria o vena.

La muestra de la gasometría, por lo general es tomada en la arteria radial, utilizando una jeringa de insulina previamente heparinizada, para que al momento de extraerla no se coagule.

La razón del porqué se prefiere la sangre arterial a diferencia de la venosa es debido a que la sangre venosa se encuentra libre de productos generados por el metabolismo celular, además de que el nivel de pH y PO_2 son mayores y la PCO_2 es menor.

El uso de la sangre mezclada (obtenida de la arteria pulmonar o central) de la PO_2 y la saturación de oxígeno (SO_2) asociada a la determinación de la presión arterial de oxígeno (PaO_2), y otros parámetros clínicos intervienen en la estimación de la oxigenación tisular y probablemente de la función cardiaca como determinante de la misma.

La medición de los gases en sangre, proporciona información sobre los valores de pH sanguíneo y las presiones parciales de CO_2 y O_2 . Derivado de estos valores, los analizadores de gases sanguíneos (gasómetros) calculan automáticamente el porcentaje de saturación de la hemoglobina por el oxígeno, los niveles de HCO_3^- y el CO_2 total.

Los trastornos en la oxigenación, en la depuración de CO_2 y las alteraciones en el equilibrio ácido-base deben reconocerse al analizar los tres primeros valores.

FUNDAMENTO

La producción de ácidos es una función normal del metabolismo celular y de la acidez en los líquidos corporales se determina por la concentración libre de iones H^+ , en condiciones normales, dicha concentración se encuentra controlada por la homeostasis entre la producción de ácidos, la amortiguación de éstos y su excreción.

El estudio de la gasometría en un paciente enfermo, es necesario para establecer un diagnóstico, tratamiento y predecir su desenlace. Para empezar a establecer el tipo de trastorno del equilibrio ácido-base debemos empezar a interpretar el estudio de laboratorio.

1. Detectar si es acidemia o acidosis, alcalemia o alcalosis. Cuando el pH de la sangre disminuye a menos de **7.35** se denomina **acidemia** y cuando aumenta por arriba de **7.45** se denomina **alcalemia**. El término acidosis y alcalosis corresponden al exceso de aniones y cationes que no alteran el pH.

Es decir, los trastornos ácido-base primarios están relacionados con el desequilibrio entre la producción de ácidos, la amortiguación o neutralización de los mismos en el espacio extracelular y su excreción por vía renal o respiratoria.

2. Interpretar el componente: metabólico o respiratorio. El riñón y el pulmón manejan la mayor cantidad de hidrogeniones a partir de ácido carbónico (H_2CO_3). Partiendo de la ecuación de Henderson-Hasselbach:

$$pH = pK + \log [HCO_3^-] / [pCO_2] \dots \text{Ecuación 1}$$

En el mecanismo compensatorio disminuye el bicarbonato, también lo hace el CO_2 ; lo mismo sucede por ejemplo en la acidemia respiratoria, en la que la alteración de la base CO_2 y, por lo tanto, se retiene bicarbonato a nivel renal para elevar su concentración en el plasma y evitar la disminución en el pH.

A manera práctica, una vez detectada la variación de pH, se observan los siguientes parámetros a manera de detectar el componente compensatorio:

- $pCO_2 < 35\text{mmHg}$ ó $>45\text{ mmHg}$: RESPIRATORIA
- $HCO_3^- < 22\text{ mEq/}$ ó $>28\text{ mEq/L}$: METABÓLICA

En el dado caso de no haber variación en el pH (valores normal), tenemos:

- pCO_2 (AUMENTADO): Acidosis respiratoria.
- HCO_3^- (AUMENTADO): Acidosis metabólica.
- pCO_2 (BAJO): Alcalosis respiratoria.
- HCO_3^- (BAJO): Alcalosis metabólica.

1. Brecha aniónica. Es una fórmula indirecta para estimar la concentración de los iones plasmáticos que no son determinados por algún método utilizado en el laboratorio, los cuales son sulfatos, proteínas, fosfatos inorgánicos y otros aniones orgánicos presentes fuera y dentro del cuerpo. El valor normal de esta brecha es de 12 ± 2 mmol/L.

$$\text{GAP} = ([\text{Na}^+] + [\text{K}^+]) - ([\text{Cl}^-] + [\text{HCO}_3^-]) \dots \text{Ecuación 2}$$

$$\text{GAP} = ([\text{Na}^+]) - ([\text{Cl}^-] + [\text{HCO}_3^-]) \dots \text{Ecuación 3}$$

PROCEDIMIENTO Y REPORTE

1. Con base en los parámetros de laboratorio propuestos determinar el tipo de trastorno con su componente, explicando el mecanismo de compensación que pudiera estar actuando en el organismo, justificar la respuesta.

DATOS	PAC-1	PAC-2	PAC-3	PAC4
Sexo	Femenino	Masculino	Masculino	Femenino
Edad	77 Años	39 Años	61 Años	77 Años
Servicio	UCI	UCI	UCI	UCI
Gases en sangre				
pH	7.39	7.42	7.45	7.42
pCO ₂	51 mmHg	35 mmHg	40 mmHg	41 mmHg
pO ₂	60 mmHg	81 mmHg	41 mmHg	173 mmHg
FiO ₂	50%	45%	40%	50%
HCO ₃	30.90 mmo/L	22.70 mmo/L	27.80 mmo/L	26.60mmo/L

Práctica No. 10

**ANÁLISIS ESTRUCTURAL
DE PROTEÍNAS**

COMPETENCIA

Identifica diversas estructuras de diferentes proteínas, así como su composición (aminoácidos).

INTRODUCCIÓN

Las proteínas tienen muchas funciones en el cuerpo. Sirven como transportadores de compuestos hidrófobos en la sangre, como moléculas de adhesión celular que unen unas células con otras y con la matriz extracelular, como hormonas que transmiten señales desde un grupo de células a otro, como canales iónicos a través de las membranas y como enzimas que aumentan la velocidad de reacciones bioquímicas.

Las proteínas consisten de cadenas lineales de aminoácidos caracterizadas por la subestructura $-\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$. Un átomo de nitrógeno y dos de hidrógenos forman el grupo **amino** ($-\text{NH}_2$) y el **ácido** es un grupo carboxilo ($-\text{COOH}$). Los aminoácidos se unen a otros cuando el grupo carboxilo de una molécula reacciona con el grupo amino de otra molécula formando un enlace peptídico $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$ y liberando una molécula de agua (H_2O). Los aminoácidos son los constituyentes básicos de las enzimas, hormonas, proteínas, y tejidos del cuerpo. Un péptido es un compuesto de dos o más aminoácidos. Los oligopéptidos tienen diez o menos aminoácidos. Los polipéptidos y las proteínas son cadenas de más de diez aminoácidos, pero los péptidos que contienen más de 50 aminoácidos se clasifican como proteínas.

FUNDAMENTO

Una gran cantidad de proteínas diferentes se puede formar a partir de solo 20 aminoácidos comunes porque éstos pueden unirse en una enorme diversidad de secuencias determinadas por el código genético.

La secuencia de aminoácidos y su estructura primaria determinan la forma en que una proteína se pliega en una estructura tridimensional particular, que es su conformación nativa. La estructura de las proteínas se describe en cuatro niveles, las cuales son: primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria.

La estructura primaria es la secuencia lineal de aminoácidos en la cadena polipeptídica. La estructura secundaria se compone de regiones locales de cadenas

de polipéptidos formadas en estructuras que son estabilizadas por un patrón de repetición de puentes de hidrogeno, como las estructuras regulares denominadas hélices alfa y hélices beta; en donde la rigidez de la cadena polipéptica determina los tipos posibles de estructura secundaria.

La estructura terciaria de una proteína globular puede conformarse por dominios estructurales, regiones de estructura que se pliegan de manera independiente. Varios dominios pueden unirse para formar una proteína funcional. Dentro de un dominio, una combinación de elementos estructurales secundarios forman un pliegue, como el pliegue de unión a nucleótido o un pliegue de actina. Los pliegues se definen por su similitud en varias proteínas diferentes.

Cuando una proteína consta de un número mayor de dos de una cadena polipéptica, es decir, cuando se trata de una proteína oligomérica, decimos que tiene una estructura cuaternaria. Dicha estructura, debe considerar que la cantidad y la naturaleza de las distintas subunidades o monómeros que integran el oligómero y la forma en que se asocian en el espacio para dar lugar al oligómero.

MATERIAL

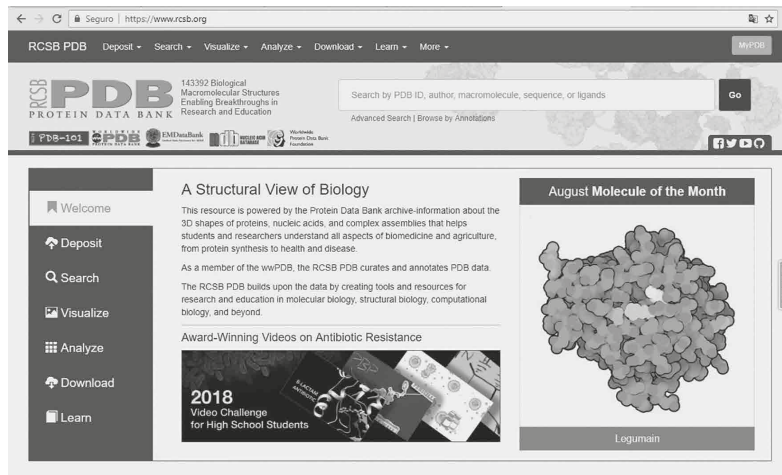
Computadora con conexión a internet.

PROCEDIMIENTO

Para el desarrollo efectivo de esta práctica, se debe ingresar a diversas bases de datos en donde se pueden encontrar secuencias en aminoácidos y ácidos nucleicos de proteínas.

- a. Ingresar a la página web: *Protein Data Bank*: <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> Figura 1

Figura 1. Pantalla principal



- b. Analizar cuatro proteínas diferentes, se sugiere que las proteínas seleccionadas sean de diversas estructuras, con la finalidad de observar su conformación geométrica. e
- c. Usar el nombre de la proteína en idioma inglés al momento de utilizar la página web.
- d. Si el navegador no acepta la plataforma de la página web sugerida, se puede acceder a cualquiera de las bases de datos propuestas en el siguiente link:
https://bioinf.comav.upv.es/courses/intro_bioinf/bases_datos.html
- e. Descargar la secuencia de cada una de las proteínas seleccionadas en formato FASTA, analiza la composición de los aminoácidos de la proteína.
- f. Reportar el punto isoelectrico, el número de hojas β y de α -hélices u otra información relevante acerca de cada una de las proteínas seleccionadas.

REPORTE

Elaborar un reporte en donde incluya: formato FASTA, características físico-químicas, función principal en el organismo y su estructura tridimensional mediante un esquema de 5 proteínas.

Práctica No. 11

PROPIEDADES GENERALES DE LOS AMINOÁCIDOS

COMPETENCIA

Distingue las propiedades químicas para la identificación de aminoácidos.

INTRODUCCIÓN

Las proteínas son macromoléculas de elevado peso molecular, debido a que en su estructura consta de cadenas de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos entre el grupo alfa carboxilo de un aminoácido y el grupo alfa amino del otro.

FUNDAMENTO

Las pruebas coloreadas para la identificación de aminoácidos se basan en la reactividad de la cadena lateral R, la prueba de la ninhidrina reacciona con el grupo alfa amino de los aminoácidos ya sea que estén libres o estén unidos mediante enlaces peptídicos. La ninhidrina a pH de 4 a 8 es un oxidante muy fuerte y siempre reacciona con los grupos alfa amino, liberando amonio; este se condensa con la ninhidrina, formando un compuesto coloreado que va del azul violeta al púrpura.

La reacción de Biuret consiste en la condensación de dos moléculas de urea que se enlazan por sus grupos amino; perdiendo un grupo amino como amoniaco. Ésta es utilizada para compuestos que contienen arriba de dos enlaces peptídicos en su estructura molecular; es decir, que las proteínas y péptidos (desde tripéptidos) dan esta prueba positiva y se caracterizan por la aparición de una coloración violeta, los dipéptidos y aminoácidos dan un resultado negativo a esta prueba.

EXPERIMENTO 1. PRUEBA DE LA NINHIDRINA

MATERIAL BIOLÓGICO	MATERIAL QUÍMICO
Solución de albúmina de huevo (clara de huevo diluida 1:50)	Solución de glicina 1%
	Solución de ninhidrina al 0.2%
	Agua destilada

METODOLOGÍA

- Identificar los tubos de ensaye.
- En un primer tubo, verter 1 mL de agua destilada (BLANCO).
- En un segundo tubo, dispensar 1 mL de solución glicina al 1% .

- En un tercer tubo, añadir 1 mL de solución de albúmina de huevo.
- Agregar a cada tubo 10 gotas de solución de ninhidrina al 0.2%.
- Homogeneizar adecuadamente.
- Colocar en un baño María durante 5 minutos.
- Observar la coloración.

EXPERIMENTO 2. PRUEBA DE BIURET

MATERIAL BIOLÓGICO	MATERIAL QUÍMICO
Solución de albúmina de huevo (clara de huevo diluida 1:50)	Solución de Fenilalanina 1%
	Reactivo de Biuret
	Agua destilada

METODOLOGÍA

- Identificar los tubos de ensaye.
- En un primer tubo, verter 2 mL de agua destilada (BLANCO).
- En un segundo tubo, dispensar 2 mL de solución de fenilalanina al 1% .
- En un tercer tubo, añadir 2 mL de solución de albúmina de huevo.
- Agregar a cada tubo 2 mL de reactivo de Biuret.
- Homogeneizar adecuadamente.
- Observar y registrar resultados de coloración.

REPORTE

1. Mencionar otras pruebas de laboratorio utilizadas para la identificación de aminoácidos.
2. ¿Por qué mediante la prueba de Biuret se identifica la presencia de proteínas, pero no de aminoácidos libres?
3. ¿Cómo afecta el punto isoelectrico (pKa) de la albúmina ante las pruebas utilizadas en la sesión de laboratorio?
4. Registrar las observaciones e interpretar bioquímicamente los resultados.

Práctica No. 12

**FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD
DE UNA REACCIÓN ENZIMÁTICA**

COMPETENCIA

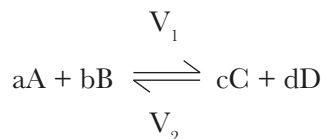
Analiza la cinética enzimática y relaciona los factores que influyen como temperatura, concentración del sustrato y pH.

INTRODUCCIÓN

Los enzimas son proteínas que catalizan reacciones químicas en los seres vivos. Igual que la biocatálisis que regula la velocidad a la cual tienen lugar los procesos fisiológicos, las enzimas llevan a cabo funciones definitivas relacionadas con la salud y la enfermedad. La velocidad de reacción de las enzimas depende de varios factores como: temperatura, pH, concentración de la enzima, concentración del sustrato, oxidación entre otros.

FUNDAMENTO

El mecanismo que permite que las enzimas incrementen la velocidad de la reacción es la reducción de la energía libre de activación requerida para transformar un sustrato al producto correspondiente, sin afectar la constante de equilibrio. Tal como se muestra en la siguiente reacción:



$$k_{eq} = \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

Donde:

A y B = Sustratos

C y D= Productos

V1= Velocidad de reacción para formar productos

V2= Velocidad de reacción para formar sustratos

Keq= Constante de equilibrio

[]= Concentración molar

La actividad de una enzima se evalúa de acuerdo a la velocidad de reacción. La cinética enzimática estudia la velocidad de la reacción enzimática y los factores fisicoquímicos que modifican la actividad de la enzima son los siguientes:

1. **Concentración del sustrato:** La velocidad de una reacción catalizada por una enzima, aumenta conforme se incrementa la concentración de sustrato hasta que se llega a una velocidad máxima (V_{max}), a partir de la cual la velocidad de la reacción, es independiente de la cantidad de sustrato. El que la velocidad no pueda seguirse incrementando, refleja la saturación del sitio activo con el sustrato.
2. **Temperatura:** En general, la velocidad de la reacción se incrementa con la temperatura hasta que un punto máximo es alcanzado. Este incremento se debe a que aumenta el número de moléculas ricas en energía que pueden pasar la barrera energética de estado de transición, para formar a los productos. La elevación excesiva de la temperatura del medio que contiene a las enzimas, resulta en un decremento de la velocidad como resultado de la desnaturalización, es decir, la pérdida de la estructura tridimensional de las enzimas.
3. **Efecto del pH:** la concentración de H^+ afecta la velocidad de la reacción en muchas formas. Primero el proceso catalítico usualmente requiere que la enzima y el sustrato tengan grupos químicos en una forma iónica particular para poder interactuar. pH extremos pueden ocasionar la desnaturalización de las enzimas, debido a que la estructura con estos cambios no permite modificar las interacciones iónicas que intervienen en la estabilidad de la enzima en su estado nativo.

MATERIAL	REACTIVO
Cronómetro	Solución de almidón al 1%
Tubos de ensayo de 13x100	Saliva
Placa de porcelana	Reactivo de lugol (yoduro de potasio, yodo y agua)
Gradilla	
Vaso de precipitados	

METODOLOGÍA

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DE LA ENZIMA

1. Rotular de manera ascendente cuatro tubos de ensayo.
2. Agregar a cada tubo 5 mL de almidón al 1%
3. Añadir saliva en la siguiente proporción:
 - a. Tubo 1: 1 gota de saliva.
 - b. Tubo 2: 2 gotas de saliva.
 - c. Tubo 3: 5 gotas de saliva.
 - d. Tubo 4: 10 gotas de saliva.
4. Mezclar homogéneamente cada uno de los tubos.
5. Cada 2 minutos se realizará la prueba de lugol (yodo) en una placa de porcelana, para cada uno de los tubos, hasta llegar al punto acrómico (incolore).
6. Observar los cambios de color que se lleven a cabo en las placas de porcelana.
7. Si la actividad de la amilasa es débil se puede dispensar 1 ml de NaOH al 10% ya que los halógenos tienen acción sobre la velocidad de acción de la amilasa salival.
8. Registrar los resultados en la siguiente tabla.

Tubo	MINUTOS									
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
1										
2										
3										
4										

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

1. Rotular los cuatro tubos de ensayo de manera ascendente.
2. Añadir 5 mL de almidón al 1% para cada uno de los tubos de ensayo.

3. Colocar cuatro vasos de precipitados de 500 mL y efectuar lo siguiente:
 - a. Vaso de precipitados 1: Colocar hielo picado, para tener una temperatura de 10° C y añadir agua destilada.
 - b. Vaso de precipitados 2: Dispensar 250 mL de agua de la llave (temperatura ambiente).
 - c. Vaso de precipitados 3: Añadir 250 mL de agua destilada, previo calentamiento hasta una temperatura de 38°C.
 - d. Vaso de precipitados 4: Vertir 250 mL de agua destilada, previo calentamiento hasta una temperatura de 85° C.
4. Estableciendo las condiciones aptas de los vasos de precipitados, se colocan los tubos de ensaye, dejándolos reposar un periodo mínimo de 5 minutos, agregando 5 gotas de saliva a cada uno de los tubos, agítense a manera que se homogenicen uniformemente.
5. Realizar la prueba de Lugol (yodo) en la placa de porcelana a cada de uno de los tubos a cada uno de los tubos hasta llegar al minuto 20.
6. Transcurrido el tiempo, los tubos que todavía den coloración con el reactivo de lugol, se deben incubar 15 minutos en el vaso de precipitados en el que la hidrólisis se efectuó con mayor rapidez, para pasado el tiempo efectuar la prueba de Lugol.
7. Elaborar las observaciones y conclusiones de la prueba.

Tubo	MINUTOS									
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
1 Temp 10°C										
2 Temp Amb.										
3 Temp 38° C										
4 Temp 85° C										

• Ph pH

1. Rotular siete tubos de ensayo de manera ascendente.
2. Agregar a cada tubo de ensaye lo indicado en la siguiente tabla:

REACTIVO	TUBOS						
	1	2	3	4	5	6	7
NaCl 0.2%	5 mL	1.25 mL	0.60 mL	0.25 mL	--	--	--
NaOH 0.2%	--	--	--	--	--	0.25 mL	1.25 mL
H ₂ O	4 mL	7.75 mL	8.40 mL	8.75 mL	9 mL	8.75 mL	7.75 mL

3. Homogeneizar los tubos.
4. Agregar 5 mL de almidón al 1% a cada uno de los tubos.
5. Agregar 1 mL de saliva a cada uno de los tubos.
6. Realizar la prueba de lugol (yodo) en la placa de porcelana en los siguientes tiempos: 2,12,22,32 minutos.
7. A los tubos 6 y 7, se les debe colocar una gota de HCl al 0.2% en las hendiduras de la placa de porcelana para acidificar.
8. Transcurrido el minuto 32 será necesario re-incubar aquellos tubos de ensaye que no sufrieron hidrólisis, la re-incubación debe ser a una temperatura de 38° C durante un lapso de tiempo de 20 minutos, después de ese tiempo efectuar de nuevo la prueba de lugol.

REPORTE

1. Utilizar evidencia fotográfica o esquemas para las observaciones de cada una de las pruebas y formule un enunciado que relacione el factor estudiado y el cambio observado en la amilasa salival.

Práctica No. 13

CADENA RESPIRATORIA

COMPETENCIA

Identifica los cambios de energía que acompañan a las reacciones bioquímicas así como también al ATP como molécula universal de energía, y analiza los diferentes inhibidores de la cadena respiratoria.

INTRODUCCIÓN

La cadena respiratoria es la última etapa de la degradación de nutrientes, así como de los productos de degradación de otros compuestos de origen endógeno. Es también la etapa en que se conserva, en forma de ATP, la mayor parte de la energía contenida en esos compuestos. La cadena respiratoria comprende dos procesos:

1. Un proceso exergónico: La cadena transportadora de electrones, que comprende la oxidación de los cofactores reducidos hasta la reducción del aceptor final de los electrones, el oxígeno, que se transforma en agua. Este proceso libera energía y se forman de nuevo los cofactores oxidados que vuelven a participar en el ciclo de Krebs. La energía liberada se conserva en forma de gradiente de protones.
2. Un proceso endergónico: La fosforilación oxidativa, que consiste en la síntesis del ATP, acoplado a este transporte electrónico, pues utiliza el gradiente de protones que se forma a partir de la energía que se libera en la cadena transportadora de electrones.

Ambos procesos de la cadena respiratoria localizados en la membrana interna de la mitocondria.

FUNDAMENTO

El término respiración celular es definido como el proceso en el cual la energía se genera a través de moléculas nutritivas, con O_2 como el máximo aceptor de electrones.

Se puede clasificar en tres tipos los estados de oxidación metabólica de compuestos orgánicos:

1. Generación de un fragmento activado de dos carbonos (el grupo acetilo de la Acetil-CoA) del Piruvato (citoplasma), ácidos grasos (mitocondria) o aminoácidos (citoplasma/mitocondria).
2. Oxidación de los carbonos del fragmento de acetilo mediante el ciclo del ácido cítrico (mitocondrias).
3. Transferencia de electrones desde la oxidación en el complejo II a través del sistema de transporte de electrones para producir ATP de la fosforilación oxidativa.

El transporte de electrones es un sistema en el que los electrones generados por la oxidación son transferidos. La transferencia de los electrones mediante este sistema genera energía potencial que es usada para sintetizar ATP en la fosforilación oxidativa, las cuales ocurren de la siguiente forma:

1. Complejo I (NADH Y NADH deshidrogenasa): La molécula de NADH se genera mediante numerosas deshidrogenasas en la célula, ésta se reoxida a NAD^+ por el complejo I de la mitocondria (NADH deshidrogenasa).
2. Complejo II (*Succinato deshidrogenasa*): Los electrones no se transportan desde el complejo I hacia el complejo II, sino que existe un punto de entrada de los electrones desde FADH_2 producido por la enzima *Succinato deshidrogenasa* en el ciclo de Krebs, estos complejos I y II donan sus electrones al mismo aceptor coenzima Q.
3. Coenzima Q (CoQ): tiene la capacidad de aceptar electrones en pares y donarlos uno a la vez mediante un intermediario semiquinona hacia el complejo III.
4. Complejo III. Contiene diversas proteínas acarreadores de electrones, tales como citocromo b, complejos de hierro y azufre y citocromo c1. El citocromo b es una proteína acarreadora que contienen un grupo hem.
5. Citocromo c. Es una proteína, que forma parte del sistema de transporte de electrones que no es un complejo, éste acepta los electrones del complejo III y los envía al complejo IV.
6. Complejo IV. Se le conoce como citocromo oxidasa, porque toma los electrones del citocromo c; contiene citocromo a y a3 estos representan dos grupos hemo A los cuales se asocian a la misma cadena polipeptídica. Se encuentran en diferentes ambientes en el interior de la membrana aunque tienen diferentes potenciales de membrana idénticos, sus potenciales de reducción son diferentes. Cada uno de los grupos hemo se encuentran asociado a un

ion cobre, localizado cerca al hierro hemo. Los electrones que pasan por el complejo IV pueden ser bloqueados por algunos inhibidores como el cianuro, azida de sodio, además del monóxido de carbono y el acarreador artificial de electrones, ferrocianuro, puede aceptar electrones del citocromo a en el complejo.

Un inhibidor del transporte de electrones crea un punto de cruce o lugar específico de inhibición. Cuando una ruta es bloqueada totalmente, los acarreadores de electrones se encontrarán en un estado reducido antes del punto de inhibición y oxidado después de este.

Los aceptores artificiales de electrones tienen un efecto opuesto a los inhibidores. Esto es, restablecen el flujo de electrones en un punto específico al presentarse un inhibidor. Por ejemplo si las mitocondrias fueran tratadas con antimicina A (un inhibidor) y azul de metileno (un aceptor artificial de electrones), el complejo I sería oxidado respecto a CoQ debido a la liberación de los electrones del complejo I al azul de metileno. El CoQ permanecería reducido, así mismo la transferencia de electrones hacia el siguiente acarreador, complejo III estaría bloqueada.

MATERIAL	REACTIVOS
Vasos de precipitados 100 ml	Tiras de pH
Pipetas de 5 y 10 ml	Levadura
	Solución glucosada al 10%
	Solución de dinitrofenol
	Solución azida de sodio
	Agua destilada

METODOLOGÍA

Este procedimiento consta de tres fases:

1. PRIMERA FASE (CONTROL)

- Diluir 5 g de levadura en 40 ml de agua destilada.
- Medir el pH de la solución.
- Repetir la medición de pH cada 3 min dos veces.
- Adicionar 5 ml de glucosa al 10%, agitar y medir el pH.
- Homogeneizar.
- Repetir la medición de pH cada 5 min 4 veces.
- Homogeneizar.
- Repetir la medición de pH cada 10 min 2 veces.

2. SEGUNDA FASE:

- a. Diluir 5 g de levadura en 40 ml de agua destilada.
- b. Añadir por decantación (no pipetear) 0.2 ml de la solución de dinitrofenol.
- c. Homogeneizar con precaución.
- d. Medir el pH de la solución.
- e. Repetir la medición de pH cada 3 min dos veces.
- f. Esperar 5 minutos.
- g. Adicionar 5 ml de glucosa al 10%, agitar y medir el pH.
- h. Homogeneizar.
- i. Repetir la medición de pH cada 5 min 4 veces.
- j. Homogeneizar.
- k. Repetir la medición de pH cada 10 min 2 veces.

3. TERCERA FASE:

- a. Diluir 5 g de levadura en 40 ml de agua destilada.
- b. Añadir por decantación (no pipetear) 0.5 ml de la solución de azida de sodio.
- c. Homogeneizar con precaución.
- d. Medir el pH de la solución.
- e. Repetir la medición de pH cada 3 min dos veces.
- f. Esperar 5 minutos.
- g. Adicionar 5 ml de glucosa al 10%, agitar y medir el pH.
- h. Homogeneizar.
- i. Repetir la medición de pH cada 5 min 4 veces.
- j. Homogenizar.
- k. Repetir la medición de pH cada 10 min 2 veces.

Registrar sus datos en la siguiente tabla

Tiempo (min)	Glucosa	Dinitrofenol	Azida de sodio
0			
5			
10			

Tiempo (min)	Glucosa	Dinitrofenol	Azida de sodio
15			
20			
30			
40			

REPORTE

1. Elaborar gráfica para cada una de las fases.
2. ¿Cuál es la causa principal del cambio de pH en las fases dos y tres?
3. Comparar y justificar los resultados obtenidos en la práctica.

Práctica No. 14

**OXIDACIONES BIOLÓGICAS:
PRESENCIA DE CATALASA EN TEJIDO
HEPÁTICO Y VEGETAL**

COMPETENCIA

Identifica la contribución del oxígeno a la formación de radicales libres de oxígeno, así como reconoce las principales enzimas que protegen al organismo contra la acción de los mismos.

INTRODUCCIÓN

El oxígeno tiene la particularidad de ser un elemento ambiguo en el organismo ya que es esencial debido a su participación en las reacciones de oxidación de las vías de generación del trifosfato de adenosina (ATP), de destoxificación y biosíntesis; pero también resulta ser tóxico en los seres humanos cuando el oxígeno acepta electrones desapareados y se transforma en radicales de oxígeno altamente reactivos que dañan lípidos, proteínas y DNA celulares.

El daño por los radicales de oxígeno reactivo contribuye a la muerte y degeneración de las células en una gran variedad de enfermedades. Tales como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Algunas enfermedades y condiciones relacionadas con lesiones por radicales libres

Aterogénesis	Trastornos vasculares cerebrales
Enfisema, bronquitis	Lesión por isquemia y reperfusión
Distrofia muscular de Duchenne	Trastornos neurodegenerativos
Embarazo, preeclampsia	Esclerosis lateral amiotrófica (enfermedad de Lou Gehrig)
Fibroplasia retrolenticular	Enfermedad de Alzheimer
Cáncer cervicouterino	Síndrome de Down
Hepatopatía alcohólica	Lesión por isquemia-reperfusión después de accidente vascular cerebral
Hemodiálisis	Enfermedad de OXPHOS (trastorno del DNA mitocondrial)
Diabetes	Esclerosis múltiple
Insuficiencia renal aguda	Enfermedad de Parkinson
Envejecimiento	

Mediante procesos enzimáticos y no enzimáticos en la célula, el oxígeno (O_2) acepta electrones sencillos para formar especies reactivas de oxígeno (ERO) las cuales son radicales de oxígeno con alta reactividad o compuestos que se convierten con facilidad en estos radicales reactivos en las células.

Las ERO formadas por reducción del O_2 son el radical superóxido (O_2^-), el no radical peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH^-). Al daño que causan los radicales de oxígeno se une el de los radicales de óxido nítrico (NO) y la ERO ácido hipocloroso ($HOCl$). El NO se combina con el O_2 o el superóxido para formar especies reactivas de nitrógeno-oxígeno (ERNO), como el no radical peroxinitrito o el radical dióxido de nitrógeno. Los ERNO están presentes en el ambiente como por ejemplo el humo de cigarrillo y se generan en las células.

Durante la fagocitosis de microorganismos invasores, las células del sistema inmunitario producen O_2^- , $HOCl$ y NO mediante la acción de la NADPH oxidasa, la mieloperoxidasa y la sintasa de óxido nítrico inducible, respectivamente. Además de destruir a los microorganismos invasores fagocitados, estos metabolitos tóxicos pueden dañar a componentes del tejido circundante.

Las células se protegen a sí mismas contra el daño de las ERO y otros radicales mediante procesos de reparación, de compartimentación de la síntesis de radicales libres, por enzimas de defensa y antioxidantes endógenos y exógenos (sequestradores de radicales libres). La enzima de defensa superóxido dismutasa (SOD) elimina el radical libre superóxido. La catalasa y la glutatión peroxidasa eliminan el peróxido de hidrógeno y los peróxidos lipídicos. La vitamina E, la vitamina C y los flavonoides vegetales actúan como antioxidantes. El estrés oxidativo aparece cuando la velocidad de generación de ERO rebasa la capacidad de la célula para eliminarlos.

FUNDAMENTO

Las ERO se forman todo el tiempo en la célula; cerca del 3% a 5% del oxígeno que consume una persona se convierte en radicales libres de oxígeno. Algunos se generan por productos accidentales de reacciones enzimáticas y no enzimáticas. En ocasiones se sintetizan de manera deliberada en reacciones catalizadas por enzimas o por la radiación ultravioleta y los contaminantes del aire que aumentan la formación de compuestos tóxicos que contienen oxígeno.

Las principales fuentes de especies reactivas de oxígeno en la célula son:

1. En la mitocondria debido a la cadena de transporte electrónico **la coenzima Q (CoQ)** genera superóxido; esto se debe a que su forma reducida está libre en la membrana y puede transferir aleatoriamente un electrón

al O_2 disuelto, con lo que se forma el superóxido. Caso contrario cuando el O_2 se une con la citocromo oxidasa y acepta electrones, ninguno de los intermediarios radicales O_2 se libera de la enzima y no se generan especies reactivas de oxígeno.

2. Las **oxididasas, oxigenasas y peroxidadasas** de la célula se unen al O_2 y le transfieren electrones únicos a través de un metal, puede que los radicales libres intermediarios de estas reacciones se liberen de manera fortuita antes de que la reducción esté completa.
3. La **radiación ionizante** cuenta con la energía suficiente para disociar el agua en radicales hidroxilo e hidrógeno, lo que causa un daño por radiación en la piel, mutaciones, cáncer y muerte celular. También puede generar radicales orgánicos por colisión directa con los compuestos celulares orgánicos.

Reacciones de radicales de oxígeno con componentes celulares

Los radicales de oxígeno causan disfunción celular, porque reaccionan con los lípidos, las proteínas, los carbohidratos y el DNA para extraer electrones, existe evidencia de daño por radicales libres en más de 100 trastornos. En algunos de los casos, el daño por radicales libres es la principal causa de la enfermedad; en otros intensifica las complicaciones del trastorno. Tabla 1.

1. **Ataque a la membrana: formación de radicales lipídicos y peróxidos de lípidos.** El superóxido y el radical hidroxilo inician la peroxidación de los lípidos en la membrana celular, cuando los lípidos dañados son los constituyentes de las membranas biológicas se altera la disposición cohesiva de la bicapa lipídica y la organización estructural estable, la pérdida de la integridad de la membrana mitocondrial puede inducir a la formación de un mayor número de radicales libres.
2. **Proteínas y péptidos.** En las proteínas, los aminoácidos prolina, histidina, cisteína y metionina son los más afectados ante la acción de los radicales hidroxilo y al daño oxidativo, la proteína se fragmenta o se forman enlaces cruzados entre los residuos de aminoácidos. El ataque de los radicales libres sobre los residuos de cisteína en la proteína puede inducir el entrecruzamiento y la formación de agregados que impiden su degradación. El

daño oxidativo se incrementa ante la susceptibilidad de otras proteínas a la digestión proteolítica.

La evidencia de daño proteico se observa en muchas enfermedades, sobre todo en aquellas relacionadas con el envejecimiento. En pacientes con cataratas, las proteínas en la lente del ojo presentan un daño por radicales debido a que contienen residuos de sulfóxido de metionina y productos de la degradación del triptófano.

3. **DNA.** Los radicales libres derivados del oxígeno también son causa importante del daño del DNA. Se han identificado alrededor de 20 diferentes moléculas de DNA que se ven afectadas por la oxidación.

MATERIAL BIOLÓGICO	REACTIVOS	MATERIAL
Papa	Peróxido de Hidrógeno	Tubos de ensaye
Trocitos de hígado fresco		Pinzas
		Mechero de Bunsen
		Tabla de picar
		Cuchillo
		Pelapapas
		Mortero con pistilo
		Embudo
		Papel filtro

METODOLOGÍA

1. Retirar la cáscara de la papa con el pelapapas.
2. Partir en trozos pequeños el hígado fresco y la papa.
3. Dividir en dos porciones la papa y el hígado fresco.
4. Para la primer porción se efectuará lo siguiente:
 - a. Colocar por separado en un tubo de ensaye trozos de papa e hígado fresco.
 - b. Añadir aproximadamente 5 mL de agua oxigenada a cada uno de los tubos.
 - c. Observar.
5. Para la segunda porción:
 - a. Colocar por separado en un mortero trozos de hígado fresco y papa.

Práctica No. 15

ANÁLISIS DE AZÚCARES REDUCTORES

COMPETENCIA

Distingue azúcares reductores y no reductores utilizando el reactivo de Benedict.

INTRODUCCIÓN

Los carbohidratos son sustancias naturales compuestas de carbono, hidrógeno y oxígeno. Antiguamente se les conocía como “hidratos de carbono”. En la década de 1880 se reconoció que dicho concepto era erróneo, ya que los estudios estructurales de estos compuestos revelaron que no eran hidratos, pues no contenían moléculas intactas de agua. Además, otros compuestos naturales (carbohidratos) tenían fórmulas moleculares diferentes a las anteriores. En la actualidad, los carbohidratos se definen como aldehídos o cetonas polihidroxilados, o bien, derivados de ellos.

FUNDAMENTO

Los carbohidratos reductores son aquellos que poseen un grupo aldehído o cetónico libre en su estructura química, capaz de reaccionar frente a los ácidos, iones metálicos o bases. Sufren oxidación o fragmentación para dar lugar a la observación de la positividad de las reacciones investigadas,

Los iones cúpricos en presencia de las soluciones de azúcares reductores se ven disminuidas a iones cuprosos que al final forman óxido cuproso. Las propiedades reductoras de los azúcares dependen de la presencia de grupos aldehídos o cetónicos libres, reales o potenciales, en su estructura química.

El reactivo de Benedict se basa en la formación de Óxido cuproso (precipitado de color rojo) al reducirse el Hidróxido cúprico a un azúcar en un medio alcalino para dar estabilidad a la reacción.

En la prueba de yodo lugol, algunos polisacáridos tienen formas típicas de reaccionar con el yodo para producir compuestos coloreados. Permitiendo el reconocimiento del almidón, glicógeno y dextrinas, cada uno por su coloración característica.

Los azúcares reductores tienen importancia clínica para detectar deficiencia de enzimas intestinales como la lactasa debido a una deficiencia congénita o daños inespecíficos a la mucosa. En las heces de una persona sana existe una pequeña cantidad de cuerpos reductores, esta cantidad no sobrepasa los 0.25 g/dl. Para poner en evidencia los cuerpos reductores en las heces de un paciente.

MATERIAL	REACTIVO
Tubos de ensaye	Solución al 1% de glucosa, fructuosa, lactosa, sacarosa, almidón, ácido ascórbico
Gradilla	Agua destilada
Vaso de precipitados 50 mL	Reactivo de Benedict
Goteros	Saliva
Placa de porcelana	Reactivo de yodo lugol

METODOLOGÍA PARA LA PRUEBA DE BENEDICT

1. Se preparan los tubos correspondientes para cada solución incluyendo la saliva, según muestra la siguiente tabla:

	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5	Tubo 6	Tubo 7	Tubo 8
Reactivo Bene- dict			2.5 mL para cada uno de los tubos					
Glucosa	5 gts.							
Fructuosa		5 gts.						
Lactosa			5 gts.					
Xylosa								
Sacarosa				5 gts.				
Almidón					5 gts.			
Ácido ascórbico						5 gts.		
Agua destilada							5 gts.	
Saliva								5gts.

2. Mezclar y calentar a ebullición en baño María durante 3 minutos.
3. Retirar los tubos del calentamiento una vez transcurrido el tiempo y atemperar a temperatura ambiente.
4. Observar el precipitado formado en los tubos de ensaye.

METODOLOGÍA PARA PRUEBA DE YODO LUGOL

1. Añadir una gota de cada una de las soluciones problema por separado en las hendiduras de la placa de porcelana.
2. Agregar a cada hendidura una gota de yodo lugol.
3. Observar los cambios.

REPORTE

1. Definir azúcares reductores.
2. Explicar bioquímicamente la intolerancia a la glucosa.
3. Mencionar el principio de la cuantificación de sustancias reductoras (azúcares reductores) en heces.
4. Registrar los cambios durante las pruebas, utilizar esquemas y/o dibujos elaborando una conclusión que se fundamente bioquímicamente.

Práctica No. 16

DETERMINACIÓN DE GLUCOSA EN SANGRE

COMPETENCIA

Comprende la relación que implica la elevación de glucosa y diabetes, a través de la determinación de cuantificación de los niveles de glucosa sanguínea.

INTRODUCCIÓN

La glucosa es el principal combustible de las células vivas, en el ser humano, la glucosa es la fuente de energía preferida de las células cerebrales y de las células que no tienen mitocondrias como los eritrocitos y de aquellas células que tienen un aporte limitado de oxígeno, como las del globo ocular.

Los niveles de glucosa en sangre (glucemia) se mantienen dentro de unos límites muy estrechos y constantes gracias, fundamentalmente, a la acción de dos hormonas: la insulina (hipoglucemiante) y el glucagón (hiperglucemiante).

FUNDAMENTO

La concentración normal de glucosa en sangre es de 60-100 mg/dL, aún durante los estados postprandial, de ayuno o inanición. La insulina se encarga de disminuir la glucemia, al promover el ingreso de glucosa en las células, su utilización (glucólisis), su almacenamiento en hígado y músculo en forma de glucógeno (glucogénesis) y su transformación en triacilgliceroles en el tejido adiposo, entre otras acciones. Según la Norma Oficial Mexicana.

La diabetes es la enfermedad sistémica, crónico-degenerativa, de carácter heterogéneo, con grados variables de predisposición hereditaria, con participación de factores ambientales, que se caracteriza por hiperglucemia crónica, debido a la deficiencia en la acción o producción de insulina, lo que afecta el metabolismo intermedio de los carbohidratos, proteínas y grasas.

Existen diversos test de análisis clínico que se basan en la demostración de una tolerancia anormal a la glucosa, dichas pruebas se mencionan a continuación:

Glucosa plasmática: detecta la presencia de glucosa en una concentración superior a 200 mg./dl. (11.1 mmol/l.) en plasma venoso en ayunas es compatible con el diagnóstico de *diabetes mellitus* si se ha presentado al menos en dos ocasiones sin otra causa que lo justifique. Los valores inferiores a 115 mg./dl. (6.4 mmol/l.) descartan el diagnóstico.

Hemoglobina glucosilada (HbA1c): Cuando la glucosa entra en los eritrocitos, produce glucosilación del grupo ϵ -amino de los residuos lisina y amino terminales de la hemoglobina. La Hb A1c es aproximadamente el 5% del total y es proporcional a la concentración de glucosa en la sangre.

Una elevación continua y prolongada de la glucemia, característica propia de la diabetes, origina la glucosilación de las proteínas del organismo. Esta modificación química causa alteración en su función y su estructura, lo que tiene relevancia en las complicaciones crónicas de la diabetes. La hemoglobina glucosilada y la albumina glucosilada son las proteínas circulantes en sangre, con mayor aplicación en el diagnóstico de la diabetes.

Glucosa urinaria: Si se rebasa el límite de glucosa en sangre, que está situado entre 160 y 180 mg/dl. (9-10 mmol/l.), la glucosa pasa a la orina, lo que se conoce como superación del umbral renal. Como prueba diagnóstica tiene un valor muy limitado por el cambiante grado de dilución que puede presentar. Sin embargo, su análisis tiene interés dentro de las pruebas urinarias de carácter rutinario para la detección de alteraciones.

Curva de tolerancia a la glucosa: En esta determinación no deberá comer ni beber nada después de la media noche antes del examen, para el examen, se le solicita al paciente que tome un líquido que contiene una 100 mg. de glucosa. Se le toman muestras de sangre, una basal esto es, antes de ingerir la bebida glucosada y de nuevo cada 30 a 60 minutos después de beber la solución. El examen demora hasta 3 horas, según indique el médico. Se utiliza para evaluar a las mujeres embarazadas en búsqueda de diabetes gestacional entre las semanas 24 y 28 del embarazo, además de pacientes en los que se sospeche la presencia de esta enfermedad, a pesar de una glucemia en ayunas normal.

Resistencia a la insulina: Se define como la disminución de la capacidad de la insulina para ejercer sus acciones biológicas en tejidos no característicos de destino. Como una respuesta compensatoria, el páncreas produce hiperinsulinemia. La combinación de estas dos condiciones induce al desarrollo de un conjunto de alteraciones que conllevan a otras enfermedades. En el ejercicio clínico, se utiliza la medición de la concentración de insulina sanguínea en ayunas, además de que se han propuesto expresiones matemáticas para la estimación de la resistencia a la insulina; una de las frecuentes es la de análisis del modelo homeostático, conocido como HOMA.

Insulina o péptido C: es un subproducto que se crea cuando se produce la hormona insulina. Cuando el páncreas produce insulina, comienza como una molécula grande que se divide en dos partes: insulina y **péptido C** ; ambos se liberan en el torrente sanguíneo en cantidades iguales. Por ello, una prueba de los niveles de **péptido C** muestra la cantidad de insulina que está produciendo el organismo

y nos permite diferenciarla de la que ha sido inyectada en el cuerpo, esta prueba es utilizada para diferenciar el tipo de diabetes.

En base a lo que dicta la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, establece que para que un paciente pueda ser diagnosticado como DIABÉTICO en cualquiera de sus clasificaciones según la CIE-10 (Clasificación Internacional de Enfermedades, versión 10 capítulo IV “Enfermedades endócrinas, nutricionales y metabólicas”) deberá cumplir lo que esta menciona en su apartado de DIAGNÓSTICO lo cual se cita a continuación:

10.1 Se establece el **diagnóstico de diabetes**, si cumple cualquiera de los siguientes criterios: presencia de síntomas clásicos y una glucemia plasmática casual >200 mg/dl (11,1 mmol/l); glucemia plasmática en ayuno >126 mg/dl (7 mmol/l); o bien glucemia >200 mg/dl (11,1 mmol/l) a las dos horas después de carga oral de 75 g de glucosa disuelta en agua. En ausencia de hiperglucemia inequívoca, con descompensación metabólica aguda, el diagnóstico debe confirmarse repitiendo la prueba otro día.

10.2 Se establece el diagnóstico de glucosa anormal en ayuno, cuando la glucosa plasmática o en suero es >110 mg/dl (6,1 mmol/l) y <126 mg/dl (6,9 mmol/l).

10.3 Se establece el diagnóstico de intolerancia a la glucosa, cuando la glucosa plasmática, a las dos horas pos carga, es >140 mg/dl (7,8 mmol/l) y <200 mg/dl (11,1 mmol/l).

10.4 Diabetes gestacional.

10.4.1 Antes de efectuar la prueba de tolerancia a la glucosa, se deberá realizar la prueba de detección en toda embarazada entre las semanas 24 y 28 de gestación. Si una hora después de una carga de 50 g de glucosa por vía oral, se encuentra una glucemia plasmática >140 mg/dl, se efectuará la prueba diagnóstica.

10.4.2 Se establece el diagnóstico de diabetes gestacional, si durante las semanas 24 a 28 del embarazo se presentan dos o más de los siguientes valores: en ayuno >105 mg/dl; y, después de una carga de glucosa en ayuno de 100 g, valores superiores a 190 mg/dl a la hora pos carga, 165 mg/dl a las dos horas pos carga y 145 mg/dl a las tres horas.

MATERIAL	REACTIVO
Tubos de ensaye	Muestras de sangre
Gradilla	Reactivos para determinar Glucosa

METODOLOGÍA

1. Extraer una muestra de sangre en ayuno a un integrante voluntario del equipo.
2. El participante voluntario debe seguir sus actividades normales durante el día.
3. Previo 30 minutos antes de ingresar a la sesión de laboratorio, ingerir alimento con alto contenido de carbohidratos, anotando la hora de inicio y término de la comida.
4. En la sesión de laboratorio, se le realizan medidas somatométricas: peso, talla, índice de masa corporal (IMC), circunferencia de la cadera, índice de cintura/cadera, al alumno voluntario.
5. Nuevamente se le extrae muestra de sangre una vez cumplido un periodo de tiempo de 30 minutos después de la ingestión de su alimento rico en carbohidratos.
6. Transcurridos 60 minutos de la hora de término de la comida, se tomará la última muestra de sangre.
7. Obteniendo las muestras requeridas para el estudio, se debe cuantificar la concentración de glucosa, conforme a las indicaciones del inserto de los reactivos a utilizar.

REPORTE

1. Describa la fórmula HOMA.
2. Explique la importancia de mantener los niveles normales de glucosa en sangre en una persona con *diabetes mellitus*.
3. Mencionar las condiciones celulares y metabólicas que pueden impedir el paso de la glucosa sanguínea a las células.
4. Registrar las observaciones e interprete elaborando una conclusión que se fundamente bioquímicamente.

Práctica No. 17

PERFIL DE LOS LÍPIDOS

COMPETENCIA

Identifica mediante el perfil de lípidos los diferentes parámetros de colesterol total, así como el HDL y LDL presentes en una muestra problema y su implicación en la Aterosclerosis

INTRODUCCIÓN

El Perfil Lipídico, es conocido también como perfil de riesgo coronario o lipograma, el cual comprende a todo un conjunto de pruebas de laboratorio que colaboran con la evaluación del riesgo de desarrollar una enfermedad cardiovascular o cerebrovascular.

Conocer los valores normales de cada uno de los parámetros estudiados es útil para determinar el estado de las grasas (lípidos en la sangre) y las moléculas que las transportan en la sangre, ya que predisponen a la formación de ateromas que generan estrechamiento en las arterias, impidiendo el paso de la sangre hacia el corazón, el cerebro y el resto de los órganos, lo que puede generar infartos o derrames cerebrales.

Con los resultados del examen Perfil de Lípidos el médico puede evaluar si el paciente posee riesgo bajo, moderado, alto o muy alto de desarrollar una enfermedad cardiovascular.

Las pruebas que conforman el Perfil Lipídico (valores normales) pueden variar de un laboratorio a otro, sin embargo, podemos las más frecuentes son: colesterol HDL, colesterol LDL, colesterol VLDL, triglicéridos, colesterol Total, proteína C reactiva ultrasensible, homocisteína, apolipoproteína A-1, apolipoproteína B.

FUNDAMENTO

Todo adulto mayor a 20 años debe conocer sus cifras de colesterol, triglicéridos y colesterol de las HDL. Si los resultados son normales, las pruebas deben repetirse al menos cada cinco años; en el caso de resultados anormales, la frecuencia de las mediciones dependerá de la situación clínica específica que el médico enfrente y la categoría del riesgo en el que se encuentre el paciente.

Los principales parámetros estudiados en este tipo de exámenes de laboratorio son los siguientes:

1. El **colesterol LDL**, o lipoproteínas de baja densidad, también se denomina colesterol “malo” debido a su relación comprobada entre los niveles altos de LDL y enfermedades cardíacas.
2. El **colesterol HDL**, o lipoproteínas de alta densidad, también se denomina colesterol “bueno”. Se ha demostrado que niveles más altos de colesterol HDL reducen el riesgo de enfermedad cardíaca. El HDL ayuda a eliminar parte del colesterol del torrente sanguíneo y lo lleva de regreso hacia el hígado.
3. Los **triglicéridos (TG)** son partículas de grasa cuyos niveles aumentan en circunstancias tales como diabetes no controlada y obesidad. Cuando se bebe demasiada cantidad de alcohol y se toman determinados medicamentos, pueden aumentar los niveles de triglicéridos. Los niveles altos de triglicéridos (superiores a 150 mg/dL) significan un mayor riesgo de enfermedad cardíaca.
4. La **relación colesterol total/HDL** es un marcador importante de su riesgo de enfermedad cardíaca.

En la tabla 1, se muestran las concentraciones ideales de los parámetros estudiados en el perfil de lípidos.

Tabla 1. Concentración de los parámetros para el perfil de lípidos

PERFIL LIPIDICO				
PARÁMETRO	VALORES NORMALES O VALORES DE REFERENCIA			
	ÓPTIMO	SOBRE EL LIMITE ÓPTIMO	ALTO	MUY ALTO
HDL-COLESTEROL	ENTRE 40-60 mg/dL	SI SUPERA A LOS 60 mg/dL ES BENEFICIOSO		
LDL-COLESTEROL	MENOR A 100 mg/dL	ENTRE 100-129 mg/dL	ENTRE 130-189 mg/dL	MAYOR A 190 mg/dL
VLDL-COLESTEROL	ENTRE 2 y 30 mg/dL	SI SUPERA A LOS 30 mg/dL ES PERJUDICIAL		
COLESTEROL TOTAL	MENOR DE 200 mg/dL	ENTRE 200- 240 mg/dL		MAYOR A 240 mg/dL
TRIGLICÉRIDOS	MENOR DE 150 mg/dL	ENTRE 150-199 mg/dL	ENTRE 200-499 mg/dL	MAYOR A 500 mg/dL
HOMOCISTEÍNA	ENTRE 2-15	ENTRE 15-30	ENTRE 30-100	MAYOR A 100

PROTEÍNA C REACTIVA ULTRASENSIBLE	MENOR DE 1.0 mg/L	ENTRE 1-2.9 mg/dL		MAYOR A 3.0 mg/L
APOLIPOPROTEÍNA A-1	MAYOR DE 130 mg/dL	SI SUPERA A LOS 130 mg/dL ES BENEFICIOSO		
APOLIPOPROTEÍNA B	MENOR DE 90 mg/dL	ENTRE 90-115 mg/dL	ENTRE 115-140 mg/dL	MAYOR A 140 mg/dL

MATERIAL	REACTIVO
Tubos de ensaye	Reactivos para la determinación de colesterol total, HDL, LDL
	Agua destilada
	Muestra sanguínea problema

METODOLOGÍA

1. Extraer una muestra de sangre, y cuantificar la concentración para colesterol total, colesterol HDL y colesterol LDL.
2. Revisar previamente las indicaciones del inserto para cada una de las determinaciones a efectuar.
3. Efectuar lectura a la longitud de onda según corresponda la prueba en base a lo mencionado en el inserto.
4. Estimar la concentración para cada una de las pruebas efectuadas.

REPORTE

1. Enlista al menos dos características bioquímicas de: TG, HDL, LDL, VLD.
2. Escriba dos patologías que causen elevación del colesterol plasmático e indica la razón del aumento en la concentración sérica.
3. Enuncia los fármacos hipolipemiantes y describa cómo actúan en el organismo.
4. Con los resultados obtenidos en la práctica, elaborar una conclusión.

Práctica No. 18

INTEGRACIÓN DEL METABOLISMO

COMPETENCIA

Evalúa bioquímicamente las interrelaciones metabólicas de integración de los órganos ante diversas condiciones para mantener el equilibrio en el organismo.

INTRODUCCIÓN

Los alimentos que ingerimos deben estar constituidos por seis componentes básicos que son proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas, minerales y agua, la cantidad que se requiere ingerir de cada uno de los componentes varía de acuerdo a la constitución y la actividad física que se realiza, tanto la falta como en el exceso de consumo de alguno de los componentes básicos conlleva a diversos trastornos metabólicos.

Las interrelaciones metabólicas comprenden la integración de todos los órganos, que usan y generan combustibles e interactúan para mantener un equilibrio dinámico adecuado a las diferentes situaciones que enfrenta el organismo. El equilibrio se refiere a la adecuada distribución de los combustibles y al abastecimiento y eliminación de los metabolitos producidos por la función celular.

FUNDAMENTO

Durante una comida se ingieren carbohidratos, lípidos y proteínas, que se digieren y absorben con posterioridad. Cierta proporción de este alimento se oxida para satisfacer las necesidades energéticas inmediatas al organismo. La cantidad consumida en exceso se transporta a las reservas de combustible donde se almacena. El periodo que se extiende desde el inicio hasta el fin de la absorción se conoce como **estado de alimentación o estado de absorción**. Que el combustible se oxide o que se almacene en el estado de alimentación depende de la concentración de dos hormonas endocrinas sanguíneas: insulina y glucagón.

El destino de los carbohidratos principalmente la glucosa es; después de una comida varios tejidos oxidan la glucosa para dar energía y ésta entra a las vías de biosíntesis, almacenándose como glucógeno, sobre todo en los tejidos hepáticos y los músculos.

La glucosa es el principal precursor biosintético en el organismo y las estructuras de carbono de la mayor parte de los compuestos pueden sintetizarse a

partir de la glucosa. Esta última se convierte en triacilgliceroles. En el hígado, los triacilgliceroles, formados a partir de la glucosa o de los ácidos grasos obtenidos de la sangre, se concentran en lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y se liberan en sangre. Los ácidos grasos de las VLDL se almacenan en particular como triacilgliceroles en el tejido adiposo, pero algunos de ellos se utilizan para satisfacer las necesidades de energía.

En cuanto el destino de las **proteínas en la alimentación**; éstas se digieren hasta aminoácidos, los cuales se absorben en la sangre. En las células, los aminoácidos se convierten en proteínas o se usan para elaborar varios compuestos que contienen nitrógeno, como los neurotransmisores y el grupo *hemo*. Asimismo, la estructura de carbono puede oxidarse de manera directa para la obtención de energía o convertirse en glucosa.

El destino de **las grasas en la alimentación**. Los triacilgliceroles son los principales lípidos en la dieta, estos se descomponen hasta ácidos grasos y 2-monoacilgliceroles, los cuales se resintetizan hasta triacilgliceroles en las células epiteliales intestinales, empaquetados en quilomicrones y secretados a través de la linfa de la sangre. Los ácidos grasos de los triacilgliceroles en los quilomicrones se almacenan principalmente como triacilgliceroles en las células adiposas, las cuales posteriormente se oxidan para generar energía o se usan en las vías de la biosíntesis, como la síntesis de los lípidos de la membrana.

Una parte importante en la integración metabólica lo constituye la especialización metabólica de sus diferentes tejidos, dicha especialización contribuye a una mejor adaptación del individuo a su ambiente. Hay un amplio grupo de células responsables de la integración jerárquica en beneficio del conjunto. En la Tabla 1 se muestran los tejidos y los combustibles que suelen consumir y las rutas metabólicas utilizadas.

Tabla 1. Principales tejidos y sus rutas metabólicas

TEJIDO	COMBUSTIBLE ALMACENADO	COMBUSTIBLE PREFERIDO	COMBUSTIBLE EXPORTADO
Cerebro	Ninguno	Glucosa (O ₂) Inanición: cuerpos cetónicos	Ninguno
Músculo esquelético (reposo)	Glucógeno	Ácidos grasos	Ninguno
Músculo esquelético (ejercicio)	Ácido láctico	Glucosa Inanición: Proteínas.	Lactato Alanina

TEJIDO	COMBUSTIBLE ALMACENADO	COMBUSTIBLE PREFERIDO	COMBUSTIBLE EXPORTADO
Músculo cardíaco	Ninguno Reserva: creatina fosfato.	Ácidos grasos (O_2). También: glucosa, lactato y cuerpos cetónicos.	Ninguno
Tejido adiposo	Triacilglicéridos (sensor de glucosa)	Ácidos grasos	Ácidos grasos Glicerol
Hígado	Glucógeno, Triacilglicéridos (regula la glucosa)	Aminoácidos Glucosa Ácidos grasos	Ácidos grasos Glucosa Cuerpos cetónicos
Sangre	Transporta: lipoproteínas, O_2 , Hormonas y productos (urea)		

El hábito alimenticio humano de comidas aplazadas en el tiempo conduce a unos ciclos de nutrición / ayuno que requieren de una buena homeostasis. El ayuno comienza alrededor de dos a cuatro horas después de la comida, cuando las concentraciones de glucosa sanguínea regresan a cifras basales y continúan hasta que comienza a aumentar después del inicio de la siguiente comida. Tras la primera hora después de la comida, las cantidades de glucosa sanguínea empiezan a ir en descenso. En consecuencia, disminuyen las concentraciones de insulina y aumentan las de glucagón.

Estos cambios en las cifras de las hormonas activan la liberación de los combustibles desde las reservas. El glucógeno hepático se degrada por el proceso de glucogenólisis, el cual suministra la glucosa a la sangre. Los triglicerales del tejido adiposo se movilizan por el proceso de lipólisis, el cual libera los ácidos grasos y el glicerol en la sangre. El uso de ácidos grasos como combustible aumenta con la duración del ayuno; son el principal combustible oxidado durante el ayuno toda la noche.

Durante el ayuno, la glucosa continúa en oxidación por los tejidos dependientes de glucosa, como el cerebro, los eritrocitos. Los ácidos grasos se oxidan por los tejidos como el músculo y el hígado. El músculo y muchos otros tejidos oxidan por completo a los ácidos grasos hasta CO_2 y H_2O . Sin embargo, el hígado oxida de manera parcial a los ácidos grasos en moléculas pequeñas llamadas cuerpos cetónicos, los cuales se liberan en sangre. El músculo, los riñones y otros tejidos obtienen la energía de la oxidación completa de los cuerpos cetónicos en el ciclo del ácido tricarbóxico.

Conforme el periodo de ayuno se prolonga, el hígado produce glucosa no solo por glucogenólisis (liberación de la glucosa del glucógeno), sino también por

un segundo proceso llamado gluconeogénesis (la síntesis de glucosa a partir de compuestos que no son carbohidratos). Las principales fuentes de carbono para la gluconeogénesis son lactato, glicerol y aminoácidos. Cuando los carbonos de los aminoácidos se convierten en glucosa en el hígado, su nitrógeno se transforma en urea.

Ya por último en condiciones de inanición, es decir cuando el ayuno se prolonga por un periodo mayor de tres días. El músculo no deja de consumir ácidos grasos, pero disminuye el uso de los cuerpos cetónicos, como resultado, la concentración de los cuerpos cetónicos se eleva en la sangre a un grado en el cual el cerebro necesita menos glucosa, por lo que el hígado reduce la velocidad de la gluconeogénesis, en consecuencia, se degrada menos proteína en el músculo y otros tejidos para suministrar los aminoácidos para la gluconeogénesis. El ahorro de proteínas preserva las funciones vitales tanto como sea posible. En virtud de estos cambios en los patrones de uso de combustible de varios tejidos, los seres humanos pueden sobrevivir por periodos largos sin ingerir alimento.

METODOLOGÍA

Para el desarrollo de la práctica se necesitan tres personas voluntarias por equipo, las cuales serán sometidas a:

Persona que efectúe ayuno prolongado:

1. Extraer una muestra de sangre 30 minutos después de haber ingerido el último alimento.
2. Mantener un periodo de ayuno de 10 horas como mínimo.
3. Recolectar la última micción durante el periodo de tiempo en el que se encuentre en ayuno la persona.
4. Extraer otra muestra de sangre al momento de cumplir el periodo de tiempo del ayuno requerido
5. Ante malestar físico se puede ingerir alimento y debe reportar el número de horas de ayuno.

Persona con actividad física:

1. Extraer una muestra de sangre a primera hora de la mañana.
2. Continuar su rutina y hábitos alimenticios de manera normal.
3. Previo a la sesión de laboratorio o durante la sesión de clases, debe efectuar ejercicio intenso por un lapso de tiempo de 30 minutos.
4. Una vez concluido el tiempo, se extrae una nueva muestra de sangre.

Persona sedentaria:

1. Extraer una muestra de sangre a primera hora de la mañana.
2. Continuar su rutina y hábitos alimenticios de manera normal.
3. Tomar nuevamente una muestra de sangre al ingresar a la sesión de laboratorio.

A las muestras recolectadas para cada persona:

1. Determinar la concentración de glucosa y colesterol total, de acuerdo a los insertos manejados en prácticas pasadas.

REPORTE

Explicar bioquímicamente de acuerdo a los resultados obtenidos los tres diferentes estados, especificando los ciclos metabólicos y los tejidos comprometidos implicados para cada caso.

Práctica No. 19

ESTUDIO DE CASOS CLÍNICOS

COMPETENCIA

Comprende mediante fundamentos bioquímicos adquiridos durante el curso los diferentes casos clínico.

PROCEDIMIENTO

1. Leer y analizar los siguientes casos clínicos y efectuar un análisis de los mismos.

CASO CLÍNICO 1

Un hombre de 38 años de edad con peso de 71 kg relata que su padecimiento actual se inició con anorexia, dolor abdominal y diarrea. Un día después siguió con náusea intensa, vómito y diarrea muy abundante y líquida. Ingresando al hospital con hipotensión postural y deshidratación. Mediante estudios de laboratorios se pudo aislar *Vibrio cholerae*. El paciente mejoró rápidamente al reponerle agua, electrolitos y administrarle tetraciclina por vía oral.

1. ¿Qué procesos de la membrana resultan afectados por *Vibrio cholerae* en un caso de cólera?
2. ¿Cuáles valores de laboratorio clínico podrían estar alterados en este paciente?
3. Enuncie cuales serían los datos de laboratorio que permitirían precisar el tratamiento hidroelectrolítico
4. Describa los signos de deshidratación
6. ¿Cuál fue la situación ácido-base del paciente al momento de su ingreso al hospital?

CASO CLÍNICO 2

Se recibe un aviso en urgencias para atender a un sufrido estudiante de primer semestre de la carrera de Medicina en estado mental alterado. Es un paciente masculino de 19 años, foráneo.

Su compañero refiere haberlo encontrado en ese estado por lo que decide trasladar a un hospital de la zona.

El paciente está consciente, pero desorientado, por lo que se le coloca una máscara de oxígeno, la enfermera le toma los signos vitales y se le acopla un monitor

cardíaco. Su compañero de habitación informa a los médicos de que el paciente es diabético tipo I, y que por falta de tiempo omitió la dosis de insulina; el estudiante ha estado sometido a mucho estrés. Durante las últimas horas, se ha quejado de dolor abdominal difuso, sed y náuseas.

El examen físico no revela trauma visible, la temperatura corporal es normal, la piel está seca, presenta incontinencia urinaria, taquicardia, aumento de la respiración en frecuencia y profundidad, y nivel de glucosa en sangre de 500 mg/dL., cuerpos cetónicos en orina +++

Con datos de sangre arterial: pH = 7.24

pCO₂ = 24 mmHg

[HCO₃⁻] = 11.5 meq/L

1. Describa bioquímicamente las manifestaciones fisiológicas del paciente.

CASO CLÍNICO 3

Paciente masculino de 40 años de edad, acude a servicio de urgencias, que presenta, posterior a esfuerzo físico, dolor torácico retro esternal, opresivo, que se irradia a la mandíbula y a nivel cervical, acompañado de disnea de esfuerzo, con duración aproximada de 10 minutos y que cedió con el reposo.

Antecedentes familiares: Padre de 67 años de edad, diagnosticado con hipertensión arterial desde los 60 años de edad, en tratamiento médico a base de *enalapril* (tabletas 10 mg una cada 12 horas) y con el antecedente de un infarto al miocardio hace dos años aproximadamente. Madre de 60 años de edad, con diagnóstico de *diabetes mellitus*, diagnosticada a la edad de 56 años, actualmente en tratamiento dietético y farmacológico, no especificado.

Antecedentes personales patológicos: Tabaquismo positivo a razón de 10 cigarrillos al día desde hace aproximadamente 8 años, alcoholismo una vez al mes sin llegar a la embriaguez y sedentarismo. Antecedentes alérgicos, quirúrgicos, transfusionales y traumáticos interrogados y negados. Refiere diagnóstico de hipercolesterolemia desde los 30 años, con persistencia pese a tratamiento.

SIGNOS VITALES Y SOMATOMETRÍA

Temperatura: 36.2° C

Frecuencia cardíaca: 110

Presión arterial: 140/90 mm/Hg

Peso: 98 kg
Talla: 165 cm
IMC: 36 Kg/m²

A la exploración física se encuentra paciente activo, consciente, orientado, endomorfo, con deterioro del estado general, presencia de arco corneal bilateral, cuello sin datos patológicos, pulso carotideo presente, sin presencia de soplos. Aparato cardiovascular sin alteración aparente. Ruidos cardiacos rítmicos, de buena intensidad. Abdomen blando, depresible, no doloroso, timpánico a la percusión, peristalsis normoactiva. El paciente presenta afecciones cutáneas compatibles con xantomas en tendón extensor de mano derecha y en tendón aquileo de pie derecho. Pulsos arteriales de ambas extremidades sin alteraciones. Resto sin datos que comentar.

EXÁMENES DE LABORATORIO

Hemoglobina: 14 g/dL Hematocrito: 40% Leucocitos: 6500/mm³
Plaquetas: 400,000 /mm³ Glucosa: 90 mg/dL Colesterol total: 460 mg/dL
Triglicéridos: 114 mg/dl Colesterol LDL: 250 mg/dl
Pruebas de función hepática y renales normales.
EKG: Sin alteración aparente

1. Relacione los datos que le resultan importantes para integrar su diagnóstico.
2. ¿Cuáles son los factores de riesgo que encuentra en este paciente para un infarto agudo al miocardio?
3. Enuncie los estudios de laboratorio específicos para el diagnóstico de un infarto
4. Describa las causas bioquímicas de las manifestaciones fisiológicas del paciente.

CASO CLÍNICO 4

Varón de 41 años de edad, con antecedentes personales de tabaquismo, obesidad clase II, hipertensión arterial, cardiopatía isquémica y diabetes tipo 2 diagnosticada hace siete años, con afectación de órganos diana por retinopatía y nefropatía diabética, con insuficiencia renal crónica estadio 3.

Se derivó por primera vez a consulta, presentando un peso de 102 Kg, en sus exámenes de laboratorio destacan la HbA1c con un valor de 8.8%. Se inicia tratamiento con insulina e hipoglucemiantes orales, además de prescribir dieta y

ejercicio diario. En la siguiente evaluación el paciente observa pérdida de 5 Kg de peso, las necesidades de insulina descendieron de forma importante, lo que permitió remitir de nuevo al paciente para seguimiento con su médico de familiar, con un tratamiento únicamente de hipoglucemiantes orales.

Tiempo después, reingresa por mal control metabólico y vómitos persistentes tras la última modificación del tratamiento, su valor de HbA1c es de 13.5%, además de deterioro de la función renal con creatinina actual de 2.1 mg/dL y ascenso de albuminuria a 100 mg/g. A la exploración destaca talla 172 cm, peso 118 Kg, IMC 39.9 Kg/m². Se propone inicio de dieta *Very Low Calorie Diet* además de realizar ejercicio físico.

1. Indique cuál es la función de la insulina en el tratamiento del paciente.
2. Describa cómo influye bioquímicamente la actividad física y la alimentación como factores importantes en la recuperación del paciente.
3. Analice las causas bioquímicas de las manifestaciones fisiológicas del paciente.

LISTA DE REFERENCIAS

- Altamirano R., Hernández M., Escalera E., Rodríguez J. (2013). *Manual de prácticas de laboratorio de bioquímica*. Ciudad de México, Campus FES Zaragoza: UNAM.
- Lara, C., Torres, J. (2012). ‘Determinación de fósforo en bebidas de cola por Espectrofotometría UV- Vis. 2012’, de Universidad Autónoma de Yucatán Sitio web:
http://sel.quimica.uady.mx/courses/LMILABORATORIODEM/document/Reporte_practica_1/EQ1-PR1.pdf?cidReq=LMILABORATORIODEM
- NORMA Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, *Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos* (modifica a la NOM-003-SSA2-1993, publicada el 18 de julio de 1994).
- Castaño, M., Díaz, J. and Paredes, F. (2008). *Bioquímica clínica*. 1st ed. Madrid: Ergon.
- Flores, N., Alcazar, A. and Benítez, P. (2016). *Manual de prácticas de bioquímica*. 5th ed. México, D.F.: Manual Moderno.
- Lieberman, M., Marks, A., Marks, D., Peet, A., Chansky, M., Alday, A., León Jiménez, R., Sánchez Frago, F. and Juárez Oropeza, M. (2013). *Marks Bioquímica médica básica*. 4th ed. Barcelona (España) ; Filadelfia (Pensilvania, Estados Unidos): Wolter Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins.
- López, A. (2000). *Bioquímica y biología molecular: manual de prácticas*. Ciudad de México: Mg Graw Hill Interamericana UNAM.
- Perez-Campos, E., Zenteno, E., Majluf, A., Perez, E. and Perez-Campos Mayoral, L. (2016). *Diagnóstico biomédico: Laboratorio clínico, pruebas diagnósticas y su interpretación clínica*. 1st ed. Ciudad de Mexico: Trillas.
- Rodríguez, P., Pérez, R., Morales, M., Martínez, R., Oliva, S. (2008). *Manual de prácticas del Laboratorio de Bioquímica farmacéutica*. UPIBI-IPN
- Rodwell, V., Bender, D., Botham, K., Kennelly, P. and Weil, P. (2016). *Harper Bioquímica ilustrada*. 30th ed. México: Mcgraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V.
- Ruiz, G. and Ruiz, A. (2017). *Fundamentos de interpretación clínica de los exámenes de laboratorio*. 3rd ed. México: Editorial Médica Panamericana.
- Sánchez, S. (2014). *Manual de prácticas de laboratorio de bioquímica*. 3rd ed. México, D.F.: Mc Graw Hill Education.

