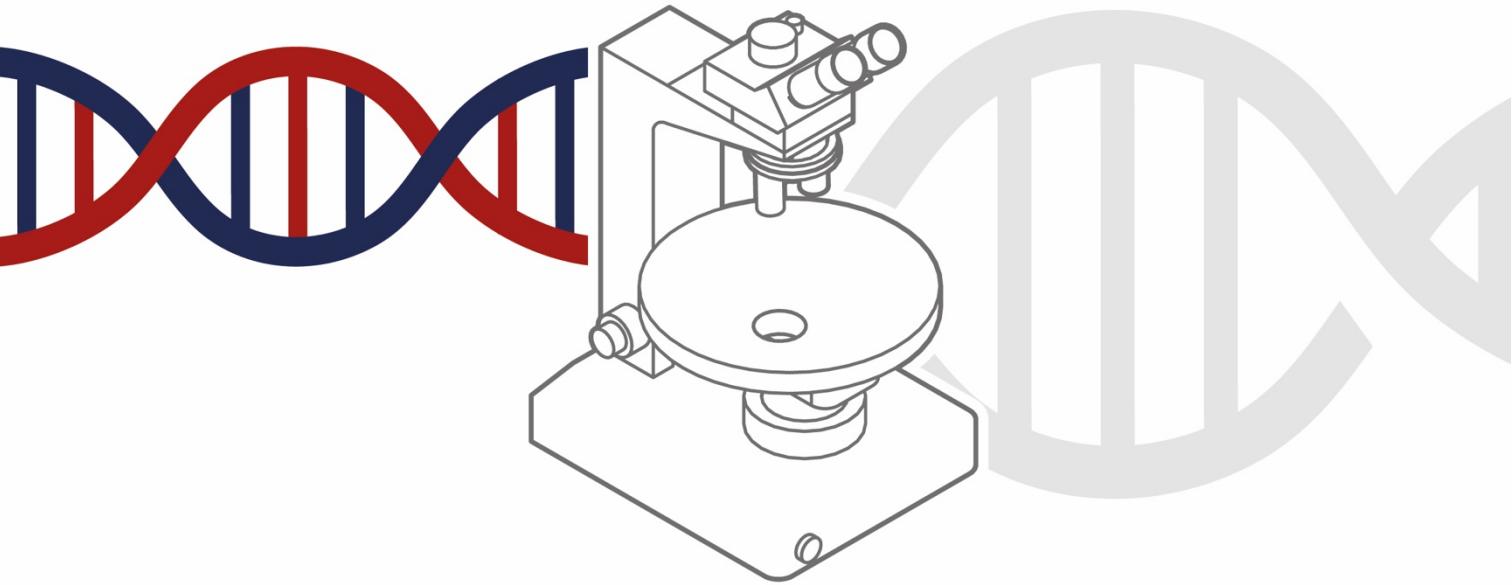


FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA DE MEDICINA

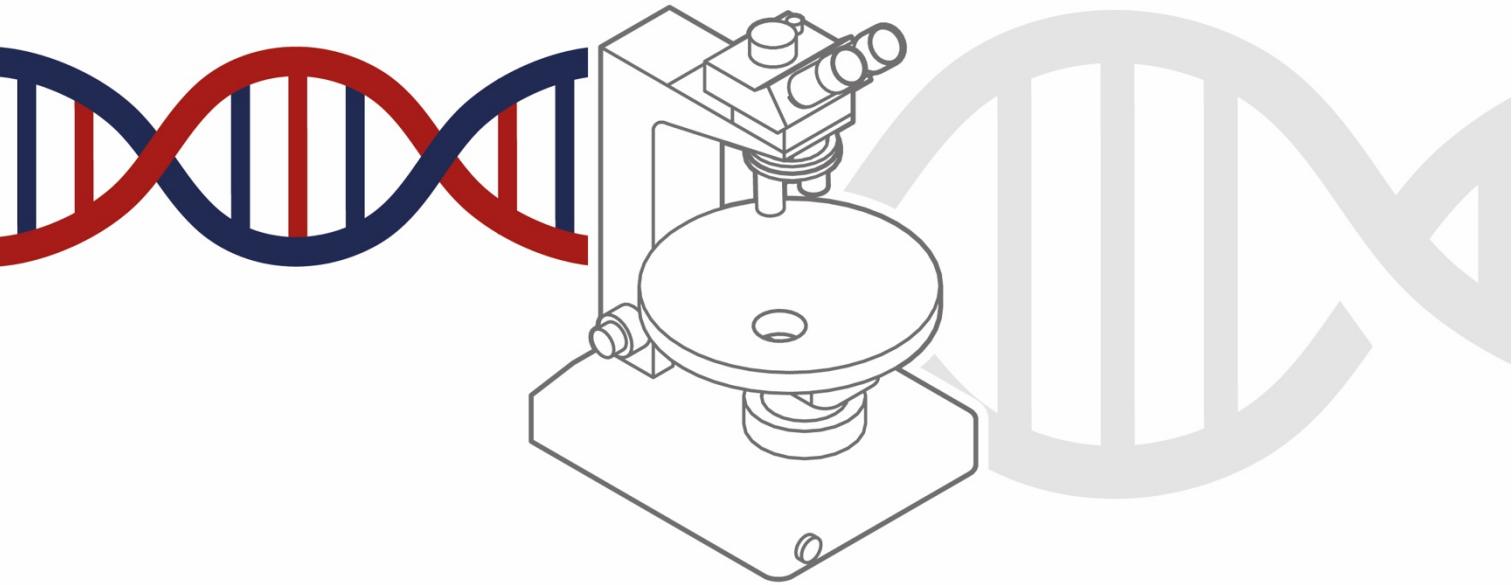
MANUAL DE PRÁCTICAS DE BIOLOGÍA



Clara Serrano Delgado
Denise Soliz Carrión
Saúl Méndez Cabrera
Paúl Condo Cabrera

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA DE MEDICINA

MANUAL DE PRÁCTICAS DE BIOLOGÍA



Clara Serrano Delgado
Denise Soliz Carrión
Saúl Méndez Cabrera
Paúl Condo Cabrera

UCUENCA
CIENCIAS MÉDICAS

© Universidad de Cuenca

Manual de Prácticas de Biología

2022, Dra. Serrano Delgado Clara Yamilet, Dra. Solíz Carrión Ana Denise, Md. Méndez Cabrera Saúl Fabricio, Md. Condo Cabrera Diego Paúl.

Derecho de autor: **CUE-004568**

ISBN Impreso: 978-9978-14-487-9

ISBN Digital: 978-9978-14-488-6

Primera edición

Diagramación: Dra. Serrano Delgado Clara Yamilet, Dra. Solíz Carrión Ana Denise, Md. Méndez Cabrera Saúl Fabricio, Md. Condo Cabrera Diego Paúl.

UCuenca Press

Ciudadela Universitaria
12 de Abril y Agustín Cueva
(+ 593 7) 405 1000
Casilla postal 01.01.168
www.ucuenca.edu.ec

Tiraje: 50

Año 2022
Cuenca - Ecuador

Revisado por pares académicos

Todos los derechos reservados

Prohibida la reproducción total o parcial del material de esta publicación, no se permite su traducción, ni la incorporación a un sistema informático, ni la locación, ni la transmisión por cualquier medio o forma (conocido o por conocerse), salvo las limitaciones y excepciones contempladas en la Ley, sin permiso previo y escrito de los titulares del *copyright*. La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas expuestos en esta publicación, es exclusiva de los autores.

Prólogo

El Manual de Prácticas de Biología extrapola los conceptos fundamentales existentes en la asignatura hacia la práctica, de forma interesante y legible, para que los estudiantes de primer año de la carrera de Medicina puedan adquirir y reforzar varios conocimientos, realizando un abordaje experimental.

La información disponible sobre biología celular y molecular, y sobre la medicina en general, se amplía y renueva constantemente, por lo que esta obra recoge varios de los avances realizados en los últimos años permitiendo así que los estudiantes cuenten con una herramienta a la vanguardia.

Las ilustraciones y las tablas fueron elaboradas/obtenidas por los autores, con el objetivo de brindar al lector la oportunidad de comprender de manera concisa y esquemática aquella información esencial, para desarrollar las actividades prácticas con una base teórica accesible y estandarizada.

A través de los años de colaboración con los estudiantes y docentes hemos comprendido que la dinámica informativa de los libros influye enormemente en el aprendizaje, por ello nos hemos esforzado para que la presentación del manual sea equilibrada con respecto al contenido de nuestro tema primario, además de que cuenta con tareas y actividades que darán paso a una retroalimentación oportuna.

Los autores.

Índice de Contenidos

1. Seminario: Bioseguridad en el laboratorio	1
2. Práctica: El microscopio: estructura y manejo.....	9
3. Práctica: Técnicas de observación en microscopía.....	18
4. Práctica: Células humanas: eritrocitos.....	27
5. Práctica: Células humanas: leucocitos y plaquetas.....	39
6. Práctica: Extracción del ADN y corpúsculo de Barr	49
7. Práctica: Cromosomas y cariotipo.....	57
8. Práctica: Mitosis.....	66
9. Práctica: Gametos humanos y fecundación	73
10. Seminario: Educación sexual y reproductiva.....	79
11. Práctica: Métodos anticonceptivos.....	85
12. Seminario: Bioética.....	102
13. Seminario: Alcoholismo y drogodependencia.....	111
14. Seminario: Alteraciones cromosómicas numéricas	120
15. Seminario: Alteraciones cromosómicas estructurales.....	130
16. Seminario: Mutaciones.....	142
17. Seminario: Clonación, células madre y reprogramación celular.....	151

1

Seminario

Bioseguridad en el laboratorio

JUSTIFICACIÓN

La práctica de la medicina y otras ciencias conlleva el contacto con muestras biológicas procedentes de seres vivos que tienen un riesgo predominantemente infectocontagioso, es decir, que pueden transmitir de persona a persona microorganismos por determinadas vías de contagio. El trabajo en los laboratorios relacionado con la salud requiere una habilidad y una destreza específica de comportamiento para que las actividades realizadas en ellos tengan un riesgo reducido al mínimo, velando por nuestra seguridad y la de los demás.

LOGROS DE APRENDIZAJE DE LA PRÁCTICA

- ☞ Aplica las normas de bioseguridad en el laboratorio.
- ☞ Conoce el manejo adecuado de muestras biológicas, sustancias químicas e instrumentos.
- ☞ Establece un código de prácticas para prevenir y evitar accidentes e infecciones.

Bioseguridad

La OMS define a la bioseguridad como el conjunto de principios de contención y prácticas implementadas para prevenir la exposición no intencional a patógenos y toxinas, o su liberación accidental (1).

Principios de bioseguridad

Universalidad: las normas de bioseguridad deben ser practicadas por todas las personas que ingresen a un laboratorio, sin excepciones (1).

Tabla 1. Niveles de bioseguridad.				
Grupo de riesgo	Nivel de bioseguridad	Tipo de laboratorio	Prácticas de laboratorio	Equipo de seguridad
1	Básico (Nivel 1)	De enseñanza, investigación.	Técnicas microbiológicas.	Ninguno, trabajo de banco abierto.
2	Básico (Nivel 2)	Servicios primarios de salud, servicios diagnósticos y de investigación.	Técnicas microbiológicas más ropa de protección, señales de riesgo biológico.	Trabajo de banco abierto más gabinete de seguridad.
3	De contención (nivel 3)	Servicio de diagnóstico especializado e investigación.	Igual que en el nivel 2 más ropa especial, acceso controlado, flujo de aire direccionado.	Gabinete de seguridad y/u otros dispositivos.
4	De máxima contención (nivel 4)	Unidades de patógenos especializados.	Igual que en el nivel 3 más entrada hermética, duchas, disposición de desechos.	Gabinete de seguridad clase III o trajes de presión positiva en conjunto con gabinete de seguridad clase II, autoclave, aire filtrado.

Tomado y modificado de (2,3).

Uso de barreras: tanto físicas, siendo éstas mandil, guantes, mascarilla, gafas (para evitar la exposición directa a muestras biológicas) como inmunológicas, entre las que cabe citar la inmunización activa (vacunas) frente a ciertos patógenos, según el nivel de bioseguridad (1).

Medios de eliminación de material contaminado: comprende el conjunto de procedimientos para el desecho de dicho material, el cual puede ser de dos tipos (1):

- Infectocontagiosos: muestras biológicas y sus contenedores, torundas, vendas, etc.
- Objetos cortopunzantes: jeringuillas con agujas, lancetas, hojas de bisturí, entre otras.

Evaluación de riesgos: en base al nivel de bioseguridad, se pueden prever los posibles riesgos en cada uno de ellos para instaurar medidas preventivas (1).

Niveles de bioseguridad

Las instalaciones de laboratorio se clasifican en niveles de bioseguridad en base a sus características de diseño, construcción, instalaciones de contención, equipamiento, prácticas y procedimientos operativos. La Tabla 1 relaciona a los grupos de riesgo, descritos posteriormente, con el nivel de bioseguridad de los laboratorios diseñados para funcionar con organismos en cada grupo de riesgo. Cabe recalcar que los laboratorios de biología de la Facultad de Ciencias Médicas, donde se llevarán a cabo las prácticas, tienen un nivel de bioseguridad 1 (1,3).

Los grupos de riesgo implican la capacidad infecciosa de los microorganismos con los que se puede tener contacto, teniendo así (1,3 –8):

- Grupo de riesgo 1 (bajo o ningún riesgo individual y comunitario): un microorganismo con poca probabilidad de causar enfermedades humanas o animales. Este grupo incluye microorganismos

como *Bacillus subtilis*, *Naegleria gruberi*, *S. cerevisiae*, y *E. coli*.

- Grupo de riesgo 2 (riesgo individual moderado, bajo riesgo comunitario): un patógeno que puede causar enfermedades humanas o animales, pero con poca probabilidad de que sea un peligro grave para trabajadores de laboratorio, la comunidad, la ganadería o el medio ambiente. Las exposiciones de laboratorio pueden causar una infección grave, pero existen tratamientos eficaces y medidas preventivas disponibles con un riesgo de propagación limitado. *Staphylococcus aureus* y *Salmonella*
- Grupo de riesgo 3 (alto riesgo individual, bajo riesgo comunitario): un patógeno que generalmente causa enfermedades graves en humanos o animales, pero que normalmente no se propaga. El tratamiento eficaz y las medidas preventivas están disponibles. *Mycobacterium* y *Chlamydia psittaci*.
- Grupo de riesgo 4 (alto riesgo individual y comunitario): un patógeno que generalmente causa enfermedades graves en humanos o animales y que puede ser fácilmente transmitido de un individuo a otro, directa o indirectamente. Las medidas de tratamiento eficaz y preventivo no suelen estar disponibles.

Equipo de protección individual

Para el nivel de bioseguridad 1, existe un equipo básico de protección para la prevención del contagio (3, 9).

- **Mandil:** debe ser usado en todo momento dentro del laboratorio, siempre cerrado, recordando que su uso en otras áreas facilita la propagación de microorganismos. Es recomendable guardarlo en una funda y lavarlo aisladamente del resto de ropa.
- **Guantes:** de látex o nitrilo, de manejo o estériles, debiendo ser usados en aquellos casos que requieran la manipulación de muestras biológicas y

- desechados una vez terminada la tarea.
- **Mascarilla:** en aquellos casos en los cuales los microorganismos con los que se trabajan sean capaces de propagarse por el aire.
 - **Gafas:** protegen del contagio a través de los ojos debido a salpicaduras.
 - **Gorros:** que cubra el cuero cabelludo y el cabello recogido.

Código de prácticas

Un código de prácticas es un conjunto de reglas escritas que explican el modo en que han de proceder las personas que ejercen una determinada profesión, en nuestro caso el comportamiento dentro del laboratorio (1,3):

- Colocarse las barreras de protección antes de ingresar al laboratorio. En caso de tener el cabello largo, este debe ser recogido. El uso de aquellas prendas que dejen expuestas áreas de piel (como faldas o zapatos abiertos) está contraindicado, ya que aumentan el riesgo de contaminación por contacto con sustancias.
- Lavarse las manos antes y una vez finalizado el trabajo en el laboratorio, así como antes y después de la obtención y/o manipulación de muestras biológicas y sustancias reactivas.
- Si existiesen entidades que afecten la integridad de la piel (como una excoiación), especialmente en las manos, es necesario cubrirlas para disminuir el riesgo de contagio.
- Los bolsos y las mochilas deben ser colocados en los espacios dedicados para ello. No se deben colocar sobre los mesones.
- Mantener el orden y la limpieza con las muestras y los materiales.
- Todas las muestras biológicas deben tener un recipiente debidamente rotulado con el tipo de muestra, fecha y hora de obtención, y un código de identificación que asegure la confidencialidad.

- Verificar que todos los recipientes que contengan reactivos químicos estén rotulados con el nombre de la sustancia y su fecha de caducidad. Es importante sostener los recipientes siempre de la base para evitar derramamientos.
- Está prohibida la realización de actividades que no tengan relación con el laboratorio (comer, beber, fumar, utilizar el celular, etc.).
- En caso de accidentes, se debe alertar inmediatamente al profesor o ayudante de cátedra.

Gestión de desechos peligrosos

Todos los desechos que se generan en el laboratorio o los establecimientos de salud (desechos infecciosos, químicos, radioactivos u otros) necesitan un manejo adecuado. Además de los objetos cortopunzantes y sustancias patológicas, los desperdicios infecciosos incluyen (1,3,7):

- Desechos microbiológicos: recipientes y medios de cultivo, etc.
- Torundas de algodón, vendas y parches contaminados con fluidos infecciosos.
- Sangre y hemoderivados, contenedores, tubos de sangre y jeringas usadas para su extracción.

Recolección

Los desechos deben recolectarse en contenedores que reduzcan el riesgo de exposición. Deben estar marcados con el símbolo internacional de riesgo biológico y no llenarse a su máxima capacidad. Todos los desechos con riesgo biológico, a excepción de los cortopunzantes, deben ser colocados en el recipiente de color rojo. Los desechos no infecciosos y no peligrosos pueden eliminarse con la basura normal (tacho negro o azul) según sea el caso. En el caso de los cortopunzantes, deben ser depositados en un contenedor rígido, resistente a la perforación-llamado "guardián" (1,3). En la Tabla 2 se describen los tipos de desechos.

Tabla 2. Tipos de desechos.		
Tipo de desecho	Definición	Ejemplos
Desechos cortopunzantes	Objetos punzantes usados y sin usar.	Jeringas Trozos de vidrio Agujas hipodérmicas, intravenosas u otras Equipos de venoclisis Pipetas Bisturíes Lancetas
Desechos infecciosos	Desechos con baja sospecha de contener patógenos.	Excrementos Cultivos de laboratorio Materiales o equipos que han estado en contacto con pacientes infectados. Desechos contaminados con sangre y otros fluidos corporales. Desechos provenientes de salas de aislamiento.
Desechos patológicos	Desechos patológicos.	Partes anatómicas y fetos Tejidos, órganos y fluidos humanos
Desechos farmacéuticos; entre ellos, desechos citotóxicos.	Medicamentos o productos farmacéuticos vencidos o que ya no son necesarios.	Desechos citotóxicos que contienen sustancias con propiedades genotóxicas. Por ejemplo, sustancias que contienen desechos citotóxicos (de uso frecuente en terapias oncológicas). Artículos contaminados con o que contienen farmacéuticos.
Desechos químicos	Desechos que contienen sustancias químicas	Termómetros rotos y tensiómetros de mercurio. Desinfectantes vencidos o que ya no se necesitan. Reactivos de laboratorio Contenedores presurizados Solventes Desechos con altos contenidos de metales pesados. Por ejemplo, baterías.
Desechos radioactivos	Desechos que contienen sustancias radioactivas.	Vidrios contaminados, envases o papel absorbente. Líquidos sin uso provenientes de los departamentos de radioterapia o laboratorios de investigación. Orina y excrementos de pacientes tratados con sustancias de contraste.
Desechos generales no riesgosos	Desechos que no representan un riesgo desde el punto de vista biológico, químico, radioactivo o físico.	

Tomado y modificado de (3).



Ilustración 1. Señalética de riesgos en laboratorios. Fuente: los autores.

Pictogramas de seguridad

Un pictograma es una imagen adosada a una etiqueta que incluye un símbolo de advertencia y colores específicos con el fin de transmitir información sobre el daño que una determinada sustancia o mezcla puede provocar a la salud o al medio ambiente (4,10). La Ilustración 1 recoge algunos ejemplos de los pictogramas usados en laboratorios.

Lavado de manos

El lavado de manos con agua y jabón (en algunas ocasiones acompañado de sustancias antisépticas como la clorhexidina) es uno de los procedimientos más importantes para descontaminarlas, siendo considerada la medida universal más efectiva y económica para prevenir la transmisión de enfermedades (1). La Organización Mundial de la Salud (OMS) describe once pasos para un adecuado lavado de manos, con una duración entre 40 y 60 segundos:

1. Mojar las manos con agua.
2. Depositar en la palma de la mano una cantidad de jabón suficiente para cubrir todas las superficies de las manos.
3. Frotar las palmas de las manos entre sí.
4. Frotar la palma de la mano derecha contra el dorso de la mano izquierda entrelazando los dedos y

viceversa.

5. Frotar las palmas de las manos entre sí, con los dedos entrelazados.
6. Frotar el dorso de los dedos de una mano con la palma de la mano opuesta, agarrándose los dedos.
7. Frotar con un movimiento de rotación el pulgar izquierdo, atrapándolo con la palma de la mano derecha y viceversa.
8. Frotar la punta de los dedos de la mano derecha contra la palma de la mano izquierda, haciendo un movimiento de rotación y viceversa.
9. Enjuagar las manos con agua.
10. Secar las manos con una toalla desechable.
11. Servirse de la toalla para cerrar el grifo (11).

APLICACIONES CLÍNICAS

Todos los principios anteriormente indicados no solamente tienen aplicación en el laboratorio, son la base para los profesionales de la salud para mantener su seguridad y la de los pacientes en las distintas casas de salud, sin importar su nivel de complejidad. Por ello, es importante recordarlas y aplicarlas en todo momento.

- Medidas de protección para procedimientos varios: curaciones de heridas, suturas, colocación de sondas, colocación de yesos, colocación de implantes subdérmicos, extracción de suturas, etc.
- Medidas de protección en quirófano, para mantener la esterilidad de los campos y del instrumental quirúrgico.

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE



PREGUNTAS DE EVALUACIÓN

- 1.- Realice un cuadro comparativo con gráficos de los laboratorios en base a su nivel de bioseguridad.
- 2.- ¿Qué microorganismos son estudiados en los laboratorios con nivel de bioseguridad 4?
- 3.- En caso de derrame de líquidos corrosivos sobre la piel, ¿cómo se debería proceder?
- 4.- Investigue de qué depende la capacidad infecciosa de los microorganismos.
- 5.- Para la toma de muestras biológicas, ¿cuándo está indicado usar guantes de manejo y cuándo guantes estériles?
- 6.- ¿Cómo se eliminan los desechos hospitalarios en la ciudad de Cuenca?

Referencias Bibliográficas

1. World Health Organization. Laboratory biosafety manual. 3rd ed. Geneva: World Health Organization; 2004. 178 p
2. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition | CDC Laboratory Portal | CDC [Internet]. 2018 [citado 3 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>
3. CDC LC Quick Learn: Recognize the four Biosafety Levels [Internet]. [citado 3 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/training/QuickLearns/biosafet y/>
4. Ta L, Gosa L, Nathanson DA. Biosafety and Biohazards: Understanding Biosafety Levels and Meeting Safety Requirements of a Biobank. En: Yong WH, editor. Biobanking [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2019 [citado 27 de noviembre de 2021]. p. 213-25. (Methods in Molecular Biology; vol. 1897). Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-8935-5_19
5. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, editores. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Eighth edition. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2015. 2 p.
6. Fisher RG, Boyce TG, Correa AG. Moffet, infectología pediátrica: enfoque orientado a problemas. L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona: Wolters Kluwer; 2017.
7. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology. 7th Edition. Philadelphia: Elsevier/Saunders; 2013. 874 p.
8. Jawetz, Melnick, Adelberg. Microbiología médica. México D.F.: McGrawHill; 2014.
9. Soliz D, Jerves T, Encalada V, Guerrero A, Chacón K. Manual de Prácticas de Biología. 1.ª ed. Cuenca, Ecuador: Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Médicas; 2011.
10. European Chemicals Agency: Pictogramas CPL [Internet]. Finlandia: Helsinki; 2021. [Citado 27 de noviembre de 2021]. Recuperado de: <https://echa.europa.eu/es/regulations/clp/clp-pictograms>
11. Organización Mundial de la Salud. Manual técnico de referencia para la higiene de manos. 2009. [Citado 03 de diciembre de 2021]. Recuperado de: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/102537/WHO_IER_PSP_2009.02_spa.pdf

2 Práctica

El microscopio: estructura y manejo

Materiales

- ✂ Papel cuadriculado
- ✂ Microscopio óptico compuesto
- ✂ Aceite de inmersión
- ✂ Portaobjetos
- ✂ Cubreobjetos

Muestras Biológicas

- ✂ Cabellos
- ✂ Insectos muertos
- ✂ 2 placas preparadas de cualquier tejido

JUSTIFICACIÓN

El estudio de la biología requiere la utilización de tecnología especial que permita el reconocimiento, análisis y diferenciación de estructuras en los niveles celular y subcelular. A lo largo de la historia, el desarrollo y evolución del microscopio ha permitido generar conocimientos útiles para la medicina, gracias a ingentes descubrimientos que permitieron llevar la observación de los procesos de salud y enfermedad desde un nivel orgánico, hacia los niveles tisular, celular y molecular. El microscopio ha sido un gran aliado para la ciencia, una herramienta fundamental en el estudio de la estructura y comportamiento, no solo de la célula humana, sino también de la célula animal, vegetal, así como microorganismos unicelulares y virus. Al ser la medicina un compendio de diversas ciencias eminentemente prácticas, la adquisición de destrezas para el correcto manejo del microscopio es una pieza clave en la formación académica, brindándole al estudiante bases sólidas para el abordaje de las ciencias básicas.

LOGROS DEL APRENDIZAJE DE LA PRÁCTICA

- 🔗 Comprende los conceptos generales de microscopía.
- 🔗 Conoce los tipos de microscopios y su utilidad.
- 🔗 Identifica la estructura y funcionamiento del microscopio.
- 🔗 Utiliza correctamente el microscopio óptico compuesto.

El microscopio

El microscopio es un instrumento que permite la visualización de una imagen aumentando su tamaño (1,2). Su nombre proviene de los vocablos griegos *mikrós*, que significa pequeño, y *skopéo*, que significa observar.

Historia del microscopio

Desde la antigüedad clásica grecorromana los seres humanos han empleado lentes de cristal con el objetivo de amplificar las imágenes para estudiarlas a detalle, constituyéndose la lupa, una lente convexa, en el primer microscopio conocido (microscopio óptico simple). No fue sino hasta finales del siglo XVI que el desarrollo de los microscopios inicia una revolución en la ciencia (1,3):

- En 1590, los neerlandeses Hans y Zacharias Janssen crearon el primer microscopio óptico compuesto, una tecnología que superponía dos lentes convexas, mejorando la capacidad de amplificación (3).
- En los años siguientes el microscopio de Janssen es modificado por Cornelius Drebbel, René Descartes, Hans Lippershey y Galileo Galilei, empleando, estos últimos, el mismo sistema óptico para la invención del telescopio (3,4).
- En 1665, Robert Hooke publica su obra "Micrographia", un compendio de observaciones realizadas a través de un microscopio que él mismo creó, entre ellas, una estructura de corcho de la corteza de los árboles, a partir de la cual acuñó el término "célula" (2,3,5).
- En 1668, Anton van Leeuwenhoek, "el padre del microscopio", construyó un microscopio basado en el modelo de Hooke, permitiéndole estudiar y describir bacterias, espermatozoides, sangre, la circulación capilar, fibras musculares, etc. (1,3,5).

- A finales del siglo XIX, Giovanni Battista Amici, Carl Zeiss y Ernst Abbe desarrollaron la microscopía de inmersión, primero en agua y luego en aceite de cedro, consiguiendo de esta manera incrementar el poder de resolución (3,6).
- En 1938, Max Knoll y Ernst Ruska crearon el primer microscopio electrónico de transmisión, constituyéndose en uno de los mayores desarrollos del siglo XX, dando paso al desarrollo de una nueva ciencia, la biología molecular (3,7).
- En 1983, Gerd Binnig y Heinrich Rohrer inventaron el microscopio electrónico de efecto túnel, haciendo posible la identificación de la estructura atómica de la materia (3,7).

Principios de microscopía

Para entender la microscopía son necesarios algunos conceptos básicos, como los que a continuación se detallan:

Propiedades del microscopio: son cualidades que, junto a la correcta utilización de técnicas de observación, permiten el estudio de una muestra.

- Poder de amplificación: capacidad de observar los objetos aumentados de tamaño.
- Poder de resolución: capacidad de distinguir dos objetos separados por pequeñas distancias, es decir, la capacidad de discriminar entre dos puntos, permitiendo analizar una muestra a detalle. El límite de resolución del microscopio óptico es de 0,2 μm , a una distancia menor dos objetos se observan como uno solo (1,8).

Refracción de la luz: es el cambio de velocidad que experimenta la luz al pasar de un medio a otro. La velocidad de la luz a través del aire es de 300.000 Km/s, y al interponerse un medio transparente, sea líquido o

sólido, los rayos luminosos se desplazan más lentamente (1,9,10).

Índice de refracción: es el cociente entre la velocidad de la luz en el aire y su velocidad en otro medio. Cada sustancia transparente posee su propio índice de refracción, siendo el del aire de 1,000293 (9,10).

Reflexión: es el retorno de la luz por el mismo medio en que se propagaba, al llegar a la superficie de separación de dos sustancias distintas. Es decir, se refiere al fenómeno por el cual un rayo de luz que incide sobre una superficie es reflejado (1,9).

Difracción: fenómeno por el cual cuando la luz atraviesa un diafragma (lámina opaca con un orificio), el rayo se curva ligeramente, siendo este responsable de la distorsión de una imagen al ser observada a través de un agujero pequeño y del aumento máximo de los microscopios (1,9).

Sistema óptico: es un conjunto de superficies que separan medios de distintos índices de refracción (9).

Espectro electromagnético: consiste en todas las formas de radiación electromagnética, es decir, la distribución energética de todas las ondas electromagnéticas, con base en su longitud de onda (distancia entre dos crestas de la onda luminosa, expresada en nanómetros) o en su frecuencia (medida en Hertz), teniendo en cuenta que, a menor frecuencia es mayor la longitud de onda y menor la energía contenida. Este espectro puede ser dividido en subregiones, abarcando las de menor longitud de onda, como los rayos gamma y los rayos X; longitudes de onda media, correspondientes al espectro óptico (bandas infrarrojo, luz visible y ultravioleta); y regiones de mayor longitud de onda, que incluyen las radiofrecuencias (corriente continua, ondas de radio y microondas) (1,11,12).

La importancia de la longitud de onda en microscopía radica en que el poder de resolución es mayor cuanto menor es la longitud de onda, por ello, el microscopio electrónico, que emplea electrones, es 500 veces superior al óptico, que solamente utiliza la luz visible (1). Sin embargo, la longitud de onda no es el único determinante de la resolución del microscopio, ya que el contraste (la diferencia entre luz y oscuridad) también modifica esta propiedad. El límite de resolución se alcanza cuando el contraste entre dos puntos se vuelve lo suficientemente pequeño como para que ya no se puedan distinguir como dos puntos separados. Así, al aumentar el contraste se aumenta la resolución (13).

Tipos de microscopios

- Microscopio óptico simple: incluye una única lente biconvexa (2).
- Microscopio óptico compuesto: posee dos o más lentes convexas superpuestas (2,3).
- También existen otros como el microscopio de campo brillante, microscopio de campo oscuro, microscopio de contraste de fase, microscopio de fluorescencia, microscopio electrónico de transmisión, microscopio electrónico de barrido, microscopio de fuerza atómica (1,14–17).

Microscopio óptico compuesto

Es el microscopio más ampliamente utilizado en los campos de docencia, investigación y diagnóstico en atención primaria, debido a su disponibilidad, bajo costo y facilidad de manejo, disponiéndose, para el efecto, de una extensa gama de marcas y modelos, según las necesidades particulares del usuario.

El aumento total del microscopio se obtiene al multiplicar el aumento correspondiente a la lente ocular (10x) por el aumento del objetivo utilizado. Por ejemplo, al utilizar el objetivo de 10x se consigue un aumento total de 100x (5).

El microscopio óptico compuesto está constituido por una serie de elementos (Ilustración 2), los cuales pueden ser clasificados en dos categorías: ópticos y mecánicos.

Elementos ópticos del microscopio:

- Lentes oculares: comprende una lente ocular en la parte superior y una lente de campo en la parte inferior, dando un aumento de 10x (18).
- Lentes objetivos: están diseñados para generar una imagen limitada por difracción en un plano específico localizado a una distancia predeterminada. Se encuentran insertados en el revólver, en número de cuatro (4x, 10x, 40x y 100x). La lente de 100x es llamada objetivo de inmersión, ya que es necesaria la aplicación de aceite de inmersión para conseguir el enfoque de la muestra. En los lentes objetivos se detalla información como el fabricante, el aumento, el medio de inmersión, y la apertura numérica, la cual indica el ajuste que debe darse al condensador para conseguir un enfoque óptimo (1,25 para el lente de 100x; 0,65 para el lente de 40x; 0,25 para el lente de 10x; y 0,10 para el lente de 4x). Dependiendo del grado de corrección, los objetivos se clasifican en acromáticos, fluoratos y apocromáticos (18).
- Condensador: concentra la luz de la fuente en la muestra. Para ello es necesario ajustar el condensador con la numeración indicada en el lente objetivo utilizado, así, por ejemplo, al emplear el lente de 100x, a más de colocar el aceite de inmersión, es necesario ajustar el condensador a 1,25, tal como lo indica el objetivo de 100x (18).
- Fuente de luz: emite los rayos de luz que iluminan la muestra (18).

Elementos mecánicos del microscopio:

- Soporte: está constituido por un brazo y un pie,

su función es sostener tanto las partes ópticas como las mecánicas del microscopio (18).

- Tubo de observación u óptico: tiene un color negro mate en su interior, evitando la reflexión de la luz (18).
- Revólver: contiene los lentes objetivos. Al girar el revólver es posible cambiar el objetivo con el cual se desea observar (18).
- Platina: es una placa metálica de color negro, con un agujero central a través del cual corre la luz hacia la muestra. Sobre esta lámina se coloca el portaobjetos para su estudio, asegurándolo por medio de sujetadores, pinzas o portamuestras.
- Diafragma: posee funciones tanto mecánicas como ópticas. Regula el paso de la luz desde la fuente hasta el condensador (18).
- Correderas del eje X y del eje Y: permiten el movimiento del portaobjetos sobre la platina, a lo largo de los respectivos ejes (izquierda a derecha y de adelante atrás) (18).
- Tornillos macrométrico y micrométrico: permiten conseguir una exactitud en el enfoque, al realizar movimientos de ascenso y descenso de la platina. El tornillo macrométrico realiza movimientos amplios, mientras el micrométrico realiza movimientos sutiles para una mayor precisión (18).
- Escalas: indican las coordenadas en las cuales se ubica un detalle específico de la muestra en el portaobjetos (18).

Aceite de inmersión

Se debe utilizar cuando se desea observar con el objetivo de 100x. Corrige el índice de refracción del aire que altera la visibilidad debido a la diferencia con el índice de refracción del vidrio. El índice de refracción del aceite de inmersión es similar al del vidrio (1,5).

Coordenadas

Se utilizan las escalas para ubicar un campo determinado en el portaobjetos. Para ello, se considera tanto la abscisa, que se encuentra en el eje X, como la ordenada, en el eje Y. La nomenclatura varía mínimamente según la escala propia de cada microscopio, aunque de manera general comprende el objetivo seleccionado, seguido de las coordenadas escritas entre paréntesis y separadas por punto y coma. Ejemplo: 4x (122; 18) o 4x (120-10); (100-20).

Campo

Existe una analogía que nos permite localizar un lugar en el campo, si sobreponemos imaginariamente a la circunferencia del campo un reloj para ubicar el objeto deseado. Ejemplo: "La célula ubicada a las 11 horas".

Manejo del microscopio

1. Quitar la funda protectora, enchufar el microscopio y encenderlo.
2. Colocar el objetivo de menor aumento (4x) y adecuar el condensador a la medida indicada por la lente.
3. Colocar el portaobjetos con la muestra sobre la platina, sujetándolo con las pinzas.
4. Observar a través de las lentes oculares y de manera simultánea mover el tornillo macrométrico lentamente hasta conseguir el enfoque adecuado.
5. Estudiar la muestra de manera integral desplazándola con las correderas y elegir el sitio de interés, a ser observado con lentes de mayor aumento.
6. Cambiar los objetivos a mayor aumento de manera progresiva según la necesidad. Para

realizar correcciones del enfoque con estas lentes solo se requieren movimientos finos con el tornillo micrométrico. Nunca se debe utilizar el tornillo macrométrico con los objetivos de mayor aumento.

7. Cuando se usa el objetivo de 100x se debe tomar en cuenta que la lente toque la placa, una vez colocado el aceite de inmersión.
8. Una vez finalizada la observación, bajar completamente la platina y colocar el objetivo de menor aumento.
9. Retirar la muestra.
10. Apagar el microscopio.
11. Cubrir el microscopio con la funda protectora.

Mantenimiento del microscopio

- Antes de utilizar el microscopio, verificar que este se encuentre en óptimas condiciones, es decir, que sus piezas estén completas y funcionales.
- Nunca preparar la muestra en el portaobjetos sobre la platina.
- Siempre que se riegue un líquido en la platina limpiarla inmediatamente con una torunda con alcohol.
- En caso de utilizar el objetivo de 100x limpiarlo con papel óptico o papel filtro delgado (nunca emplear servilletas o papel higiénico, porque rayan la lente) pasando suavemente sobre la lente en una sola dirección para retirar el aceite de inmersión.
- Nunca arrastrar el microscopio. Para transportarlo se debe sujetar del brazo y la base.
- Nunca tocar con los dedos los lentes y sistemas de iluminación.

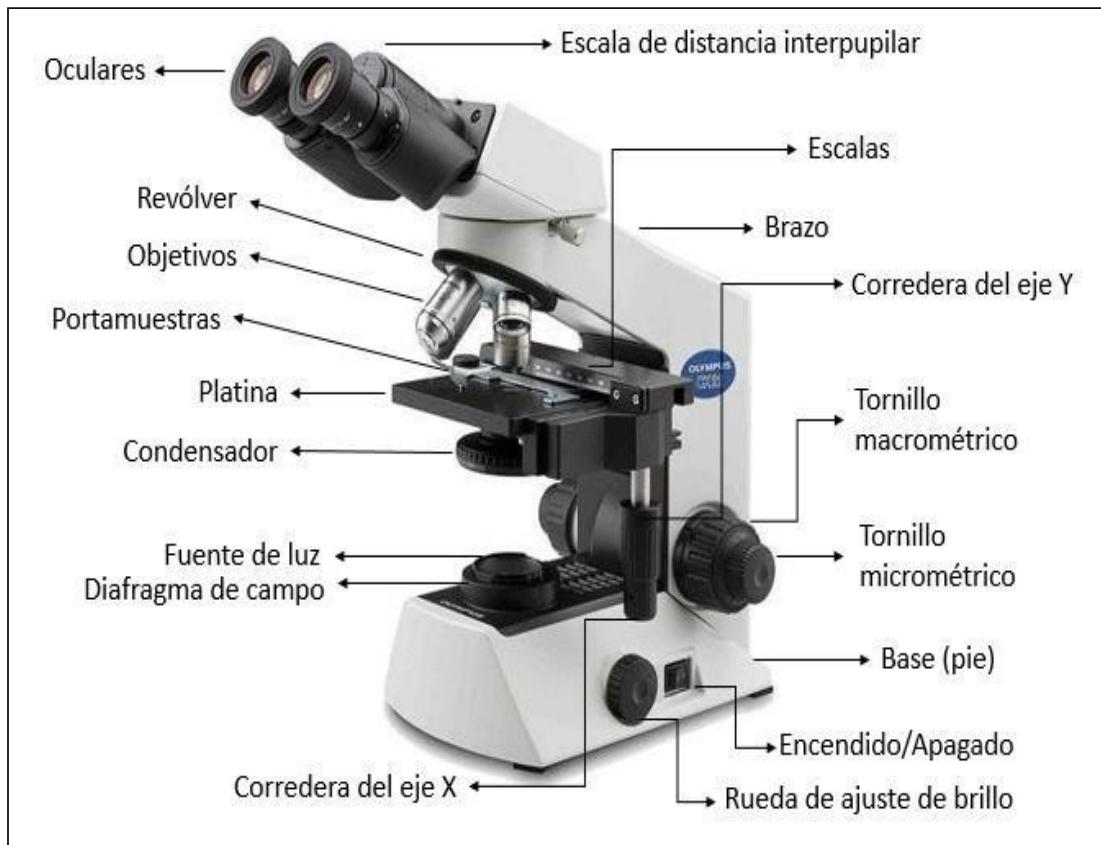


Ilustración 2. Partes del microscopio óptico compuesto. Tomado y modificado de (20).

APLICACIONES CLÍNICAS

En el campo de la salud, para realizar el diagnóstico de varias enfermedades es necesario el microscopio, el cual tiene asequibilidad y factibilidad incluso en los centros de salud. Como ejemplo de algunas entidades patológicas tenemos:

- **Microbiología:** estudia los virus, bacterias, hongos y protozoarios. Según el tamaño utiliza varios tipos de microscopios.
- **Patología estructural:** estudia las enfermedades, sus causas y los cambios que producen a nivel orgánico, histológico, celular y molecular.
- **Patología clínica:** estudia las enfermedades y tratamiento individual de los pacientes utilizando los métodos del laboratorio clínico.
- **Citogenética:** estudia los cromosomas de acuerdo a su número, tamaño y posición del centrómero.
- **Inmunología:** estudia el sistema inmunológico, las reacciones entre antígenos y anticuerpos.

PROCEDIMIENTOS

1.- Identificación de las partes del microscopio: con la ayuda del docente o ayudante de cátedra identificar cada una de las partes del microscopio óptico compuesto e indicar sus respectivas funciones.

2.- Observación: teniendo en cuenta todas las recomendaciones, enfocar y visualizar las siguientes muestras:

- Un cabello, con el objetivo de 10x.

- Insectos, con el objetivo de 40x.
- Un pedazo de papel cuadriculado en el que esté escrita cualquier palabra, con el objetivo de 4x.
- Una placa con una muestra cualquiera, con el objetivo de 100x.
- Dibujar los campos y anotar las coordenadas correspondientes.

PREGUNTAS DE EVALUACIÓN

- 1.- Realizar un esquema del espectro electromagnético.
- 2.- Con un gráfico explicar las diferencias entre amplificación y resolución.
- 3.- Investigar qué es la inmunohistoquímica y sus aplicaciones en la medicina.
- 4.- Detallar los pasos para el correcto manejo del lente de inmersión.
- 5.- Dibujar el campo y las coordenadas de las muestras observadas durante la práctica.
- 6.- Investigar que es la microscopía virtual.
- 7.- Investigar qué es una cirugía microscópica. Citar ejemplos de sus aplicaciones.
- 8.- Realizar una revisión bibliográfica y un resumen acerca del funcionamiento del microscopio electrónico

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE

Referencias Bibliográficas

1. Soliz D, Jerves T, Encalada V, Chacón K, Guerrero A. Manual de Prácticas de Biología. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas; 2011.
2. Karp G, Araiza Martínez ME. Biología celular y molecular conceptos y experimentos. 7 ed. México D.F. (México): Mc Graw Hill; 2014.
3. Sánchez Lera RM, Oliva García NR. Historia del microscopio y su repercusión en la Microbiología. Humanidades Médicas. agosto de 2015;15(2):355-72.
4. Murdin P, editor. Encyclopedia of astronomy and astrophysics. Bristol; Philadelphia: London ; New York: Institute of Physics Pub. ; Nature Pub. Group; 2001. 4 p.
5. Wollman AJM, Nudd R, Hedlund EG, Leake MC. From Animaculum to single molecules: 300 years of the light microscope. Open Biol [Internet]. 29 de abril de 2015 [citado 23 de febrero de 2019];5(4). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4422127/>
6. Uluç K, Kujoth GC, Başkaya MK. Operating microscopes: past, present, and future. Neurosurg Focus. 1 de septiembre de 2009;27(3):E4.
7. Chen X, Zheng B, Liu H. Optical and digital microscopic imaging techniques and applications in pathology. Anal Cell Pathol Amst. 2011;34(1-2):5.
8. Cooper GM, Hausman RE. The cell: a molecular approach. 6th ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates; 2013. 832 p.
9. Burbano de Ercilla S, Burbano García E, Gracia Muñoz C. Física general. 32. ed. Madrid: Ed. Tébar; 2003. 794 p.
10. Guyton AC, Hall JE. Guyton & Hall, tratado de fisiología médica. 13° ed. Barcelona: Elsevier España; 2016.
11. Sridharan K. Chapter 2 - Electronic Spectroscopy. En: Sridharan K, editor. Spectral Methods in Transition Metal Complexes [Internet]. Elsevier; 2016 [citado 28 de febrero de 2019]. p. 13-67. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128095911000025>
12. Norgard J. Chapter 1.1 - The Electromagnetic Spectrum. En: Williams EA, editor. National Association of Broadcasters Engineering Handbook (Tenth Edition) [Internet]. Boston: Focal Press; 2007 [citado 2 de marzo de 2019]. p. 3-10. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780240807515500084>
13. Wolf DE. Chapter 2 - The Optics of Microscope Image Formation. En: Sluder G, Wolf DE, editores. Methods in Cell Biology [Internet]. Academic Press; 2013 [citado 2 de marzo de 2019]. p. 11-42. (Digital Microscopy; vol. 114). Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124077614000026>
14. Murphy DB. Fundamentals of light microscopy and electronic imaging. New York: Wiley-Liss; 2001. 368 p.

15. Sanderson MJ, Smith I, Parker I, Bootman MD. Fluorescence Microscopy. Cold Spring Harb Protoc. 1 de octubre de 2014;2014(10):pdb.top071795.
16. Winey M, Meehl JB, O'Toole ET, Giddings TH. Conventional transmission electron microscopy. Mol Biol Cell. 1 de febrero de 2014;25(3):319-23.
17. Michael H. Ross WP. Histología: texto y atlas. Correlación con biología celular y molecular. 7° ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
18. Bass M, Mahajan VN, Optical Society of America, editores. Handbook of optics. 3rd ed. New York: McGraw-Hill; 2010. 1 p.
19. Eclipse Ni-U [Internet]. Nikon Instruments Inc. [citado 26 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.microscope.healthcare.nikon.com/products/upright-microscopes/eclipse-ni-u>
20. Olympus Microscopio CX 22 RFS1 microscope, with LED illumination [Internet]. [citado 26 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.astroshop.es/microscopio-para-aplicaciones-de-campo-claro/olympus-microscopio-cx-22-rfs1-microscope-with-led-illumination/p,26944>

3

Práctica

Técnicas de observación en microscopía

Materiales

- ✂ Servilletas
- ✂ Caja de fósforos
- ✂ Bajalenguas
- ✂ Hisopos
- ✂ Guantes de manejo
- ✂ Lancetas
- ✂ Torundas con alcohol
- ✂ Gasas
- ✂ Goteros
- ✂ Portaobjetos
- ✂ Cubreobjetos
- ✂ Lámpara de alcohol
- ✂ Microscopio óptico compuesto
- ✂ Aceite de inmersión

Muestras Biológicas

- ✂ Placas preparadas de: Papanicolaou (citología cervical), Gram, Ziehl Neelsen
- ✂ Insectos muertos
- ✂ Pétalos de geranio

Reactivos

- ✂ Azul de metileno
- ✂ cristal violeta, safranina
- ✂ Alcohol acetona
- ✂ Lugol

JUSTIFICACIÓN

El microscopio es un instrumento que nos permite observar objetos que no pueden ser percibidos por nuestra vista, amplificando la imagen y haciendo posible el reconocimiento de características estructurales propias de los mismos. Sin embargo, el microscopio por sí solo no es suficiente para constituirse en una herramienta de análisis, puesto que la mayor parte de muestras requieren de un tratamiento especial, con procedimientos y técnicas específicas, debido a las dificultades e impedimentos que suponen diversos factores como la densidad de la muestra, la falta de contraste del medio, entre otros.

LOGROS DEL APRENDIZAJE DE LA PRÁCTICA

- 🔗 Define y clasifica las técnicas de observación en microscopía.
- 🔗 Reconoce la importancia de la utilización de las técnicas de observación en microscopía.
- 🔗 Conoce los procedimientos de las diversas técnicas y su utilidad.
- 🔗 Lleva a cabo las técnicas básicas de observación en microscopía.
- 🔗 Observa placas realizadas con las diferentes técnicas.

Generalidades

Una técnica de observación es el conjunto de procedimientos aplicados a una muestra biológica o no, con la finalidad de prepararla y conferirle las condiciones óptimas para ser observada, examinada y analizada morfológicamente de la mejor forma posible a través del microscopio (1).

Es importante aclarar que, a diferencia del material didáctico disponible sobre la célula, en el cual se presenta cada uno de sus organelos con una coloración diferente, fácilmente identificable de los demás, esto no es una realidad. A excepción de las organelas, que por sus funciones contienen pigmentos, como los cromoplastos, las demás estructuras celulares son incoloras y carecen de contraste (2). De tal forma, sería imposible la observación y el análisis de las diversas estructuras celulares si no se procediera a la aplicación de las adecuadas técnicas de observación.

El objetivo de la preparación de muestras para microscopía óptica es permitir que las estructuras de los materiales se revelen con suficiente contraste, de modo que las características de interés sean grabadas, descritas, y caracterizadas en detalles visibles a una escala menor que la agudeza visual del ojo humano (3).

Para preparar muestras de calidad deben cumplirse dos criterios fundamentales (3):

- Proporcionar las condiciones suficientes para la estabilidad y protección de las muestras.
- Ajustar la muestra a los requisitos ópticos del sistema de imagen del microscopio.

Obtención de la muestra

Dependiendo de la muestra y el tipo de estudio requeridos, existen diversos procedimientos:

- **Tejidos y células vivas:** se vale de procedimientos como el cultivo de células y el cultivo de tejidos. Su finalidad es la observación con mínima modificación de las características vitales, evitando procedimientos como la fijación y la tinción (2).
- **Biopsia:** consiste en la toma de un fragmento de tejido u órgano vivo por incisión, punción o raspado, el cual puede ser sometido a modificaciones físicas y químicas que permitan su estudio microscópico. Un ejemplo lo constituyen las piezas quirúrgicas enviadas al laboratorio de anatomía patológica en el transoperatorio (2).
- **Necropsia:** las muestras se obtienen de cadáveres, para su posterior análisis con el objetivo general de determinar condiciones patológicas preexistentes o la causa de muerte (3).

Frotis

Consiste en extender una muestra (sangre, esputo, secreción vaginal, saliva, cultivos) sobre un portaobjetos, para separarla lo más posible y disminuir su densidad, permitiendo así, obtener una imagen clara y nítida (4,5). Posteriormente, según el tipo de muestra, el frotis debe ser sometido a las diferentes técnicas, sean estas de fijación o tinción para su correcta observación (6).

Procedimiento para realizar un frotis de sangre

1. Colocar una gota de sangre cerca de un extremo de un portaobjetos limpio.
2. Tomar otro portaobjetos y con uno de los extremos tocar la gota de la muestra, de manera que esta se extienda por todo lo ancho del portaobjetos.
3. Manteniendo el segundo portaobjetos en un ángulo de 45° con relación al primero,

desplazarlo a lo largo de toda la superficie para formar una película delgada. Este desplazamiento debe ser rápido, único y a una presión uniforme.

4. El frotis de sangre, sin la aplicación de ninguna otra técnica, permite la observación de eritrocitos (3,6).



Ilustración 3. Correcta realización de un frotis de sangre.
Fuente: los autores.

Técnicas de Observación

Entre las principales técnicas de observación encontramos: técnicas de observación en fresco, técnicas por fijación, técnicas por tinción, técnicas combinadas y técnicas especiales.

Técnicas de observación en fresco: son todos aquellos métodos de observación mediante los cuales los objetos a investigarse no sufren cambios o alteraciones en cuanto a su forma, estructura, composición química o sentido de vitalidad. Para ello, los objetos deberán ser observados tal como existen o máximo inmersos en un medio similar (soluciones fisiológicas). A pesar de sus limitaciones, permiten la observación y el estudio de protozoarios, eritrocitos, células descamadas y suspendidas en los

líquidos naturales, examen coprológico, cabellos, insectos, etc. (1).

Técnicas por fijación: la fijación es el primer paso en la preparación de muestras para microscopía y su objetivo es la conservación de la estructura (7). Tiene por finalidad preparar células, tejidos u órganos procedentes de seres en los que los procesos vitales se han detenido y es necesaria conservar intacta su estructura viva (1). Para ello, la fijación consigue (2,7):

- Abolir el metabolismo celular.
- Impedir la degradación enzimática de las células.
- Destruir microorganismos patógenos.
- Endurecer el tejido gracias a la formación de enlaces cruzados o de la desnaturalización de moléculas proteicas.
- Algunos fijadores mejoran la afinidad por el colorante.

La inmovilización o fijación de proteínas se consigue gracias a agentes químicos y físicos denominados fijadores. La técnica más sencilla es la mecánica o *squash*, mediante la cual se fijan las muestras ejerciendo presión con los dedos. La elección del fijador depende del propósito y la muestra que se desea tratar, como en los siguientes casos (7,8):

- Estudio de la cromatina y cromosomas: ácido acético.
- Diagnóstico histopatológico e inmunohistoquímica: formol.

Los principales métodos de fijación se describen en la Tabla 3.

Técnicas por tinción: consisten en la adquisición de color por una estructura celular o tisular bajo la acción específica de una sustancia denominada colorante.

Colorante: es toda sustancia capaz de transferir su color a otro cuerpo. Se considera que una estructura se ha

Tabla 3. Métodos de Fijación		
Físicos	Químicos	Mecánicos
Calor	Ácido Acético	Presión mecánica (squash)
Congelación	Xilol	
Deseccación	Formol	
	Lugol	
	Fijador de Cabello	

Elaborado por: los autores.

coloreado o teñido cuando al lavarse con el líquido que disuelve al colorante no se decolora. Los colorantes se clasifican, químicamente, como ácidos y básicos, según las teorías de la época clásica de la histología, cuyo fundamento radica en una unión colorante-tejido por medio de fuerzas electrostáticas (enlaces iónicos) (3):

- **Colorantes ácidos (aniónicos):** tienen una carga neta negativa en su parte coloreada, forman enlaces electrostáticos con grupos tisulares de carga positiva y reaccionan con los grupos catiónicos en las células y los tejidos, en particular, con los grupos amino ionizados de las proteínas. La afinidad de estos grupos catiónicos por un colorante ácido se denomina acidofilia. Los elementos acidófilos de la célula son los filamentos citoplasmáticos, sistemas de endomembranas, fibras extracelulares, etc. Generalmente, los colorantes ácidos son rojos, como la eosina o la safranina (1,7,8).
- **Colorantes básicos (catiónicos):** tienen una carga neta positiva en su parte coloreada, forman enlaces electrostáticos con grupos tisulares de carga negativa y reaccionan con los componentes aniónicos de las células y de los tejidos (componentes que tienen una carga neta negativa). Los componentes aniónicos incluyen los grupos fosfato de los ácidos nucleicos, los grupos sulfato de los glucosaminoglucanos y los

grupos carboxilo de las proteínas. La afinidad de estos grupos aniónicos por un colorante básico se denomina basofilia. Los elementos basófilos de la célula son la heterocromatina, los nucléolos, los carbohidratos de la matriz cartilaginosa, etc. Generalmente, los colorantes básicos son azules, como la hematoxilina, azul de metileno, azul de toluidina (1,7,8).

- **Colorantes Neutros:** son sales en las que tanto la parte ácida como la parte básica proporcionan color. Tienen la propiedad de teñir de manera simultánea los componentes nucleares y los citoplasmática, como el azul de Wright o el azul de Giemsa, etc. (1,9).
- **Colorantes indiferentes o hidrofóbicos:** no se unen a los tejidos por afinidad química sino porque se disuelven en ellos. Por ejemplo, el negro Sudán se disuelve en los lípidos y por tanto teñirá a las gotas de lípidos, especialmente en los adipocitos (7).

Clasificación de las tinciones

Según la cantidad de colorantes utilizados y los tiempos en que estos son incorporados, las tinciones se clasifican en (3):

- **Tinción simple:** utiliza un solo colorante para la tinción de la muestra. Ejemplo: tinción con azul de metileno.
- **Tinción combinada:** también llamada tinción compuesta. Consiste en la aplicación de varios colorantes a una muestra con objeto de destacar, mediante colores diferentes, estructuras específicas que forman parte de ella. A su vez, la tinción combinada puede ser:
 - Sucesiva: consiste en aplicar a la muestra colorantes con un orden preestablecido y sucesivo. Ejemplo: coloración de hematoxilina y eosina (H&E).

- Simultánea: cuando en una misma solución de coloración se mezclan varios colorantes. Ejemplo: tinción de Wright.

Técnicas Combinadas

A este grupo pertenecen la mayor parte de las técnicas utilizadas en microscopía, y resultan de la combinación de dos técnicas especialmente: fijación y tinción. Entre las principales encontramos: tinción de Gram, tinción de Ziehl Neelsen, tinción de Papanicolaou, hematoxilina y eosina, tinción de Wright, etc (3,8).

Tinción de Gram

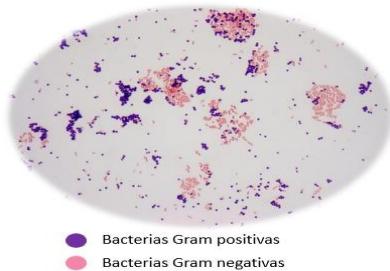


Ilustración 4. Tinción de Gram.

Fuente: los autores.

Sirve para identificar y clasificar las bacterias. En primer lugar, las células deben ser fijadas con calor sobre un portaobjetos; a continuación, se agrega el colorante cristal violeta, el cual tiñe por igual a todas las bacterias. El cristal violeta forma un complejo insoluble en agua, gracias a la adición de lugol, el cual actúa como mordiente. Posteriormente, se procede a decolorar la muestra con un complejo de alcohol-acetona, un solvente lipídico, dando como resultado la decoloración de las bacterias Gram negativas, pero no de las Gram positivas. Para evidenciar las bacterias Gram negativas se emplea un último colorante como contraste, por ejemplo, la safranina. Así, las bacterias

Gram positivas conservan un color azul violáceo, dado por el cristal violeta, mientras las Gram negativas se aprecian con una tinción rojiza. El fundamento de la tinción radica en la diferencia estructural de la pared bacteriana de bacterias Gram positivas y Gram negativas; mientras las primeras presentan una gruesa pared de peptidoglicanos (hasta cuarenta capas entrecruzadas), a más de ácidos teicoicos y teicurónicos, las segundas, las Gram negativas, presentan apenas una capa de peptidoglicanos. Así, las bacterias Gram positivas poseen la capacidad de retener el complejo cristal violeta-lugol, mientras las Gram negativas, debido a que poseen una única capa de peptidoglicano, son incapaces de retener el colorante una vez que su membrana externa (de lipopolisacáridos) ha sido disuelta por la acción del alcohol-acetona, perdiendo el cristal violeta, decolorándose y requiriendo un segundo colorante para poder ser reveladas (Ilustración 5) (10–12).

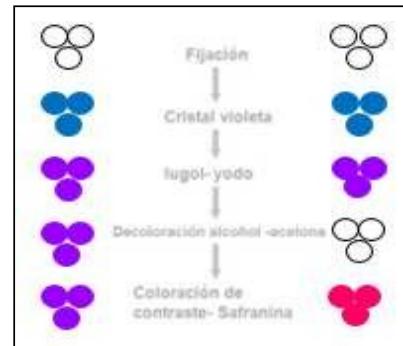


Ilustración 5. Realización de la tinción de Gram.

Elaborado por: los autores.

Tinción de Ziehl-Neelsen

Permite la identificación de bacilos ácido alcohol resistentes (*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*) y parásitos del género *Cryptosporidium*. Luego de fijada la muestra se agrega el primer colorante, la carbolfucsina, se aplica calor y se adiciona alcohol acetona para decolorar; finalmente

se añade azul de metileno, el cual crea contraste. Las bacterias ácido alcohol resistentes son aquellas que conservan el rojo de la carbofucsina a pesar de la decoloración con el ácido. La coloración diferencial se justifica por la estructura de la pared de dichas bacterias, constituida por peptidoglicanos y una membrana externa, la cual es rica en lípidos, ácidos micólicos (ceras) y arabinoglucanos. El calor aplicado permite la degradación del componente lipídico, posibilitando el ingreso del colorante y la consecuente tinción. Sin embargo, tras la aplicación de ácido alcohol los ácidos micólicos retienen el colorante, confiriendo resistencia a la decoloración (10–12).

Tinción de Papanicolaou

Es la técnica fundamental de citología. Consiste en la aplicación de una combinación de hematoxilina, naranja G y eosina azul. El examen de extendido (PAP-test) provee información diagnóstica valiosa acerca del epitelio que recubre el cérvix uterino, motivo por el cual ha sido ampliamente utilizado como prueba de tamizaje en ginecología, para la determinación y diagnóstico temprano de cáncer de cérvix, permitiendo, así, disminuir la incidencia de cáncer invasor y su mortalidad. Se define un examen patológico, sea este inflamatorio o neoplásico, cuando se presentan alteraciones en el núcleo, en el citoplasma o en la relación núcleo/citoplasma (1,7,13).

Técnicas Especiales

Inclusión: consiste en infiltrar la muestra con sustancias líquidas que, tras un proceso de polimerización o enfriamiento, se solidifican, sin afectar a las características del tejido. Con ello se consigue obtener cortes delgados sin que el tejido se rompa o se deteriore. Ejemplo: inclusión en parafina, recurriéndose en este caso a la utilización de equipos especiales como el micrótopo, el cual permite realizar cortes extremadamente finos con un espesor entre 0,1 y 100 μm . Su uso está ampliamente extendido en la anatomía patológica (3).

APLICACIONES CLÍNICAS

El microscopio óptico permite reconocer varias características de las lesiones celulares (como edema celular y cambio de grasa, necrosis, hipertrofia, hiperplasia, metaplasia, displasia) que se presentan en ciertas condiciones patológicas en base a su fisiopatología, permitiendo establecer o aclarar

- Diagnóstico etiológico de infecciones bacterianas.
- Diagnóstico de tuberculosis, a través del análisis del esputo.
- Diagnóstico anatomopatológico de neoplasias y patologías agudas y crónicas.
- Inmunohistoquímica: detección de proteínas específicas en tumores para su diagnóstico definitivo.
- Análisis microscópico del sedimento urinario.
- Citología cervicovaginal.

?

PROCEDIMIENTOS

1.- Observación en fresco.

- Muestra: patas de insectos.
 - Colocar las muestras sobre el portaobjetos.
 - Añadir una gota de suero fisiológico y homogenizar con un mondadientes en caso de ser necesario.
 - Colocar el cubreobjetos y observar con las lentes de 4x y 10x.

2.- Realizar un frotis de sangre.

3.- Fijación por presión mecánica (squash).

- Muestra: pétalos de geranio.
 - Colocar un pétalo en un portaobjetos.
 - Cubrir con una laminilla.
 - Envolver la placa en una servilleta y aplastar con el dedo pulgar por un lado y el índice por otro, durante un minuto.
 - Observar con 4x y 10x.

4.- Tinción simple con azul de metileno.

- Muestra: células epiteliales en descamación de la mucosa oral.
 - Con una gasa limpiar suavemente la zona del carrillo bucal de donde se obtendrá la muestra para eliminar posibles contaminantes.
 - Con ayuda de un bajalenguas presionar hacia abajo la lengua y raspar el carrillo con un hisopo ejerciendo presión.
 - Deslizar el hisopo o el bajalenguas con la muestra sobre un portaobjetos limpio y seco, así se obtendrá un frotis relativamente fino.
 - Fijar la muestra utilizando una lámpara de alcohol (realizar tres pasadas del portaobjetos sobre la mecha encendida de la lámpara).
 - Cubrir la muestra con azul de metileno, dejar actuar por 2-3 minutos, lavar con chorro fino de agua y esperar a que se seque.
 - Observar con los objetivos de 4x y 10x.

Otra forma de realizar esta tinción es: colocar una o dos gotas de azul de metileno sobre la muestra, sin que esta se haya secado; posteriormente, realizar la técnica de squash, presionando por 1 o 2 minutos y llevar al microscopio.

5.- Tinción de Gram.

- Muestra: placa dental.

- Con un hisopo frotar las paredes y superficie de los molares para obtener una muestra de la placa dental.
- Realizar un frotis relativamente fino y dejar secar al medio ambiente.
- Fijar en la llama de una lámpara de alcohol (cuatro pasadas lentas).
- Agregar al frotis cristal violeta y lugol. Dejar actuar por 1 minuto y lavar con un chorro fino de agua.
- Añadir alcohol acetona para decolorar. Dejar actuar por 30 segundos y lavar con chorro fino de agua.
- Agregar safranina, dejar actuar por 40 segundos y lavar con chorro fino de agua.
- Dejar secar y llevar al microscopio. Para observar bacterias enfocar con la lente de inmersión.

6.- Observar las placas de Papanicolaou con el objetivo de 100x

7.- Observar placas de esputo con tinción de Ziehl Neelsen con el objetivo de 100x e identificar bacilos de Koch

PREGUNTAS DE EVALUACIÓN

- 1.- Investigar qué son las células HeLa.
- 2.- Realizar una revisión bibliográfica y un resumen sobre el proceso de biopsia por congelación y su utilidad.
- 3.- Con respecto a las técnicas por tinción, investigar qué es un mordiente.
- 4.- Realizar un dibujo en el cual se expliquen las diferencias entre las paredes de bacterias Gram positivas y Gram negativas.

5.- Por medio de una revisión bibliográfica, enlistar los descubrimientos más relevantes en materia de biología molecular llevados a cabo gracias al desarrollo del microscopio electrónico en el siglo XX.

6.- Realizar un cuadro con ejemplos de bacterias Gram positivas, Gram negativas, microorganismos ácido alcohol resistentes y algunas patologías en que se encuentran implicados.

7.- Averiguar las indicaciones para la realización de una citología cervicovaginal.

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE



Referencias Bibliográficas

1. Soliz D, Jerves T, Encalada V, Chacón K, Guerrero A. Manual de Prácticas de Biología. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas; 2011.
2. Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. Texto-atlas de histología. México, D.F.: Interamericana; 1991.
3. Montuenga Badía L, Calvo González A, Esteban Ruiz FJ. Técnicas en histología y biología celular. Barcelona: Elsevier Masson; 2014.
4. ASALE R-. «Diccionario de la lengua española» - Edición del Tricentenario [Internet]. «Diccionario de la lengua española» - Edición del Tricentenario. [citado 6 de marzo de 2019]. Disponible en: <http://dle.rae.es/>
5. Real Academia Nacional de Medicina (Spain). Diccionario de términos médicos. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2012.
6. Blood smear technique for veterinarians [Internet]. [citado 31 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.agric.wa.gov.au/livestock-biosecurity/blood-smear-technique-veterinarians?nopaging=1>
7. Michael H. Ross WP. Histología: texto y atlas. Correlación con biología celular y molecular. 7ª ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
8. Geneser, Brüel A. Histología. 4 ed. México: Editorial Médica Panamericana; 2015.
9. Universidad de Vigo. Técnicas Hitológicas. 5-Tinción: Tinciones generales. Atlas de Histología Vegetal y Animal [Internet]. [citado 7 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/5-general.php>
10. Melnick JL, Jawetz E, Adelberg EA, Carroll KC. Jawetz, Melnick y Adelberg Microbiología médica. 27 ed. México: McGraw-Hill; 2016.
11. Bennett JE, Blaser MJ, Dolin R, Douglas RG, Mandell GL. Enfermedades infecciosas: principios y práctica. 8 ed. Amsterdam; Barcelona: Elsevier; 2015.
12. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology. 7th Edition. Philadelphia: Elsevier/Saunders; 2013. 874 p.
13. Hoffman BL, Schorge JO, Bradshaw KD, Halvorson LM, Schaffer JI, Corton MM. Williams gynecology. 2016.

4

Práctica

Células humanas: eritrocitos

Materiales

- ✂ Lancetas
- ✂ Tubo de ensayo
- ✂ Microscopio óptico compuesto
- ✂ Portaobjetos
- ✂ Cubreobjetos
- ✂ Guantes de manejo
- ✂ Torundas con alcohol
- ✂ Mondadientes

Muestras biológicas

- ✂ Sangre capilar

Reactivos

- ✂ Reactivos de tipificación sanguínea

JUSTIFICACIÓN

Los glóbulos rojos, hematíes o eritrocitos son transportadores de gases (oxígeno y dióxido de carbono) por excelencia, siendo además los principales responsables de la viscosidad de la sangre y los constituyentes del mayor porcentaje de sus elementos figurados, encontrándose un valor aproximado de 5 millones de eritrocitos en cada mm^3 de sangre.

Los glóbulos rojos carecen de núcleo y su tiempo de vida es breve, 120 días aproximadamente. En este mismo momento en nuestros cuerpos están muriendo glóbulos rojos a un ritmo de alrededor de 1,5 millones por segundo, pero son reemplazados simultáneamente en la médula ósea.

LOGROS DEL APRENDIZAJE DE LA PRÁCTICA

¶ Describe las principales características de los eritrocitos: morfología, fisiología y bioquímica.

¶ Conoce los distintos tipos de circulación sanguínea.

¶ Determina los fundamentos biológicos y la importancia clínica de los sistemas de tipificación sanguínea: ABO y Rh.

Origen de los Eritrocitos

Hematopoyesis

Es el proceso de formación de las células sanguíneas. Comprende tanto la eritropoyesis como la leucopoyesis y la trombopoyesis (Ilustración 6). La producción de eritrocitos, puede aumentar ante situaciones de estrés, por ejemplo, cuando la presión de oxígeno disminuye o cuando hay grandes pérdidas de sangre (1).

En la médula ósea se encuentran las células madre hematopoyéticas (*stem cells* o células troncales), mismas que presentan determinadas características que las hacen diferentes a cualquier otra célula: son multipotentes, es decir, conservan la capacidad de generar todos los linajes sanguíneos, diferenciándose hasta en 10 tipos celulares; poseen un potencial proliferativo elevado; presentan la capacidad de generar células madre nuevas idénticas a sus predecesoras (2-4).

La hematopoyesis comienza en el período embrionario, alrededor de la tercera semana, con la formación de islotes sanguíneos en la pared del saco vitelino, proveyendo únicamente glóbulos rojos primitivos o megaloblásticos con núcleo, escasos macrófagos y plaquetas (5).

Entre la cuarta semana y el séptimo mes la hematopoyesis tiene lugar en las vísceras, produciéndose principalmente en el hígado (mayor órgano hematopoyético fetal durante el segundo trimestre), aunque también en el bazo, timo y ganglios linfáticos. En este período comienza la leucopoyesis y los eritrocitos se caracterizan por ser anucleados (6).

A partir del cuarto mes comienza la hematopoyesis medular, la cual se mantiene hasta el momento del parto y a lo largo de la vida. A medida que el niño crece, la médula ósea roja, que durante la vida fetal y en los primeros años es hematopoyéticamente activa en su totalidad, es sustituida en las porciones periféricas del esqueleto por adipocitos, convirtiéndose en médula ósea amarilla no hematopoyética, disminuyendo así su capacidad inicial. Ya en la vida adulta, una vez completado el desarrollo físico, la médula hematopoyética queda localizada en los huesos del cráneo, vértebras, costillas, esternón e ilíacos y en los tercios proximales del húmero y fémur. Sin embargo, la médula ósea amarilla mantiene su potencialidad hematopoyética y, si es necesario, como ocurre después de una hemorragia grave, puede volver a convertirse en médula ósea roja, tanto por extensión del tejido hematopoyético hacia la médula amarilla como por repoblación con citoblastos (1).

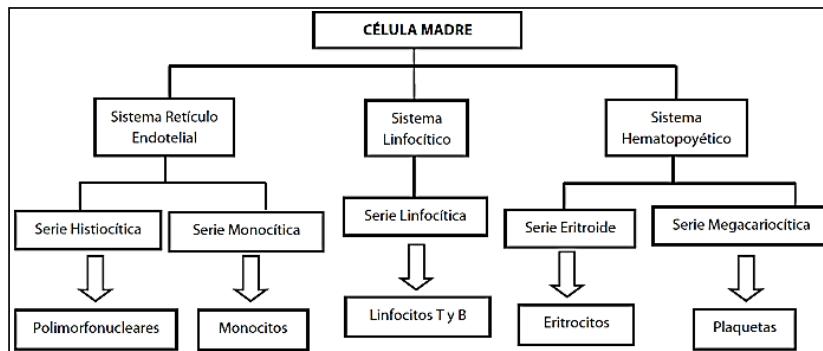


Ilustración 6. Hematopoyesis.

Elaborado por: los autores.

Eritropoyesis: consiste en la formación de eritrocitos, mismos que poseen un tiempo de vida de 120 días, razón por la cual tienen que ser reemplazados constantemente para impedir que varíe el volumen circulante (1,7).

La eritropoyesis está regulada principalmente por dos factores: el nivel de oxihemoglobina (hemoglobina oxigenada) y el nivel de oxígeno que reciben los tejidos. Bajo el influjo de estos factores actúa la hormona eritropoyetina (sintetizada en el aparato yuxtaglomerular del riñón) estimulando la proliferación, diferenciación y liberación de eritrocitos desde la médula ósea (8).

La maduración del eritrocito se produce por medio de la siguiente secuencia (Ilustración 7) (5):

1. Proeritroblasto: primera célula precursora de la eritropoyesis reconocible morfológicamente. Posee núcleo y ribosomas.
2. Eritroblasto basófilo
3. Eritroblasto policromático
4. Eritroblasto ortocromático (normoblasto): en esta etapa la célula pierde el núcleo.
5. Reticulocito (eritrocito policromatófilo): conserva algunos polirribosomas que todavía pueden sintetizar hemoglobina
6. Eritrocito: es la célula más madura de la eritropoyesis, carente de núcleo, mitocondrias y ribosomas, por lo cual es incapaz de dividirse y sintetizar proteínas. Su función consiste en la fijación de oxígeno y su liberación en los tejidos y, en intercambio, fijan dióxido de carbono para eliminarlo de los tejidos (5).

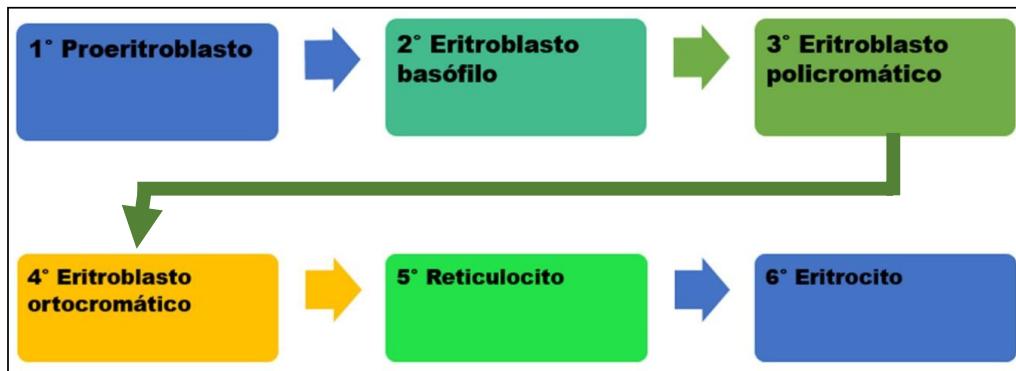


Ilustración 7. Eritropoyesis.
Elaborado por: los autores.

Características de los glóbulos rojos

- Número: En las mujeres: 4 500 000/mm³ y en los hombres 5 000 000/mm³
- Forma: disco bicóncavo (Ilustración 8).
- Tamaño: 7 micras.
- Vida media: 120 días.
- Color: amarillo verdoso.
- No poseen núcleo.
- Tienen una gran elasticidad para desplazarse a través de los capilares sanguíneos, propiedad derivada de la composición proteica especial de su membrana (glucoforina C, proteínas banda 3), de su esqueleto de membrana (espectrina, actina, tropomiosina, proteína de banda 4.1, tropomodulina, anquirina) y del citoesqueleto (7).

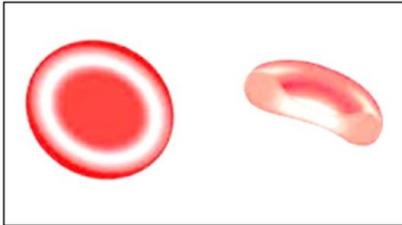


Ilustración 8. Morfología del eritrocito.
Elaborado por: los autores.

Hemoglobina

Es una proteína tetramérica constituida por dos cadenas polipeptídicas α y dos cadenas β . Cada cadena contiene un grupo prostético, el hemo, que posee un átomo de hierro y proporciona el color rojo a los hematíes (Ilustración 9); este elemento

garantiza la unión del oxígeno, razón por la cual sus valores deben ser normales. El hierro se obtiene de los alimentos, por absorción en el tracto gastrointestinal, se conserva y reutiliza de forma continua (9,10).

La hemoglobina transporta el oxígeno desde los pulmones, donde lo capta, hasta los tejidos del cuerpo. Cuando está saturada de oxígeno, se denomina oxihemoglobina; después de liberar esta molécula en los tejidos orgánicos, invierte su función y recoge el principal producto de la respiración celular, el dióxido de carbono, el cual es transportado hasta los pulmones para su espiración, y en esta forma se denomina carbaminohemoglobina (11).

Con la senescencia, los eritrocitos se destruyen al atravesar la pulpa roja del bazo debido a la fragilidad de su membrana, son fagocitados por el sistema macrofágico del bazo, médula ósea e hígado o entran a un proceso de muerte celular programada (eritosis). Como resultado, las cadenas de globina se degradan hasta aminoácidos, mismos que serán reutilizados para la síntesis proteica, mientras el grupo hemo es convertido en bilirrubina, a excepción del hierro, el cual también es reciclado para la formación de nueva hemoglobina (12,13).

Cuando se produce la ruptura de un vaso sanguíneo, como en una lesión, los hematíes se escapan hacia los tejidos; aquí se degradan y la hemoglobina se convierte en los pigmentos derivados de la bilirrubina, responsables de la coloración amarillenta de los hematomas (8,14).

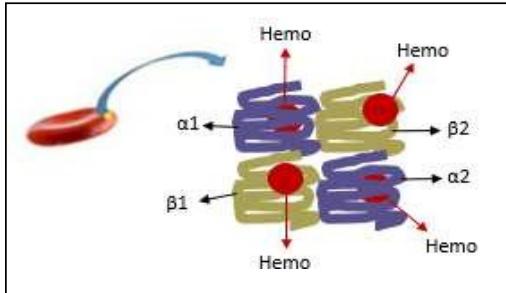


Ilustración 9. Estructura de la hemoglobina.

Elaborado por: los autores.

La hemoglobina posee una afinidad de 200 a 230 veces superior por el monóxido de carbono que por el oxígeno, y cuando se une a este gas recibe el nombre de carboxihemoglobina (11). El monóxido de carbono es un gas incoloro, inodoro e insípido, razón por la cual también se lo conoce como “asesino silencioso”; se produce durante la combustión incompleta de diferentes materiales orgánicos que contienen carbono, como en los tubos de escape de automóviles, calefacciones, lana,

algodón, gasolina, etc. La intoxicación con este gas disminuye el transporte de oxígeno a los tejidos, provocando asfixia que podría llevar a la muerte.

Valores de laboratorio

Hematocrito: Es el porcentaje de glóbulos rojos en el volumen total de sangre. Su valor puede variar de acuerdo al número y tamaño de los hematíes.

- Varones: 46-54%
- Mujeres: 40 - 47%

Hemoglobina

- Varones: 14,3 - 17 g/dL
- Mujeres: 12,5 – 14,7 g/dL.

Corral Moscoso).

Circulación sanguínea

En el ser humano tienen lugar dos circuitos en la circulación sanguínea, debido a que la sangre oxigenada y la desoxigenada no se mezclan (8).

- **Circulación general o mayor:** la sangre oxigenada, procedente de los pulmones, llega a la aurícula izquierda; de ella, pasa al ventrículo izquierdo que se contrae con mucha fuerza y la impulsa a todo el cuerpo. En los capilares cede el oxígeno y recoge el dióxido de carbono que se produce en la respiración celular. Finalmente vuelve a la aurícula derecha.
- **Circulación pulmonar o menor:** la sangre desoxigenada, procedente de todo el cuerpo, llega a la aurícula derecha; de ella, pasa al ventrículo derecho que se contrae y la impulsa a los pulmones. En los pulmones cede el dióxido de carbono y se carga de oxígeno. Finalmente vuelve a la aurícula izquierda (8).

(Valores de referencia según el laboratorio del Hospital Vicente

Grupos sanguíneos

Se conocen 36 sistemas de grupos sanguíneos formados por 346 antígenos. Los sistemas más empleados en la práctica clínica son el ABO y el Rh, aunque también grupos antigénicos menores como Lewis, Kell, Duffy, Kidd, entre otros, tienen roles importantes en procesos como la reacción transfusional hemolítica y la enfermedad hemolítica del recién nacido (15).

Sistema ABO: Karl Landsteiner, Premio Nobel de Medicina en 1930, publicó su descubrimiento del sistema de grupo ABO en 1900. Realizó suspensiones de glóbulos rojos de muestras de sangre propia y de sus colegas, enfrentándolas con los sueros, y así, en algunas de estas mezclas observó aglutinación y en

otras no, lo que le permitió analizar y concluir que existían cuatro tipos de grupos sanguíneos: A, B, AB y O. Además, pudo demostrar que en el suero de todas las personas se encuentran anticuerpos contra los antígenos ausentes en sus glóbulos rojos (16).

Este descubrimiento tiene un fundamento inmunológico: sobre la superficie de los eritrocitos existen carbohidratos (glucoesfingolípidos o glucoproteínas) que actúan como antígenos o aglutinógenos y que pueden ser A, B, AB o ninguno (Ilustración 11). Por su parte, en el suero de un individuo están presentes anticuerpos o aglutininas, que también pueden ser α , β , $\alpha\beta$ o ninguno (17).

Así, se pudo establecer que el tipo sanguíneo depende del antígeno presente en la superficie de los eritrocitos y que en la sangre de una persona nunca pueden estar presentes un antígeno y un anticuerpo del mismo tipo, caso contrario, una reacción antígeno-anticuerpo daría lugar a un fenómeno de hemólisis (destrucción de los hematíes), la cual se evidencia como aglutinación en estudios de laboratorio.

Sistema Rhesus (Rh): sobre la superficie de los eritrocitos existen otras proteínas. Se denomina Rh positivo a aquel individuo que presenta en la membrana de sus glóbulos rojos el antígeno D y Rh negativo a aquel que no lo posee (Ilustración 10).

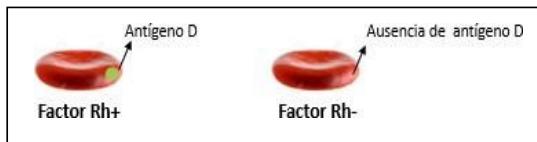


Ilustración 10. Factor RH.
Elaborado por: los autores.

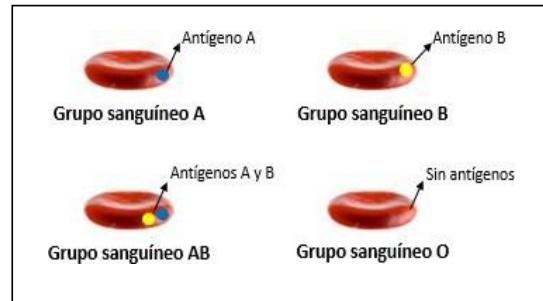


Ilustración 11. Sistema ABO.
Elaborado por: los autores.

Transfusión sanguínea

Es la transferencia de sangre o componentes sanguíneos de un sujeto (donante) a otro (receptor). Para la determinación de la compatibilidad entre la sangre de donante y receptor, y para evitar las reacciones hemolíticas postransfusionales, se debe tomar en cuenta el antígeno del donante y los anticuerpos del receptor (18).

“El llamado receptor universal es el grupo AB y el donante universal es el O” (Ilustración 12) (19)

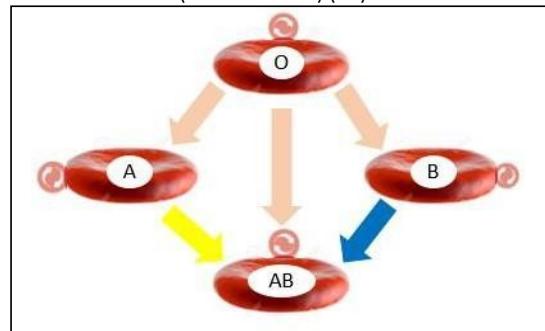


Ilustración 12. Donante – receptor: el grupo AB es receptor universal y el grupo O es el donante universal.

Elaborado por: los autores.

Enfermedad hemolítica del recién nacido

Es una entidad caracterizada por la destrucción de eritrocitos fetales debido a la acción de anticuerpos IgG maternos que atraviesan la placenta, desencadenan una reacción antígeno-anticuerpo, lisan los hematíes y conducen a anemia fetal (20–22).

Esta enfermedad es producida principalmente cuando existe incompatibilidad Rh entre la madre y el feto. La entrada del antígeno presente en los hematíes fetales a la circulación materna, sea por transfusiones o por hemorragia fetomaterna (embarazo previo, parto, aborto, amniocentesis, etc.), conduce a la sensibilización de la madre, quién producirá anticuerpos específicos contra el antígeno determinante. El fenómeno se desencadena únicamente cuando la madre es Rh negativa y el niño Rh positivo, ya que una gestante Rh positiva nunca generará anticuerpos anti D (20–22).

La anemia resultante conlleva una disminución de la capacidad de transporte de oxígeno, y como mecanismo de compensación, un aumento de la eritropoyesis intramedular con liberación a la sangre periférica de formas inmaduras (*erythroblastosis fetalis*) (20–22).

Cuando la capacidad de compensación de la médula es superada, aparece la hematopoyesis extramedular en hígado y bazo, lo que origina distorsión de la circulación portal, hipertensión portal y ascitis. La hipoalbuminemia causada por la insuficiencia hepática da lugar a una disminución en la presión oncótica con la aparición de edema generalizado, ascitis, e incluso derrame pleural y pericárdico (*hydrops fetalis*) (20–22).

La bilirrubina generada por la hemólisis es eliminada en el feto a través de la placenta. Sin embargo, si en el neonato se supera la capacidad de aclaramiento, presentará

ictericia intensa y en casos graves signos de afectación neurológica (icterus gravis neonatorum o kernícterus) (20–22).

PROCEDIMIENTOS

1. Observación de los eritrocitos.

Pinchar con una lanceta el pulpejo del dedo para obtener sangre y colocarla sobre un portaobjetos. Luego realizar un frotis extendiéndola en la placa y observar en el microscopio.

Identificar los eritrocitos, su forma, agrupación y coloración.

2. Observación de la circulación.

Identificar la circulación sanguínea en la cola de un renacuajo. Observar el desplazamiento y características de los eritrocitos.

3. Tipificación sanguínea.

-Con una lanceta pinchar el pulpejo del dedo.

-Colocar tres gotas de sangre sobre un portaobjetos y añadir una gota de reactivo anti A, anti B y anti D o Rh respectivamente en cada gota de sangre. Luego mover cada una de las mezclas durante 30 segundos con un mondadientes distinto.

-Observar si existe aglutinación o no en las distintas muestras e identificar el tipo sanguíneo en el sistema ABO y la positividad o negatividad Rh.

-Repetir el proceso con varias muestras.

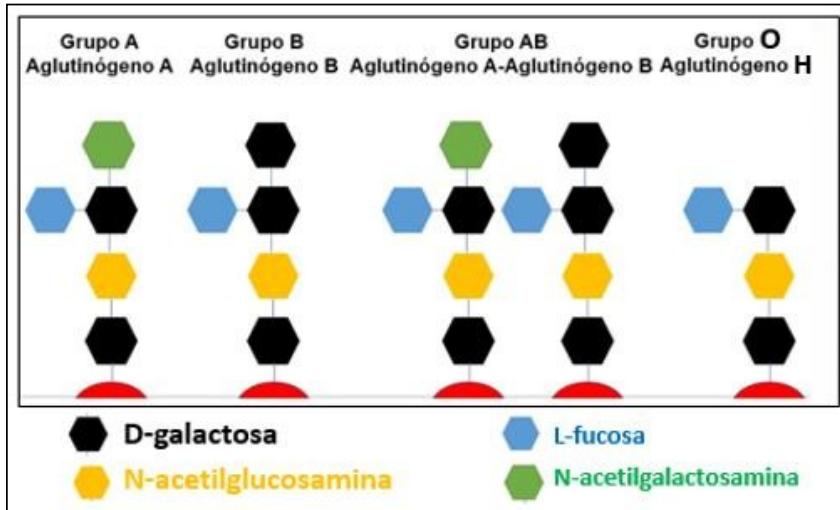


Ilustración 13. Estructura química de los aglutinógenos o antígenos de superficie del eritrocito. Elaborado por: los autores.

Lectura de los grupos sanguíneos:

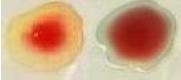
Se basa en observar o no la presencia de aglutinación de los glóbulos rojos. Un antígeno, al entrar en el organismo, induce la formación de anticuerpos específicos para dicho antígeno. En el mismo principio se fundamentan los sistemas de tipificación sanguínea ABO y Rh.

Los aglutinógenos presentes en la superficie de los eritrocitos inducirán una reacción con los anticuerpos presentes en los reactivos utilizados. Ej: el tipo sanguíneo A, tendrá aglutinógenos tipo A en la superficie de los eritrocitos y al entrar en contacto con el reactivo anti-A producirá aglutinación (Tabla 4-1).

El tipo sanguíneo B, tendrá aglutinógenos tipo B y al entrar en contacto con el reactivo anti-B producirá aglutinación.

El tipo sanguíneo AB, tendrá aglutinógenos tipo A y B en la superficie de los eritrocitos y al entrar en contacto con los reactivos anti-A y anti-B, producirá aglutinación en ambos casos.

El tipo sanguíneo O, no tendrá aglutinógenos en la superficie de los eritrocitos, y al entrar en contacto con los reactivos anti-A y anti-B, no producirá aglutinación con ninguno de ellos.

Tabla 4. Tipificación sanguínea, sistema ABO.				
Grupo Sanguíneo	Alelos	Anticuerpos en suero	Reactivos	
			A	B
O	i	Anti - A Anti - B		
A	I ^A I ^A I ^A i	Anti - B		
B	I ^B I ^B I ^B i	Anti - A		
AB	I ^A I ^B	Ninguno		

Elaborado por: los autores.

Y finalmente, para el factor Rh, el tipo sanguíneo Rh positivo tendrá la proteína D en la superficie de los eritrocitos y al entrar en contacto con el reactivo anti D, producirá aglutinación.

El grupo sanguíneo más común es el O, seguido, del grupo A, B y finalmente AB que corresponde al grupo sanguíneo menos frecuente. Igualmente, sobre el 85% de la población es Rh positiva.

La estructura química de los antígenos de superficie del eritrocito se esquematiza en la Ilustración 13.

APLICACIONES CLÍNICAS

- Anemia
- Policitemia
- Transfusión sanguínea
- Enfermedad hemolítica del recién nacido

PREGUNTAS DE EVALUACION

1. Investigar qué es la esferocitosis hereditaria y su etiología.
2. Los eritrocitos, al no poseer núcleo, mitocondrias ni ribosomas ¿cómo son capaces de llevar a cabo un proceso de muerte celular programada? Investigar las bases moleculares de la eritosis.
3. Realizar un cuadro de los posibles donantes y receptores para cada tipo sanguíneo.
4. Investigar qué es el fenotipo Bombay.
5. Investigar con qué valores de hemoglobina la anemia se hace clínicamente evidente (palidez de mucosas y palidez de piel).
6. Investigar el nivel de hemoglobina con el cual un paciente anémico requiere una transfusión sanguínea como tratamiento.
7. Investigar las variaciones de los valores de la hemoglobina según la altitud a la que habitan las personas. Explique la razón de este fenómeno.

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE



Referencias Bibliográficas

1. Michael H. Ross WP. *Histología: texto y atlas. Correlación con biología celular y molecular*. 7° ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
2. Pantoja MD, Romero-Ramirez H, Alba JCR. Células Madre Hematopoyéticas: origen, diferenciación y función. *Rev Médica Univ Veracruzana*. 2015;15(1):29–37.
3. Ng AP, Alexander WS. Haematopoietic stem cells: past, present and future. *Cell Death Discov*. 6 de febrero de 2017; 3:17002.
4. Thiriet M. Tissue Functioning and Remodeling in the Circulatory and Ventilatory Systems [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2013 [citado 1 de marzo de 2018]. (Biomathematical and Biomechanical Modeling of the Circulatory and Ventilatory Systems; vol. 5). Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4614-5966-8>
5. Wintrobe MM, Greer JP, editores. *Wintrobe's clinical hematology*. 12th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2009. 2 p.
6. Ivanovs A, Rybtsov S, Ng ES, Stanley EG, Elefanty AG, Medvinsky A. Human haematopoietic stem cell development: from the embryo to the dish. *Development*. 1 de julio de 2017;144(13):2323-37.
7. De Robertis (h) Eduardo, Hib J, Ponzio R. *Biología celular y molecular*. Buenos Aires: El ateneo; 2012.
8. Guyton AC, Hall JE. *Guyton & Hall, tratado de fisiología médica*. 13° ed. Barcelona: Elsevier España; 2016.
9. Murray RK, Harper HA. *Harper. Bioquímica ilustrada*. México, D.F.: McGraw Hill; 2013.
10. Laguna García J, Martínez Montes F, Piña Garza E, Pardo Vázquez JP, Riveros Rosas H, Mendoza Murillo C. *Bioquímica de Laguna*. México: Editorial El Manual Moderno; Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Facultad de Medicina; 2013.
11. Naik P. *Biochemistry*. JP Medical Ltd; 2015. 692 p.
12. Lang E, Lang F. Triggers, Inhibitors, Mechanisms, and Significance of Eryptosis: The Suicidal Erythrocyte Death. *BioMed Res Int* [Internet]. 2015 [citado 4 de marzo de 2018];2015. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4364016/>
13. Lang F, Lang E, Föller M. Physiology and Pathophysiology of Eryptosis. *Transfus Med Hemotherapy*. octubre de 2012;39(5):308-14.
14. Kasper DL, Harrison. *Principios de medicina interna*. 19°ed. Mexico D.F.: McGraw-Hill Educación; 2016.
15. Storry JR, Castilho L, Chen Q, Daniels G, Denomme G, Flegel WA, et al. International society of blood transfusion working party on red cell immunogenetics and terminology: report of the Seoul and London meetings. *ISBT Sci Ser*. 2016;11(2):118–122.
16. Soliz D, Jerves T, Encalada V, Chacón K, Guerrero A. *Manual de Prácticas de Biología*. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas; 2011.

17. Mitra R, Mishra N, Rath GP. Blood groups systems. *Indian J Anaesth.* 2014;58(5):524-8.
18. OMS | Transfusión de sangre [Internet]. WHO. [citado 5 de marzo de 2018]. Disponible en: http://www.who.int/topics/blood_transfusion/es/
19. La Sangre [Internet]. Escuela de Pacientes de Hematología de Jaén. [citado 5 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://escuelapacientes.weebly.com/la-sangre.html>
20. Rodríguez A, FERNÁNDEZ R, MARAVER DH, COLLDEFORNS JG. Enfermedad hemolítica del recién nacido. *Haematologica.* 2004;89(1):30–37.
21. Zavala RB, Huerta RS, López RR, Fernández RA. Enfermedad hemolítica del recién nacido por anti-C y anti-E. *Rev Mex Med Tran.* 2011;4(1):10–13.
22. Lambertino M, José R, Villegas G, Silvia M. Aloinmunización Rh en mujeres gestantes, una mirada al diagnóstico ya su aproximación terapéutica. *Ginecol Obstet Mex.* 2014;82(11).

5

Práctica

Células humanas: leucocitos y plaquetas

Materiales

- ✂ Lancetas
- ✂ Cronómetro
- ✂ Microscopio óptico compuesto
- ✂ Portaobjetos
- ✂ Cubreobjetos
- ✂ Guantes de manejo
- ✂ Torundas con alcohol

Muestras biológicas

- ✂ Sangre capilar

Reactivos

- ✂ Colorante de Wright

JUSTIFICACIÓN

Los leucocitos, también llamados glóbulos blancos, cumplen la función inmunitaria en el organismo. Las plaquetas o trombocitos son las células involucradas en la hemostasia, un conjunto de mecanismos encargados de mantener la fluidez de la sangre, así como de la formación de coágulos en caso de hemorragia (1).

Tanto los leucocitos como las plaquetas ayudan a mantener la homeostasis en nuestro organismo gracias a las propiedades que poseen, las cuales serán estudiadas a continuación.

LOGROS DEL APRENDIZAJE DE LA PRÁCTICA

- 🔗 Identifica los distintos tipos de leucocitos presentes en la sangre según sus principales características morfológicas y fisiológicas.
- 🔗 Conoce la importancia que tienen los leucocitos y las plaquetas para el mantenimiento de la homeostasis.
- 🔗 Señala la importancia de la fagocitosis y la respuesta inflamatoria en nuestro organismo.

Leucopoyesis

A nivel de la médula ósea se lleva a cabo la hematopoyesis, es decir, la génesis de células sanguíneas, con los siguientes procesos de diferenciación (2,3):

- Células madre multipotentes.
- Progenitores: células madre linfoides (dan origen a linfocitos B, T y NK) y células madre mieloides (dan origen a granulocitos, monocitos, eritrocitos y plaquetas).
- Precusores: mieloblastos, monoblastos, linfoblastos, proeritroblastos y megacarioblastos, los cuales se diferencian hacia precursores cada vez más maduros.
- Células maduras.

La leucopoyesis es el proceso de formación de los leucocitos, los cuales difieren por su estructura (Ilustración 14) (2,3):

Granulocitos (polimorfonucleares): poseen granulaciones específicas en su citoplasma. Comprenden neutrófilos, eosinófilos y basófilos (Ilustración 15). Su maduración y diferenciación incluye:

- Mieloblasto: es la célula más inmadura del linaje mieloide.
- Promielocito: genera las granulaciones primarias (inespecíficas) de los polimorfonucleares.
- Mielocito: forma granulaciones secundarias específicas para cada granulocito.
- Metamielocito: puede ser neutrófilo, eosinófilo o basófilo, dependiendo de sus gránulos secundarios.
- Bandas: son formas inmaduras en las cuales el núcleo aún no se ha segmentado.
- Leucocito: neutrófilo, eosinófilo o basófilo (4-7).

Agranulocitos: no poseen granulaciones específicas, pero sí gránulos inespecíficos, azurófilos, también presentes en los granulocitos, que corresponden a lisosomas. Están constituidos por linfocitos y monocitos (Ilustración 16) (8).

Los monocitos tienen un origen medular, perteneciendo, por lo tanto, al linaje mieloide, siendo el elemento más joven el monoblasto. Esta célula origina el promonocito, que se transforma en monocito y finalmente migra a los tejidos originando los histiocitos y macrófagos (9).

Los linfocitos tienen su origen, al igual que los demás leucocitos, en las células madre de la médula ósea, pero en su maduración también intervienen otras estructuras como el timo, amígdalas, ganglios linfáticos, etc. En sus etapas de diferenciación se identifican linfoblastos, prolinfocitos y finalmente linfocitos maduros (10).

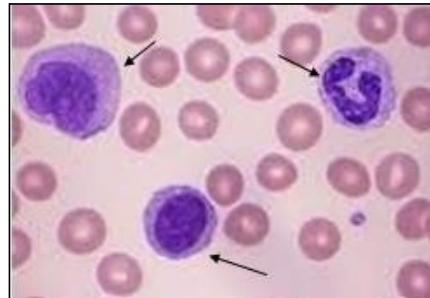


Ilustración 14. Diferentes tipos de leucocitos (flechas) observados al microscopio: nótese la diferencia de tamaño respecto a los eritrocitos circundantes y plaquetas.

Fuente: los autores.

Características generales de los leucocitos

- Número: 5.000 – 11.000/mm³ de sangre (μL)
- Forma: redondeada
- Tamaño: 6-30 μm
- Color: no poseen coloración propia, por ello, es

necesario teñirlos para poder
observarlos (11).

Características individuales de los leucocitos

Neutrófilos: miden de 9 a 12 μm y son el tipo de leucocitos más abundantes en la sangre del ser humano (54 a 62%). Su nombre se debe a la ausencia de tinción citoplasmática con colorantes ácidos o básicos, sin embargo, se caracterizan por presentar un núcleo con cromatina compacta segmentada en 2 a 5 lóbulos conectados por delgados puentes. Su función principal es la fagocitosis de bacterias y hongos, siendo las primeras y principales células inmunitarias que migran hacia sitios de lesión. Su citoplasma aparece de color rosado y posee granulaciones finas (8,12).

Eosinófilos: miden de 10 a 14 μm , constituyen entre el 1 y 3% de los leucocitos. Su núcleo es generalmente bilobulado y su citoplasma posee gránulos acidófilos (la eosina es un colorante ácido de color rojo). Intervienen en la defensa ante protozoarios y helmintos (7,8,12,13).

Basófilos: miden de 8 a 10 μm . Son los menos numerosos de todos los leucocitos (0,5 a 1%). Al activarse y pasar a los tejidos se denominan células cebadas o mastocitos, siendo estas últimas mucho más grandes (15-30 μm). Los gránulos de los basófilos son gruesos pero escasos y cubren al núcleo de color morado. Tienen una activa participación en la respuesta inmunitaria a través de la liberación de histamina, serotonina en bajas concentraciones, y otras sustancias químicas implicadas en reacciones de hipersensibilidad y anafilaxia ante alérgenos. A diferencia de los mastocitos, cuyos núcleos son redondos, los basófilos poseen núcleos segmentados (7,8,12).

Bandas: estas formas inmaduras, también llamadas *neutrófilos juveniles*, *neutrófilos no segmentados* o *cayados*, miden entre 10 y 18 μm y constituyen entre 5 a 10%. Se caracterizan por tener un núcleo en forma de "U", cayado o salchicha (4,6,7).

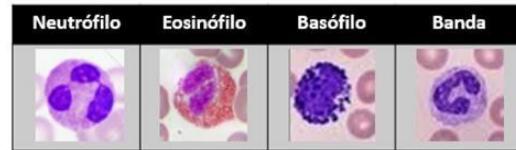


Ilustración 15. Leucocitos granulocitos.
Fuente: los autores.

Linfocitos: son los leucocitos de menor tamaño, miden entre 6 y 12 μm y constituyen del 25 a 33%. Presentan un gran núcleo esférico que se tiñe de violeta-azul y su citoplasma frecuentemente se observa como un anillo periférico de color azul (8,12,13).

Monocitos: son los leucocitos de mayor tamaño, miden entre 12 y 20 μm , y constituyen del 3 al 7%. Presentan un núcleo reniforme (forma de riñón) que se tiñe de color violeta-azulado. El citoplasma es abundante y de color gris azulado (7,12).

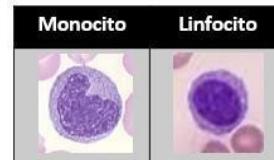


Ilustración 16. Leucocitos agranulocitos.
Fuente: los autores.

Fagocitosis

La fagocitosis constituye un mecanismo básico de defensa mediante el cual las células del sistema inmune, específicamente neutrófilos y macrófagos, se encargan de destruir las partículas extrañas o antígenos que hayan ingresado a nuestro organismo (Ilustración 17) (14). En el proceso de la fagocitosis se diferencian tres fenómenos:

1. Adhesión o adsorción de la partícula a la superficie externa de la membrana plasmática.
2. Penetración de la partícula en la célula como un

fagosoma.

3. Lisis o destrucción de la partícula en el interior de la célula por los lisosomas (14,15).

Respuesta inflamatoria

La respuesta inflamatoria constituye otro de los mecanismos básicos de defensa de nuestro organismo. Es un proceso inespecífico cuya principal función es aportar leucocitos a la zona de lesión, con la finalidad de acelerar la recuperación del tejido y destruir a los antígenos presentes. Comprende numerosos cambios, desde vasculares (vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular) hasta celulares (activación y extravasación leucocitaria) (15,16).

La extravasación leucocitaria, un paso crucial de la respuesta inflamatoria, implica la migración de los leucocitos desde el torrente sanguíneo hasta los tejidos diana donde ejercen su función. Comprende una serie de eventos:

- Marginación: acumulación de los leucocitos a largo de la superficie endotelial.
- Rodamiento: adhesión transitoria a la superficie endotelial.
- Adhesión: unión compacta y masiva a la superficie endotelial.
- Diapédesis: trans migración a través de las fenestraciones capilares para poder pasar al intersticio.

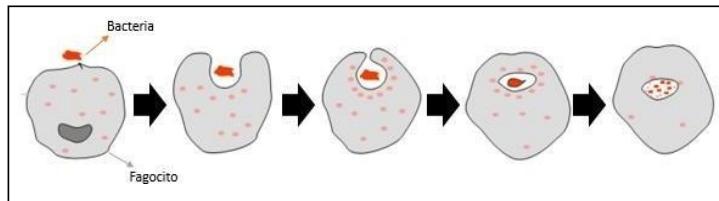


Ilustración 17. Fagocitosis.

- Migración: desplazamiento en los tejidos hacia un estímulo quimiotáctico que permitirá alcanzar partículas extrañas de manera específica (17,18).

Sistema inmunitario

El sistema inmunitario lleva a cabo un conjunto de mecanismos específicos encargados de proteger al individuo de microorganismos infecciosos y partículas extrañas no infecciosas, así como de evitar agresiones futuras gracias a la memoria inmunológica (16).

Un **antígeno** es toda molécula o sustancia susceptible de ser reconocida por un anticuerpo y capaz de desencadenar una respuesta inmune, ya sean partículas de polvo, bacterias, hongos, virus, células cancerígenas, etc. (19).

Un **anticuerpo** es un tipo de proteína producida por los plasmocitos (linfocitos B diferenciados) en respuesta a la presencia de antígenos. Los anticuerpos también se producen cuando el sistema inmunitario reconoce como extrañas a las células del propio organismo, siendo este uno de los fundamentos de las enfermedades autoinmunes (15).

Las reacciones antígeno anticuerpo tienen como objetivo bloquear la capacidad de los microorganismos para infectar las células del huésped, favorecer su ingestión por los fagocitos y su ulterior destrucción (19).

Elaborado por: los autores.

Fórmula leucocitaria

La fórmula leucocitaria (recuento leucocitario), refleja la cantidad de leucocitos circulantes por mm^3 de sangre (μL), expresada en dos tipos de valor (Tabla 5):

- Valor absoluto: recuento diferencial de leucocitos. Cantidad de células por unidad de volumen (mm^3) respecto al total de glóbulos blancos.
- Valor relativo o porcentual: porcentaje de cada uno de los tipos de leucocitos con respecto al total (5).

Tabla 5. Valores normales de los leucocitos – Hospital Vicente Corral Moscoso.		
Células	/ mm^3 de sangre	%
Leucocitos	5 000 – 10 000	100
Neutrófilos	2 500 – 6 700	50 – 67
Linfocitos	1400 – 4 400	28 – 44
Monocitos	200 – 900	4 – 9
Eosinófilos	0 – 600	0 – 6
Basófilos	0 – 300	0 – 3

Fuente: Laboratorio Clínico del Hospital Vicente Corral Moscoso.

El recuento total de leucocitos puede encontrarse alterado en relación al esperado para la edad, el estado fisiológico y el origen étnico, ya sea a expensas de uno o varios tipos celulares, según la etiología: infecciones bacterianas o virales, neoplasias hematológicas, reacciones alérgicas, etc.

Tabla 6. Terminología en alteraciones de leucocitos.		
Células	Aumento	Disminución
Leucocitos	Leucocitosis	Leucopenia
Neutrófilos	Neutrofilia	Neutropenia
Linfocitos	Linfocitosis	Linfocitopenia
Monocitos	Monocitosis	Monocitopenia

Eosinófilos	Eosinofilia	Eosinopenia
Basófilos	Basofilia	-

Elaborado por: los autores

Plaquetas

Las plaquetas o trombocitos no son células como tal, sino fragmentos celulares anucleados, rodeados por membrana plasmática, formados a partir de la segmentación de los megacariocitos medulares (8,20).

Megacariopoyesis: es el proceso de formación de plaquetas (Ilustración 18). Las plaquetas pertenecen al linaje mielóide, siendo el progenitor de megacariocitos-eritrocitos su estadio común con los glóbulos rojos. A partir de este se origina el megacarioblasto, el cual, a diferencia de los demás precursores sanguíneos, sufre un proceso de endomitosis (detención de la mitosis en anafase tardía, sin atravesar por la citocinesis) que permite la formación de megacariocitos con $4n$, $8n$, $16n$, $32n$, $64n$, e incluso $128n$ cantidad de cromosomas, para dar lugar posteriormente a la formación de proplaquetas y finalmente a plaquetas que serán liberadas a la circulación sanguínea desde la médula ósea (20–24).



Ilustración 18. Megacariopoyesis.

Elaborado por: los autores.

Características de las plaquetas

- Número: 150.000 - 400.000/ μL
- Forma: irregular
- Tamaño: 2-4 μm
- Color: no poseen coloración.
- Vida media: 8-12 días (12).

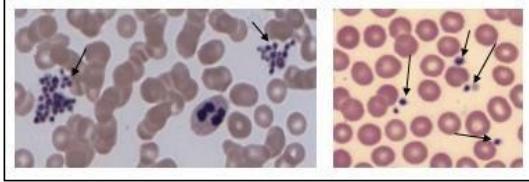


Ilustración 19. Plaquetas.

Fuente: los autores.

Hemostasia

La hemostasia es un sistema complejo encargado de mantener la sangre en un estado líquido que permita su circulación en los vasos sanguíneos, así como de suprimir la salida de sangre desde el espacio intravascular a través de un vaso lesionado (1). El sistema hemostático del ser humano se encarga del equilibrio natural entre los factores procoagulantes (adhesión y agregación plaquetarias y formación del coágulo de fibrina) y los anticoagulantes (inhibidores de la coagulación y fibrinólisis) (25).

El rol de la hemostasia en la detención de hemorragias comprende el siguiente proceso (1,21,26):

- **Espasmo vascular:** ante la lesión de un vaso sanguíneo se produce una vasoconstricción local que disminuye la pérdida de sangre.
- **Formación del tapón plaquetario:** al entrar en contacto con el colágeno de la pared de un vaso lesionado los trombocitos se activan, aumentan de tamaño, emiten prolongaciones y se vuelve pegajosos, de tal modo que puedan adherirse al subendotelio vascular del sitio afectado, así como unirse unas con otras para sellar la lesión (agregación plaquetaria). Además, para potenciar el proceso se produce la liberación de factores intraplaquetarios como ADP,

serotonina, calcio, tromboxanos A₂, entre otros.

- **Coagulación:** consiste en la activación en cascada de una serie de proteínas plasmáticas conocidas como *factores de coagulación* para dar lugar a la formación del coágulo de fibrina, mismo que reforzará la acción del tapón plaquetario.
- **Fibrinólisis:** la plasmina, una enzima proteolítica, se encarga de degradar el coágulo de fibrina, a medida que se cicatrizan y reparan las lesiones.

Hemorragia

La hemorragia es un trastorno caracterizado por la extravasación de sangre del lecho vascular, independientemente de su volumen (27).

Clasificación de las hemorragias

Según el origen de la hemorragia (28):

- Hemorragia interna: es la ruptura de un vaso sanguíneo en el interior del cuerpo. Su detección se basa en signos clínicos de inestabilidad hemodinámica (taquicardia, hipotensión, etc.).
- Hemorragia externa: es la hemorragia producida por ruptura de vasos sanguíneos a través de la piel. Se puede observar a simple vista.

Según el tipo de vaso sanguíneo lesionado (29):

- Hemorragia capilar: es la más frecuente y la menos grave, pues los capilares sanguíneos poseen los diámetros más pequeños.
- Hemorragia venosa: se da cuando el sangrado procede de alguna vena lesionada y la sangre sale de forma continua, pero sin fuerza.

- Hemorragia arterial: es la más grave si no se trata a tiempo. El sangrado procede de alguna arteria lesionada y la sangre sale en forma de chorro, intermitente, siendo de color rojo rutilante.

Según el volumen de sangre que se ha perdido (28,29):

- Leve: < 10%
- Moderada: 10 – 30%
- Grave: 30 – 40%
- Mortal: > 50%

PROCEDIMIENTOS

1) Observación de leucocitos

- Pinchar con una lanceta el pulpejo del dedo para obtener sangre y colocar una gota de la misma sobre un portaobjetos.
- Realizar un frotis extendiéndola en la placa, teñirla con colorante de Wright durante 3-5 minutos, luego colocar Buffer o Agua destilada durante 1 minuto.
- Observar en el microscopio.
- Identificar los distintos tipos de leucocitos.

2) Observación de un corte de ganglio linfático

- Observar al microscopio con el lente objetivo de inmersión una placa de ganglio linfático.
- Identificar los diferentes leucocitos en la placa.

3) Tiempo de sangría

- Con una lanceta pinchar el pulpejo del dedo.
- Con un algodón limpiar suavemente la sangre sucesivamente hasta que termine el sangrado.
- Determinar el tiempo que ha tardado en formarse el coágulo, es decir, el momento en el que el sitio de la lesión deja de sangrar (tiempo de sangría). El tiempo de sangría normal es de 1-3 minutos.

APLICACIONES CLÍNICAS

El conocimiento del sistema inmunitario, con sus componentes químico y celular, permite entender la fisiopatología de varios procesos, pudiendo predecir la semiología y la patología clínica y estructural en los pacientes con los siguientes casos:

- Inmunología
- Infecciones
- Alergias
- Inflamación
- Autoinmunidad
- Hemorragias
- Interpretación de la biometría hemática.

PREGUNTAS DE EVALUACIÓN

1.- Caso clínico: paciente masculino de 56 años acude al servicio médico por presentar dolor en punta de costado, tos productiva, fiebre, diaforesis y disnea. Al examen físico evidencia síndrome anémico (llenado capilar de 4 segundos, palidez de piel, mucosas y lechos ungueales, astenia y taquicardia), síndrome de condensación pulmonar, síndrome de insuficiencia respiratoria y síndrome febril. Se establece como diagnóstico presuntivo Neumonía Adquirida en la Comunidad + Anemia. Dentro de los exámenes complementarios solicitados se encuentran una radiografía estándar de tórax y una biometría hemática. ¿Qué datos se esperaría encontrar en el hemograma para confirmar los diagnósticos presuntivos? Tener en cuenta que la etiología más probable de la neumonía en personas adultas es bacteriana.

2.- Un paciente con leucemia puede presentar tanto un número normal como un número elevado de leucocitos. Explicar por qué a pesar de ello estos pacientes suelen presentar mayor riesgo de infecciones.

3.- Investigar qué es una hiperleucocitosis.

4.- Investigar cuál es el grupo de leucocitos más abundante en niños menores de 5 años. Consultar los valores de referencia del Hospital Vicente Corral Moscoso.

5.- Indicar 5 enfermedades autoinmunes y el órgano, tejido o célula al que atacan.

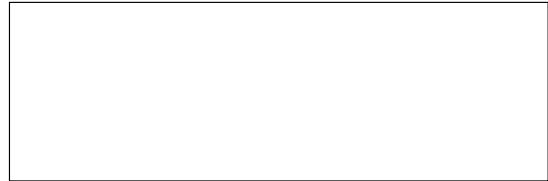
6.- El Virus de Inmunodeficiencia Humana infecta a un grupo específico de leucocitos, produciendo una disminución paulatina de su recuento hasta niveles críticos en los que se producen *infecciones oportunistas* definitorias del SIDA. Investigar:

- a qué células del sistema inmune infecta el VIH
- qué son infecciones oportunistas
- 5 infecciones oportunistas.

7.- Investigar qué es la trombocitopenia esencial y la razón fisiopatológica de por qué esta suele tener tanto manifestaciones trombóticas como hemorrágicas.

8.- Un paciente presenta 92% de neutrófilos y 5% de linfocitos ¿cuántas células de cada tipo se encontrarán por μL de sangre, si su recuento total de leucocitos es de 13 900?

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE



Referencias bibliográficas

1. Grimaldo-Gómez FA. Fisiología de la hemostasia. Revista Mexicana de Anestesiología [Internet]. septiembre de 2017;40. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/rma/cma-2017/cmas172b.pdf>
2. Kondo M. Lymphoid and myeloid lineage commitment in multipotent hematopoietic progenitors. Immunol Rev. noviembre de 2010;238(1):37-46.
3. Thiriet M. Tissue Functioning and Remodeling in the Circulatory and Ventilatory Systems [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2013 [citado 1 de marzo de 2018]. (Biomathematical and Biomechanical Modeling of the Circulatory and Ventilatory Systems; vol. 5). Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4614-5966-8>
4. Rodak BF, Carr JH. Clinical Hematology Atlas - E-Book. Elsevier Health Sciences; 2012. 269 p.
5. Campuzano G. Utilidad del extendido de sangre periférica: los leucocitos. Medicina & Laboratorio. 2008;14:45.
6. Naranjo Aristizábal C. Atlas de hematología. Células sanguíneas. 2ª Ed. Colombia: Centro de Publicaciones UCM; 2008.
7. College of American Pathologists. Hematology and Clinical Microscopy Glossary [Internet]. 2014 [citado 9 de marzo de 2018]. Disponible en: http://labmed.ucsf.edu/labmanual/clinlab/dnld/2014_CAP_hematology_glossary.pdf
8. Michael H. Ross WP. Histología: texto y atlas. Correlación con biología celular y molecular. 7º ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
9. Wintrobe MM, Greer JP, editores. Wintrobe's clinical hematology. 12th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2009. 2 p.
10. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, editores. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. Ninth edition. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2015. 1391 p.
11. Angel Mejía G, Ángel Ramelli M. Interpretación clínica del laboratorio. Bogotá: Médica Panamericana; 2010.
12. Cui D, Claros Dáz G, Carreras i Goicoechea E, Ovid Technologies I. Histología con correlaciones funcionales y clínicas. Barcelona: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2011.
13. Gartner LP. Texto de histología atlas a color (4a. ed.). [Internet]. Barcelona: Elsevier Health Sciences Spain - T; 2017 [citado 23 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://public.ebib.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=4824074>
14. De Robertis (h) Eduardo, Hib J, Ponzio R. Biología celular y molecular. Buenos Aires: El ateneo; 2012.
15. Rojas Montoya W, Corporación para Investigaciones Biológicas (Medellín C. Inmunología de Rojas. Medellín: CIB; 2012.
16. Regueiro González JR. Inmunología: biología y patología del sistema inmune. Madrid: Panamericana; 2012.

17. León Regal M, Alvarado Borges A, de Armas García J, Miranda Alvarado L, Varens Cedeño J, Cuesta del Sol J. Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares: cifras alarmantes. *Rev Finlay*. marzo de 2015;5(1):47-62.
18. Barreiro O, Sánchez-Madrid F. Bases moleculares de las interacciones leucocito-endotelio durante la respuesta inflamatoria. *Rev Esp Cardiol*. 1 de mayo de 2009;62(05):552-62.
19. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Inmunología celular y molecular: octava edición. Barcelona: Elsevier; 2015.
20. Maya GC. Utilidad del extendido de sangre periférica: las plaquetas. *Medicina & Laboratorio*. 2008; 14:21.
21. López Farré A, Macaya C. Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición. *Rev Esp Cardiol*. 1 de febrero de 2013;13(Supl.B):2-7.
22. Guo T, Wang X, Qu Y, Yin Y, Jing T, Zhang Q. Megakaryopoiesis and platelet production: insight into hematopoietic stem cell proliferation and differentiation. *Stem Cell Investig* [Internet]. 14 de febrero de 2015 [citado 26 de marzo de 2018];2. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4923649/>
23. Wen Q, Goldenson B, Crispino JD. Normal and Malignant Megakaryopoiesis. *Expert Rev Mol Med*. 21 de octubre de 2011;13:e32.
24. Wijgaerts A, Freson K. Megakaryopoiesis under normal and pathological conditions. *Hématologie*. 201411-12;(6):319–328.
25. Kasper DL, Harrison. Principios de medicina interna. 19° ed. Mexico D.F.: McGraw-Hill Educación; 2016.
26. Hall JE. Guyton & Hall: tratado de fisiología médica [Internet]. 2012 [citado 4 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://site.ebrary.com/id/11043234>
27. Sánchez Sánchez M, Miró Andreu O, Coll-Vinent Puig B. Las hemorragias. *Med Integral*. :203-10.
28. American College of Surgeons, editor. Advanced trauma life support: ATLS; student course manual. 9. ed. Chicago, Ill: American College of Surgeons; 2012. 366 p.
29. Soliz D, Jerves T, Encalada V, Chacón K, Guerrero A. Manual de Prácticas de Biología. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas; 2011.

6

Práctica

Extracción de ADN y corpúsculo de Barr

Materiales y Reactivos

- ✂ 2 Servilletas.
- ✂ 2 Bajalenguas.
- ✂ Guantes de manejo
- ✂ 1 Colador
- ✂ 2 Gasas
- ✂ 1 Gotero
- ✂ Portaobjetos
- ✂ Cubreobjetos
- ✂ Microscopio óptico compuesto
- ✂ Aceite de inmersión
- ✂ 1 Mortero
- ✂ 1 Tubo de ensayo
- ✂ 1 Vaso de precipitación

Muestras biológicas

- ✂ 1 Hígado de pollo

Reactivos

- ✂ Detergente líquido
- ✂ Ablandador de carne en polvo o papaya licuada
- ✂ Alcohol isopropílico o etílico frío
- ✂ Sal
- ✂ Azul de metileno

JUSTIFICACIÓN

La estructura química del ADN propuesta por James Watson y Francis Crick, de Cambridge University, permitió la explicación de la herencia genética en los seres vivos y les valió el premio Nobel de la Medicina y Fisiología en 1962 (1,2).

El genoma humano está formado por aproximadamente 3.200 millones de pares de bases, que conllevan 20.000 genes codificantes de proteínas que funcionan como enzimas, componentes estructurales y moléculas transmisoras de señales (1–3).

LOGROS DEL APRENDIZAJE DE LA PRÁCTICA

- 🔍 Extrae el ADN de varias células para su observación macroscópica.
- 🔍 Identifica el corpúsculo de Barr en células epiteliales.
- 🔍 Diferencia, en términos genéticos, un mosaico de una quimera.

ADN

El ácido desoxirribonucleico (ADN) es la unidad esencial de todas las células, hallada dentro del núcleo (eucariotas). Almacena la información genética de los individuos y permite su transferencia en el momento de la replicación (1,2).

Estructura

Las subunidades del ADN se denominan nucleótidos, y cada uno de ellos se forma por: un ácido fosfórico, una pentosa (desoxirribosa) y una base nitrogenada que puede ser una purina (dos anillos), adenina (A) o guanina (G), o una pirimidina (un anillo), citosina (C) o timina (T) (Ilustración 20). El ARN, a diferencia del ADN, posee uracilo (U) en lugar de timina (T) y su azúcar es la ribosa. La A se une a la T por dos puentes de hidrógeno y la C a la G por tres de ellos (1,2,4). En el ADN las bases son complementarias en una doble cadena con un giro a la derecha.

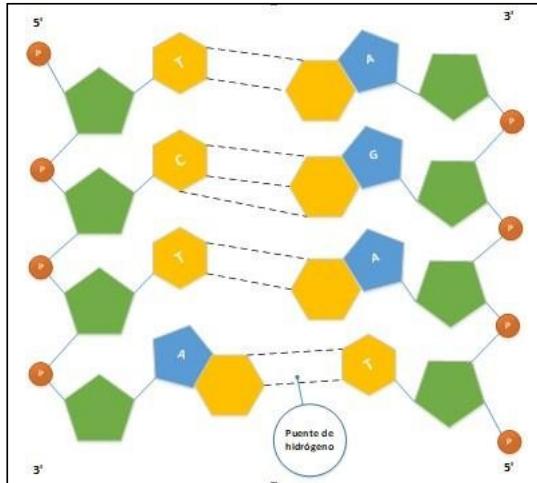


Ilustración 20. Estructura del ADN.
Elaborado por: los autores.

Funciones

- Almacena la información genética (genoma), en unidades llamadas genes.
- Permite la expresión de los genes a través de la transcripción y traducción para la codificación de proteínas.
- Se replica antes de la división celular, originando dos moléculas idénticas que serán destinadas a cada célula hija.
- Permite la evolución de los seres vivos gracias a las mutaciones que se generan en el mismo (1-4).

Genotipo versus Fenotipo

El genotipo es el conjunto de genes que posee una persona, es decir todo su material genético. La expresión de estos origina ciertas características físicas, fisiológicas y conductuales en un individuo, que en su mayoría son influenciadas por el medio ambiente. El conjunto de estos rasgos específicos se denomina fenotipo (2,5).

Cromatina

La cromatina es el resultado del enrollamiento del ADN sobre proteínas básicas conocidas como histonas y no histonas. Esta estructura ocupa un menor volumen y tiene una movilidad más rápida, lo que facilita la división celular (1,2).

Existen dos tipos de cromatina (2-4):

- Eucromatina: en la que el ADN se encuentra poco enrollado, permitiendo que las enzimas actúen sobre las hebras para dar lugar a la replicación, transcripción y traducción; obteniendo como resultado final proteínas estructurales y funcionales para las células.
- Heterocromatina: en la que el ADN está densamente compactado por lo que no es

posible la transcripción y en consecuencia la traducción. Esta a su vez, puede ser de dos tipos:

- Facultativa: cuando se presenta en diferentes secuencias dependiendo de las células.
- Constitutiva: cuando está presente en el mismo sitio (locus) de todas las células, por ejemplo, el ADN satélite.

Corpúsculo de Barr

Es heterocromatina sexual facultativa que se genera por la inactivación de uno de los cromosomas X en las células de los individuos femeninos (Ilustración 21). El número de corpúsculos de Barr en cada célula es igual a la cantidad de cromosomas X menos 1 (6,7).

Hipótesis de Lyon

Mary Frances Lyon, una genetista británica, desarrolló la explicación de la presencia del corpúsculo gracias a sus estudios sobre el color del pelaje en ratones, resumida en los siguientes postulados (7):

- El corpúsculo de Barr es el resultado de la inactivación de uno de los cromosomas X en las células somáticas de las hembras de los mamíferos.
- La inactivación se produce aleatoriamente en etapas tempranas del desarrollo, antes de llegar a las 32 células de la mórula. Esta inactivación es permanente.
- En las células germinales no se inactiva ninguno de los dos cromosomas X.
- En toda descendencia de una célula somática se inactiva el mismo cromosoma.
- Puede inactivarse tanto el cromosoma paterno o materno, dando lugar a un mosaico con respecto a X.

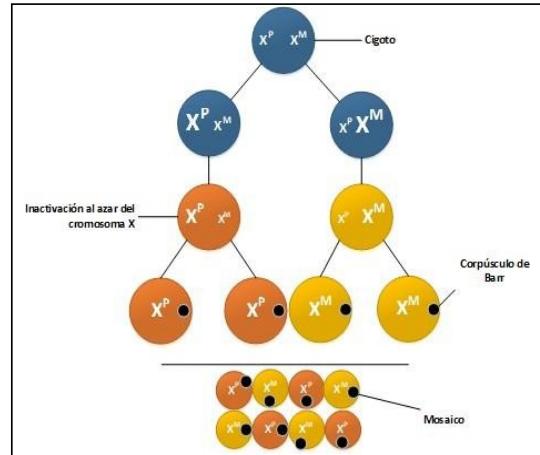


Ilustración 21. Generación del corpúsculo de Barr.

Elaborado por: los autores.

Repercusión clínica

La identificación del corpúsculo de Barr permite (6):

- Determinar el número de cromosomas X de un individuo y a su vez,
- Detectar la presencia de alteraciones en el número de los cromosomas sexuales.

Determinación del sexo en humanos

El sexo en los seres humanos se determina por un proceso complejo, gracias a la participación de varios genes, con base en la dotación de cromosomas sexuales (XX para mujeres y XY para hombres), como se detalla en la Ilustración 22 (8,9). La clave en todo esto es el cromosoma Y, de tal forma que (8):

- La presencia de cromosomas XY, determina la presencia órganos genitales internos y externos (fenotipo masculino).

- La presencia de cromosomas XX (la ausencia del cromosoma Y), determina la presencia órganos genitales internos y externos (fenotipo femenino).

La diferenciación sexual inicia en la séptima semana de desarrollo embrionario, antes de este tiempo el embrión no ostenta ningún dimorfismo sexual (8).

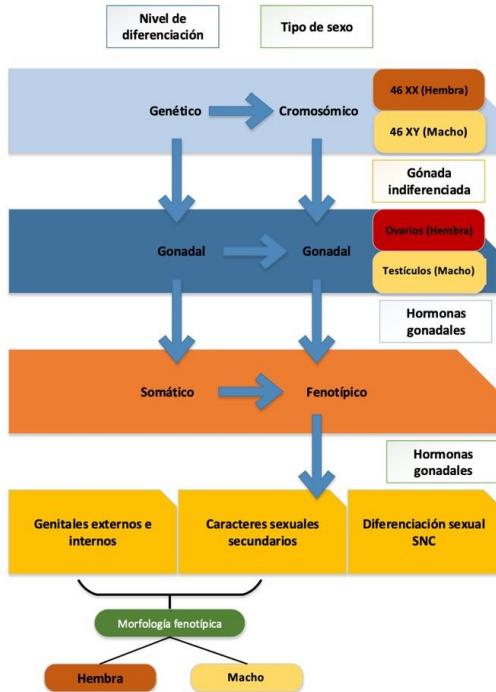


Ilustración 22. Diferenciación sexual.
Elaborado por: los autores.

Los hombres en su cromosoma Y tienen un gen denominado SRY (del inglés *sex-determining region of the Y chromosome*, "región de Y determinante del sexo") en su brazo corto (Yp11). La proteína resultante de este gen es un factor de transcripción que desencadena la formación del testículo, futuro productor de testosterona, que al ser metabolizada y captada por sus receptores en los conductos de Wolff o mesonefricos ocasiona la diferenciación de los mismos en los conductos deferentes, vesículas seminales y próstata, así como el desarrollo de los genitales masculinos externos (pene, escroto) que constituyen el fenotipo masculino (8,10).

En las mujeres, con dos cromosomas X, y en ausencia de SRY, la gónada se transforma en ovario y produce estrógenos que propician el desarrollo de los conductos de Müller o paramesonéfricos que conducen a la formación del útero, trompas de Falopio, vagina y vulva que constituyen el fenotipo femenino. La ausencia de testosterona determina la involución de los conductos de Wolff (8,11).

Quimera

Una quimera es un ser mítico formado por un león, una serpiente y una cabra. Esta construcción epistemológica extrapolada al ser humano representa un sujeto con más de un genoma. Esto es debido a la fusión de dos gemelos heterocigotos antes de que el embrión sea capaz de desarrollar una respuesta inmune. Como ejemplo también tenemos a los trasplantes alogénicos (individuo donante con genoma distinto al del receptor) (5,12-14).

Mosaico

Un individuo tiene mosaicismo al presentar dos o más poblaciones celulares con distinto genotipo a partir de un mismo cigoto debido a la mutación del genoma de una de las células durante la gestación antes que el embrión pueda emitir una respuesta inmune. Por ejemplo, las mu-

eres tienen mosaïcismo debido a la desactivación de uno de sus cromosomas X (5,12).

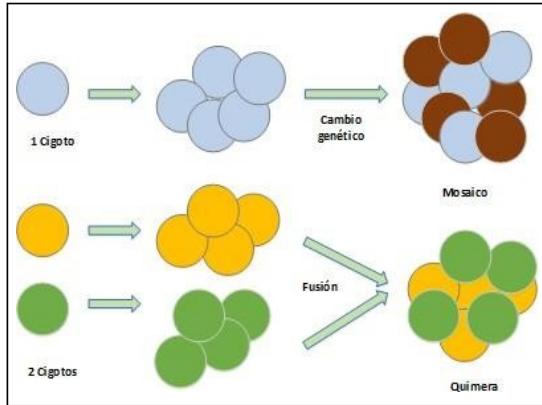


Ilustración 23. Mosaico y quimera.
Elaborado por: los autores.

APLICACIONES CLÍNICAS

Lo referente a la diferenciación sexual en los seres humanos permite entender aquellas anomalías que pueden presentarse y que en su mayoría son detectadas en el momento del nacimiento (14):

- La detección del corpúsculo de Barr permite la determinación del sexo en individuos con genitales ambiguos.
- El mosaïcismo es reconocido como etiología del síndrome de Down, síndrome de Turner, síndrome de Proteus.
- El quimerismo y microquimerismo son posibles etiologías de enfermedades autoinmunes como esclerosis sistémica progresiva, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves, cirrosis biliar

primaria, lupus eritematoso sistémico.

- El papel del quimerismo en el control de enfermedades malignas posterior a trasplante de células hematopoyéticas, gracias al efecto de injerto contra tumor.
- Las pruebas genómicas de alta resolución permiten detectar deleciones o duplicaciones cromosómicas submicroscópicas que no serían detectadas con el análisis del cariotipo de rutina.
- En base a la genética y sus leyes, los asesores genéticos pueden ofrecer educación y apoyo a pacientes que tienen riesgo de padecer ciertas patologías (como ciertos tipos de cánceres que tienen un alto componente hereditario).
- El análisis de la matriz de expresión génica de un tumor pulmonar permite determinar el pronóstico y guiar el tratamiento.
- Las pruebas de genes APOE para la enfermedad de Alzheimer o la determinación del número de repeticiones CAG para la enfermedad de Huntington permite a los pacientes planificar su vida a largo plazo.
- Los científicos farmacéuticos secuencian el ADN de algunas células cancerosas para identificar cambios específicos en oncogénesis y así generar inhibidores específicos que controlen los cánceres.

PROCEDIMIENTOS

1.- Observación del corpúsculo de Barr

- Preparar los materiales: gasas, guantes

estériles, bajalenguas, porta y cubreobjetos, azul de metileno, gotero y servilleta.

- Limpiar con una gasa la mucosa del carrillo de una mujer y un hombre para quitar el contenido mucoide y restos de alimentos.
- Sin que la persona a la que se le toma la muestra cierre la boca, raspar firmemente con la ayuda de un bajalenguas el carrillo que limpió previamente para obtener una muestra de células. En este lugar las células se descaman con facilidad (epitelio de desgaste).
- Realizar un frotis en un portaobjetos, sin dejar secar la muestra colocar dos gotas de azul de metileno y colocar el cubreobjetos.
- Quitar el exceso de colorante con una servilleta y esperar 5 minutos.
- Fijar la muestra por squash (presión), teniendo cuidado de que el cubreobjetos no se desplace sobre el portaobjetos.
- Observar al microscopio óptico compuesto con el objetivo de 100x para lo cual agregamos previamente una gota de aceite de inmersión.
- En la muestra del varón no encontraremos el corpúsculo de Barr en las células. Sin embargo, en la mujer podremos identificar el corpúsculo en algunas células, se lo distingue por estar dentro del núcleo, cerca de la membrana nuclear con una coloración más intensa que el resto de componentes.

2.- Extracción del ADN

- Colocar en el mortero un hígado de pollo, agua fría en una proporción doble al hígado, moler hasta obtener una mezcla líquida de forma que se produzca una lisis celular a través del método mecánico.
- Filtrar la mezcla por un colador y depositarla en un vaso de precipitación. Agregar

detergente líquido a la mezcla en una proporción de 1/6 en comparación con la mezcla y dejar reposar de 5 a 10 minutos. Este procedimiento rompe la “tensión superficial” de la membrana celular que contiene lípidos y corresponde a otro método de lisis celular.

- Agregar una cucharadita de ablandador de carne o papaya licuada que actúan como enzimas proteolíticas (tercer método de lisis celular) y agitarlo suavemente para no dañar el ADN.
- Colocar un tercio en un tubo de ensayo sin ensuciar las paredes del mismo, Inclinarse el tubo 45° y verter el alcohol etílico frío lentamente de tal manera que forme una capa sobrenadante del mismo volumen de la mezcla anterior debido a que el alcohol es menos denso.
- Las proteínas y grasas que se lisaron permanecen en el fondo del tubo mientras el ADN aflora al sobrenadante y se observa como si fuera un algodón. Esto se produce porque el ADN deshidratado se purifica en

PREGUNTAS DE EVALUACIÓN

el alcohol.

1. ¿Cuál es el papel de los virus (virus del papiloma humano o virus de la hepatitis) sobre el ADN en la carcinogénesis?
2. Enumere 5 factores que pueden causar mutaciones en el ADN.
3. ¿Cuál es el gen alterado en la fibrosis quística?
4. ¿Cuál es la dotación cromosómica en el síndrome de Klinefelter? ¿Los pacientes afectados tienen corpúsculo de Barr?

5. ¿Pueden existir individuos con fenotipo masculino y cromosomas XX, así como individuos con fenotipo femenino y cromosomas XY? ¿Sí? ¿No? ¿Por qué?
6. ¿Qué son los genitales ambiguos? ¿En qué patologías pueden encontrarse?
7. ¿Qué son los hermafroditas?
8. En el momento del nacimiento, un neonato evidentemente de sexo masculino no tiene testículos en el escroto. Más tarde se descubre que están en la cavidad abdominal. ¿Qué nombre se da a esta anomalía? Explique su origen embriológico.
9. Se dice que los genitales externos de ambos sexos tienen homólogos. ¿Cuáles son y cuál es su origen embriológico?
10. Luego de varios años de intentar embarazarse, una joven busca asesoría. El examen revela la presencia de un útero bicorne. ¿A qué se debe la anomalía?

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE

Referencias Bibliográficas

1. Travers A, Muskhelishvili G. DNA structure and function. FEBS Journal. junio de 2015;282(12):2279-95.
2. Karp G, Iwasa J, Marshall W. Cell and Molecular Biology [Internet]. New York: Wiley; 2015 [citado 14 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://public.eblib.com/choice/PublicFullRecord.aspx?p=5106341>
3. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, editores. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. Ninth edition. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2015. 1391 p.
4. Lodish HF, editor. Molecular cell biology. 7th ed. New York: W.H. Freeman and Co; 2013. 1154 p.
5. Lewis R. Human genetics: concepts and applications. Eleventh edition. New York: McGraw-Hill Education; 2015. 1 p.
6. Smeets D. Analysis of the Barr body with super-resolution microscopy [PhD Thesis]. Eingereicht: Imu; 2013.
7. Kalantry S, Mueller JL. Mary Lyon: A Tribute. The American Journal of Human Genetics. octubre de 2015;97(4):507-11.
8. Sadler TW, Langman J. Embriología Médica. Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
9. McAninch JW, Lue TF, Smith DR, Pineda Rojas E. Smith and Tanagho Urología general. México: McGraw-Hill education; 2014.
10. Carlson BM. Embriología humana y biología del desarrollo. Barcelona: Elsevier; 2014.
11. Tortora GJ, Derrickson B. Principios de anatomía y fisiología. México; Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2013.
12. Turnpenny PD, Ellard S. Emery's elements of medical genetics. Edition 15. Philadelphia, PA: Elsevier; 2017. 400 p.
13. Soliz D, Jerves T, Encalada V, Chacón K, Guerrero A. Manual de Prácticas de Biología. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas; 2011
14. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson genetics in medicine. Eighth edition. Philadelphia: Elsevier; 2016. 546 p.

7

Práctica

Cromosomas y cariotipo

Materiales

- ✂ Microscopio óptico compuesto
- ✂ Fotografía de una metafase
- ✂ Tijeras
- ✂ Goma
- ✂ Cartulina

Muestras biológicas

- ✂ Placas de cromosomas

JUSTIFICACIÓN

La biología trata de explicar las bases moleculares de la vida, estudia los fenómenos biológicos de las moléculas que componen las células, por ello la importancia de conocer la estructura del ADN para comprender la función de los genes y su importancia como unidades de la herencia. El conocimiento de la estructura y función de los cromosomas permite al estudiante comprender las clásicas leyes de la herencia Mendeliana. Es importante conocer y analizar los cromosomas, mediante una imagen ordenada según el número, tamaño y forma, llamada cariotipo; el mismo permite determinar alteraciones numéricas y estructurales de los cromosomas. Muchas enfermedades tienen una base genética, por ello es necesario que los estudiantes reconozcan los cromosomas y su distribución en los diferentes grupos, mediante la realización de un cariotipo normal.

LOGROS DE APRENDIZAJE DE LA PRÁCTICA

- 🔗 Determina la estructura de la cromatina y los patrones de enrollamiento hasta cromosomas.
- 🔗 Reconoce la morfología y tamaño de los cromosomas humanos.
- 🔗 Identifica al microscopio los diferentes cromosomas humanos.
- 🔗 Comprende la importancia del cariotipo y cómo se debe realizarlo.

Cromosomas

Los cromosomas son los portadores de la mayor parte de la información genética. Están formados por cromatina, que consiste en fibras que contienen alrededor de 60% de proteínas, 35% ADN y 5% de ARN. Cuando una célula no se encuentra en división, la cromatina tiene forma de hilos largos; en el momento de la división celular, las fibras de cromatina se condensan. Los cromosomas son los portadores del material genético y condicionan la organización de la vida y las características hereditarias de cada especie. En los seres humanos se ha calculado aproximadamente 20.000 genes (1,2).

Cromosoma quiere decir “cuerpo coloreado”, debido a su capacidad de teñirse con diferentes colorantes (1). Una vez que se consiguió ver los cromosomas al microscopio mediante tinciones especiales, se descubrió una serie de propiedades:

- Los individuos de una misma especie tienen el mismo número de cromosomas, en la especie humana el número diploide de cromosomas es 46 (2n) y el número haploide es de 23(n) (2).
- Las células somáticas humanas normales tienen 46 cromosomas: 22 pares homólogos comunes a hombres y mujeres llamados autosomas, y el par sexual formado por 2 cromosomas idénticos en mujeres XX y en hombres dos cromosomas diferentes, un cromosoma X y un pequeño cromosoma Y.
- Las dos versiones de cromosomas idénticos se llaman cromosomas homólogos. Los cromosomas contienen a los genes, cada gen se localiza en un sitio del cromosoma llamado locus, se calcula que existen 20.000 genes distribuidos en los 46 cromosomas humanos; los genes abarcan alrededor del 10% del ADN nuclear. Las formas alternativas del gen se denominan alelos,

en cada cromosoma homólogo el alelo ocupa un lugar particular llamado locus (loci en plural) (3).

- Los cromosomas metafásicos (estando el DNA duplicado y la cromatina muy condensada) presentan una morfología característica, formados por dos componentes filamentosos, las cromátidas, unidos por el centrómero (3). A partir de las fotografías obtenidas en esta fase se crea el cariotipo, agrupando los cromosomas por parejas.

El material que forma los cromosomas es la cromatina

Las células pasan por un ciclo que comprenden 2 períodos: la interfase y la división celular. La molécula de ADN, asociada a proteínas y ARN, se denominan cromatina (1).

En la cromatina el ADN se enrolla alrededor de dos tipos de proteínas: histonas y no histonas. Las histonas, de carga eléctrica positiva, forman enlaces fuertes con el ADN de carga eléctrica negativa. Dos copias de cada una de las histonas nucleares nucleosómicas (H2A, H2B, H3 y H4) constituyen un octámero, o base del enrollamiento cromatínico. La cromatina así dispuesta adquiere una apariencia de “cuentas de collar”, cada cuenta y su ADN adyacente forma un nucleosoma, el cual sumado a la histona H1 forman el cromatosoma. Luego, los cromatosomas se enrollan sobre sí mismos y forman la fibra de cromatina 30 nm o solenoide que continúa enrollándose para formar bucles (dominios de bucle) que se unen a un andamiaje hecho de proteínas no histonas, las asas, en el cromosoma característico metafásico (4).

Funciones del ADN

- Almacenamiento de la información genética.
- Replicación y herencia.
- Expresión del mensaje genético.
- Evolución por mutación (4).

Estructura de los cromosomas

El cromosoma funcional posee tres elementos esenciales: un centrómero, un par de telómeros que le proporcionan estabilidad y múltiples orígenes de replicación. Miden de 1-8 μm (1). Su estructura comprende (1,5,6):

- a. **Centrómero:** constituye la región estrecha donde se angula el cromosoma y los brazos de éste se encuentran. Está formado por heterocromatina constitutiva, siendo el sitio en donde las cromátidas hermanas se unen durante la mitosis y meiosis.
- b. **Cromatina:** es el filamento estructural de los cromosomas, formado por DNA unido a histonas y no histonas.
- c. **Brazos:** brazo corto denominado con la letra p (del francés *petite*) y el brazo largo denominado con la letra q
- d. **Telómeros:** porciones distales del cromosoma, donde el ADN tiene una secuencia de nucleótidos especial que determina el número de replications celulares, desempeñando un papel fundamental en el envejecimiento y cáncer (7).
- e. **Constricciones secundarias:** originan zonas aisladas en los extremos del cromosoma satélites.
- f. **Cinetocoro:** estructura proteica localizada en la parte externa del centrómero que permite el anclaje de los microtúbulos del huso, durante los procesos de división celular (meiosis y mitosis).

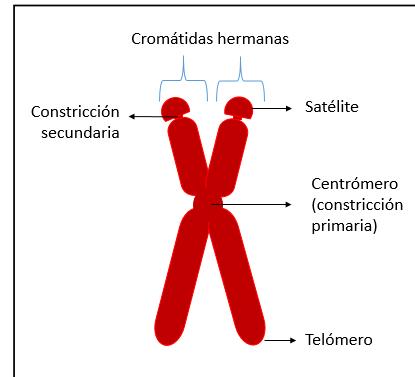


Ilustración 24. Estructura de un cromosoma.
Elaborado por: los autores.

En la práctica se utiliza una nomenclatura estandarizada para localizar los genes dentro de sus respectivos cromosomas. Como ejemplo, tomaremos a la fibrosis quística, trastorno del transporte de iones en las células epiteliales, que afecta a la secreción de líquido en las glándulas exocrinas y el revestimiento epitelial de los aparatos respiratorio, digestivo y reproductor. El defecto principal en la fibrosis quística se relaciona con una función anormal de una proteína de los canales del cloro epiteliales codificada por el gen del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR) en el cromosoma 7q31.3 (Ilustración 25), lo que significa que el gen mutado ocupa el puesto (región) 3, banda 1, subbanda.3 en base a la cartografía o mapeo genético, en el brazo largo del cromosoma (7,8).

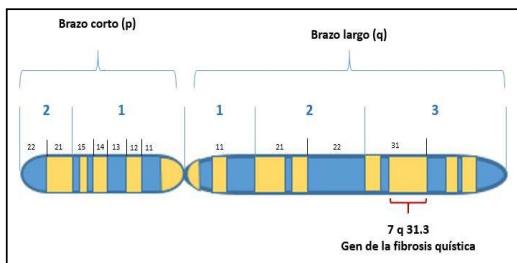


Ilustración 25. Localización cromosómica del gen CFTR.
Elaborado por: los autores

Tabla 7. Clasificación de los cromosomas			
Metacéntricos	Submetacéntricos	Acrocéntricos	Teocéntricos
El centrómero está ubicado más o menos en el centro, es decir, los brazos cortos y largos tienen similar longitud.	El centrómero está más próximo a uno de los extremos (los brazos difieren en longitud). Relación 5-3.	El centrómero está muy cerca de uno de los extremos (el brazo corto es muy pequeño). Relación 5-1.	Con el centrómero en un extremo, este cromosoma solo tiene brazos largos. No existen en la especie humana (2).

Elaborado por: los autores

Clasificación de los Cromosomas

Los cromosomas se clasifican, de acuerdo a la posición del centrómero, según como se explica en la Tabla 7.

Estudio de los cromosomas

Actualmente es posible identificar a los cromosomas metafásicos utilizando técnicas o métodos de tinción. Éstos exhiben bandas claras y oscuras intercaladas a lo largo de sus ejes longitudinales. Las técnicas de bandeado cromosómico más utilizadas son las siguientes (Tabla 8) (2,5,9):

Tabla 8. Técnicas empleadas para el estudio de los cromosomas.	
Bandeo R	Tinción con Giemsa previo tratamiento con calor. Tiñe extremos de los cromosomas.
Hibridación Fluorescente In Situ (FISH).	Cromosomas se marcan de manera que pueda ser vistos fluorescentes (muy brillante) utilizando un microscopio especial (10-13).
Bandeo Extendido	Cromosomas se alargan un poco, por lo que se pueden ver más bandas. Esto permite observar partes más reducidas e identificar anomalías cromosómicas estructurales más pequeñas (10).

Elaborado por: los autores.

Cariotipo

Se denomina cariotipo al juego completo de cromosomas que posee un organismo, representa a los característicos cromosomas metafásicos alineados y ordenados según su tamaño (7).

Los cromosomas condensados de una célula humana que se encuentra en división pueden visualizarse con más facilidad en metafase mediante un microscopio luego de teñirlos (11). Los cromosomas se distinguen como estructuras delgadas y alargadas, con dos brazos separados por el centrómero, con un brazo corto y un brazo largo.

En el cariotipo humano los cromosomas se ordenan de acuerdo con sus tamaños y las posiciones de los centrómeros. Los cromosomas condensados, que se ven como estructuras individuales, pueden ser fijados, fotografiados, aislados, clasificados y ordenados; el conjunto de estos cromosomas ordenados según criterios preestablecidos recibe el nombre de cariotipo (12). Se encuentran cromosomas grandes, medianos, pequeños y muy pequeños. Al ordenar los cromosomas se constituyen 7 grupos atendiendo no sólo al tamaño sino también a la forma de las parejas cromosómicas, dentro del cariotipo humano podemos encontrar cromosomas metacéntricos, submetacéntricos y acrocéntricos (2)

Procedimiento para realizar un cariotipo

El examen se puede realizar en una muestra de sangre, de médula ósea, de líquido amniótico o de tejido placentario (14,15).

1. Obtención de la muestra: 48 a 72 horas previas al examen.
2. Cultivo y colchicinado: se vierte a la muestra 5 gotas de fitohemaglutinina, que es una glucoproteína que estimula la proliferación de los linfocitos. Se incuba a 37°C durante 72 horas luego de lo cual se realiza el colchicinado; se añade al cultivo 4 gotas de colchicina y se deja actuar durante 90 minutos, esta tiene acción antimitótica y detiene a las células en metafase al impedir la polimerización de los microtúbulos

del huso mitótico.

3. Recogida del cultivo:
 - a. Centrifugar el cultivo a 1.000 rpm durante 10 minutos, desechar el sobrenadante, añadir 6 ml de solución hipotónica KCl y dejar actuar por 15 minutos, para hemolizar los eritrocitos e hinchar los linfocitos.
 - b. Centrifugar nuevamente a 1.000 rpm durante 10 minutos eliminar el sobrenadante y añadir 4ml de fijador de Carnoy y dejar reposar durante 20 minutos, repetir este paso 2 veces más.
 - c. Posteriormente dejar caer 3 gotas de la suspensión celular en un portaobjetos y esperar hasta que este seco
4. Tinción de las preparaciones: cubrir la placa con Giemsa al 4% en tampón fosfato pH 6.8, durante 15 minutos, lavar las placas con agua destilada y dejar secar. Se observan al microscopio y se buscan las metafases con el lente de inmersión, se evalúa morfología, tamaño y posición del centrómero.

Para la elaboración del cariotipo se parte de la fotografía de una buena metafase. Los cromosomas se recortan y se pegan ordenándolos por parejas tomando en cuenta los grupos, mismos que se detallan en la Tabla 9. Ejemplo: se inicia buscando los cromosomas más grandes y metacéntricos que pertenecen al grupo A que corresponden a los primeros 3 pares (14). En la Ilustración 26 se expone

un cariotipo normal.

Tabla 9. Agrupación de los cromosomas en el cariotipo humano.	
Grupo	Cromosomas
A: Grandes Metacéntricos	1,2,3
B: Grandes submetacéntricos	4,5
C: Medianos metacéntricos y submetacéntricos	6,7,8,11 9,10,12,X
D: Medianos acrocéntricos	13,14,15
E: Pequeños metacéntricos	16,17,18
F: Muy pequeños metacéntricos	19,20
G: Muy pequeños acrocéntricos	21,22,Y

Elaborado por: los autores.

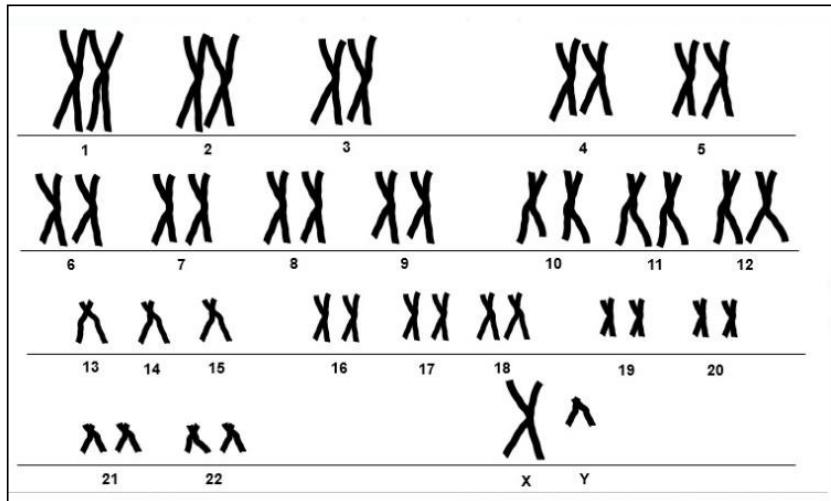


Ilustración 26. Cariotipo normal.
Fuente: los autores.

APLICACIONES CLÍNICAS

Las anomalías cromosómicas, numéricas y estructurales, son causa importante de enfermedades congénitas y abortos espontáneos. Aproximadamente, el 50% de las concepciones termina en aborto espontáneo y de estos, el 50% presenta alteraciones cromosómicas. Así, alrededor de 25% de los embriones posee defectos cromosómicos importantes, siendo responsables de hasta un 10% de alteraciones congénitas, mientras las mutaciones genéticas lo son de un 8% adicional (17). Se puede realizar un cariotipo para diagnosticar enfermedades causadas por alteraciones numéricas de los cromosomas, tanto euploidías como aneuploidías (síndrome de Down, de Patau, de Edwards, de Turner, entre otros). La mayoría de estas anomalías provocan

deficiencias y muchos individuos no llegan a nacer o mueren en los primeros meses de vida (2, 11, 17, 18).

PROCEDIMIENTOS

1.- Observación de los cromosomas.

Con la lente de inmersión enfocar las placas e identificar los cromosomas en metafase.

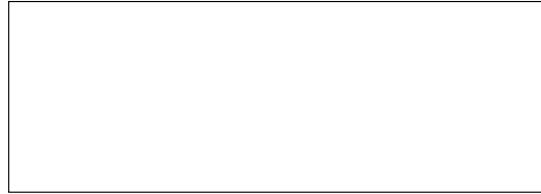
2.- Elaboración del cariotipo.

Recortar los cromosomas del Anexo 1 y formar el cariotipo: determinar el sexo y la presencia de anomalías numéricas.

PREGUNTAS DE EVALUACIÓN

- 1.- Dibujar un cromosoma y rotular el nombre de sus distintos componentes.
- 2.- Describir cómo se forma un cromosoma a partir del ADN.
- 3.- ¿Qué se entiende por cariotipo?
- 4.- Investigar un cariotipo de una célula cancerosa y mencionar las principales alteraciones respecto al cariotipo normal.
- 5.- ¿De dónde se pueden obtener muestras para la elaboración de un cariotipo?
- 6.- ¿Qué alteración en el cariotipo esperaría en un paciente con síndrome de Patau?
- 7.- Realizar un cromosoma en formato A4 y ubicar 5 loci correspondientes a los genes defectuosos de las siguientes patologías:
 - Esferocitosis hereditaria
 - Galactosemia
 - Hiperplasia suprarrenal congénita
 - Neurofibromatosis
 - Poliquistosis renal
- 8.- Investigar 4 aplicaciones del cariotipo en la medicina.
- 9.- Investigar las causas de las alteraciones en el cariotipo Humano.

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE



Referencias bibliográficas

1. Karp G, Iwasa J, Marshall W. Cell and Molecular Biology [Internet]. New York: Wiley; 2015 [citado 14 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://public.ebib.com/choice/PublicFullRecord.aspx?p=5106341>
2. Lewis R. Human genetics: concepts and applications. Eleventh edition. New York: McGraw-Hill Education; 2015. 1 p.
3. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell [Internet]. 4th ed. New York: Garland Science; 2002 [citado 18 de julio de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26847/>
4. Simpson B, Basit H, Al Aboud NM. Genetics, DNA Packaging. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [citado 18 de julio de 2020]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534207/>
5. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, editores. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. Ninth edition. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2015. 1391 p.
6. Lodish HF, editor. Molecular cell biology. 7th ed. New York: W.H. Freeman and Co; 2013. 1154 p.
7. Pierce BA. Genética: un enfoque conceptual. Madrid [etc.]: Editorial Médica Panamericana; 2016.
8. Ortigosa L. Cystic fibrosis: Diagnosis. Colomb Médica. marzo de 2007;38(1):41-9.
9. La célula. Ampliaciones. Cromosomas. Atlas de Histología Vegetal y Animal [Internet]. [citado 2 de junio de 2019]. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/ampliaciones/8-cromosomas.php>
10. Stanford Children's Health [Internet]. [citado 7 de abril de 2019]. Disponible en: <https://www.stanfordchildrens.org/es/topic/default?id=estudios-cromosomicos-el-cariotipo-el-bandeo-extendido-la-hibridacion-fluorescente-in-situ-fish-90-P05224>
11. DE ROBERTIS, Edward M. / HIB, José. Biología celular y molecular. 16ª. Buenos Aires: Promed; 2012.
12. Nussbaum RL, McInnes RR, Williard HF, Thompson JS, Thompson MW. Thompson & Thompson genética en medicina. Barcelona: Elsevier; 2016.
13. Hibridación Fluorescente in Situ (HFIS o FISH) [Internet]. CancerQuest. [citado 2 de junio de 2019]. Disponible en: <http://www.cancerquest.org/index.php/es/para-los-pacientes/deteccion-y-diagnosis/hibridacion-fluorescente-situ>
14. Soliz D, Jerves T, Encalada V, Chacón K, Guerrero A. Manual de Prácticas de Biología. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas; 2011.
15. Genética humana [Internet]. [citado 2 de junio de 2019]. Disponible en: <http://www.ecociencia.cl/articulos/cariotipo.htm>

8

Práctica

Mitosis

Materiales

- ✂ Servilletas.
- ✂ Tubo de ensayo
- ✂ Pinza de madera
- ✂ Bisturí
- ✂ Mechero de alcohol
- ✂ Gotero
- ✂ Portaobjetos
- ✂ Cubreobjetos
- ✂ Microscopio óptico compuesto
- ✂ Aceite de inmersión
- ✂ Guantes

Muestras biológicas

- ✂ Raicillas de cebolla en germinación

Reactivos

- ✂ Orceína acética al 20%

JUSTIFICACIÓN

La capacidad de los organismos para reproducirse y mantener su especie es una de las mejores características que distingue a los organismos vivos de lo no vivo. Esta capacidad de procrear tiene una base celular como explicó Virchow en 1855; “donde una célula existe debe haber una célula progenitora.”

LOGROS DEL APRENDIZAJE DE LA PRÁCTICA

- 🔗 Reconoce las fases de la mitosis en placas de raicillas de cebolla.
- 🔗 Determina los principales mecanismos de reproducción celular.
- 🔗 Diferencia los tipos de reproducción de las células somáticas y gametos.
- 🔗 Infiere los fundamentos del proceso de carcinogénesis con base en la fisiología de la reproducción celular.

Reproducción celular

La reproducción celular es el proceso mediante el cual se forman descendientes a partir de un progenitor/es (1,2). Existen dos variedades de reproducción celular:

- **Asexual:** no intervienen gametos de dos progenitores, originándose dos células hijas con el mismo material genético que la madre, siendo propia de los organismos unicelulares, puede ser (1,3):
 - Directa: una sola célula madre se divide en dos (división simple; bacterias), genera esporas (esporulación; bacterias y hongos), o forma yemas (gemación; poríferas) y dando lugar a dos organismos o más.
 - Indirecta: mitosis, las células hijas poseen genes idénticos a los de la progenitora.
- **Sexual:** requiere dos progenitores, y en consecuencia, sus gametos, los cuales se fusionan generando un cigoto, que gracias a varias mitosis origina las células de todo el organismo, propia de los organismos multicelulares (1,4).

Mitosis

Es el proceso mediante el cual las células somáticas se dividen, incluyendo el núcleo (1,5).

Antes de que la célula entre en mitosis el ADN debe replicarse durante la fase S del ciclo celular. La distribución final del ADN es posible gracias a la formación de cromosomas y la posterior separación de sus cromátidas hermanas, las cuales se reempaquetan en 2 juegos completos de cromosomas en los núcleos de las células hijas (2,5).

Ciclo celular

Es la serie de eventos comprendidos entre dos divisiones celulares, que incluye crecimiento, maduración, metabolismo y no únicamente la división, siendo la mitosis solo una pequeña parte de él (Ilustraciones 27 y 28) (2,5).

Se compone de dos estadios: interfase (90%) y división. En la interfase la célula realiza su función y se duplican todos sus componentes (2,5). La interfase se divide a su vez en (5):

- **G1:** inmediatamente luego de la mitosis, la célula reinicia la síntesis de proteínas, lípidos y carbohidratos. Este es el período con mayor variación en la duración del mismo.
- **S:** la célula duplica el ADN.
- **G2:** aumenta la síntesis de proteínas y se prepara para la división

La división celular puede llevarse a cabo por mitosis (fase M), en el caso de las células somáticas, o meiosis, en el caso de los gametos.

Algunas células pueden “salirse” del ciclo celular en la fase G1 entrando en una fase de quiescencia llamada G0, donde continúan con sus funciones, pero no se replican. De aquí pueden “reingresar” en el ciclo celular o morir (apoptosis) (1,2,5).

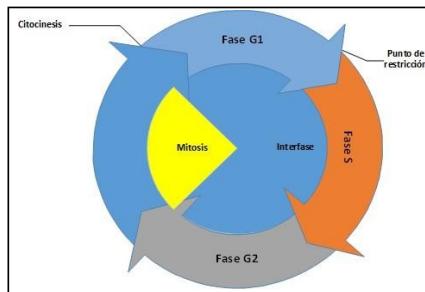


Ilustración 27. Ciclo celular.

Elaborado por: los autores.

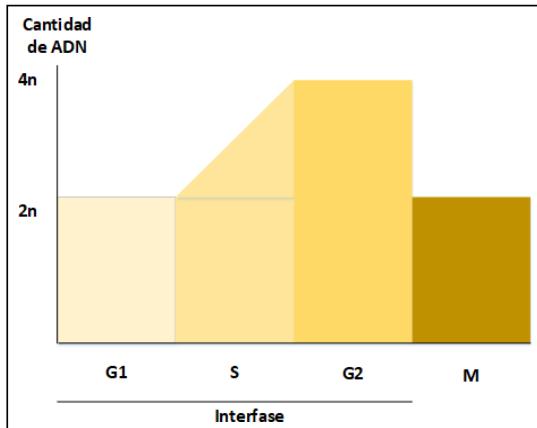


Ilustración 28. Ciclo celular (cantidad de ADN).
Elaborado por: los autores.

Aparato Mitótico

Cuando la célula ingresa a la mitosis, los microtúbulos (tubulina) del citoesqueleto se desensamblan por desactivación de las proteínas estabilizadoras para formar el huso mitótico (2).

El huso empieza a ensamblarse desde el centrosoma, que está compuesto por 2 centriolos. En la fase S cada centriolo se replica, dando un total de 2 centrosomas, cada uno de los cuales migrará a cada polo celular (1,2). Algunas células animales y las vegetales carece de centrosomas (2).

Los filamentos del huso son de tres tipos (1,2):

- **Cinetocóricos:** parten desde un centrosoma (en un polo) y se unen a los cinetocoros del cromosoma.
- **Polares:** van desde un polo a otro, entrecruzándose con los del polo opuesto en la parte media de la célula y provocando la elongación de la misma.

- **Astrales:** parten desde el centrómero en toda dirección (formando la corona solar). Permiten la ubicación correcta del centrómero en su polo respectivo.

Durante la prometafase algunos microtúbulos se unen a los cinetocoros, y al separarse las cromátides hermanas, el cromosoma se dirige hacia el polo de donde vienen los mismos gracias al acortamiento por despolimerización y a la presencia de proteínas “motoras” (2).

Fases de la Mitosis

La mitosis está dividida en 5 subfases:

- **Profase:** el ADN se condensa formando los cromosomas, con dos cromátides unidas debido a la replicación previa. Los centriolos migran a los polos y se forma el huso mitótico. Todo el sistema de endomembranas se fragmenta en vesículas, y debido a la desorganización del citoesqueleto la célula pierde su forma original y se hace esférica (1,2).
- **Prometafase:** es la transición entre profase y metafase. Se desintegra la envoltura nuclear y los cromosomas se dispersan. Las fibras cinetecóricas se unen a los centrómeros y las polares se extienden para entrecruzarse con sus similares provenientes del polo opuesto (1,2).
- **Metafase:** los cromosomas se alinean en el plano ecuatorial. En este punto están máximamente condensados y por lo tanto son más visibles. Los centrómeros se orientan hacia los polos de la célula mirando a los respectivos centrosomas (1,2).

- **Anafase:** los centrómeros se dividen y las cromátides (cromosomas simples) son arrastradas a los polos opuestos, adoptando la forma de una V (2).
- **Telofase:** los cromosomas llegan a los polos de sus respectivos husos, se reconstituye la envoltura nuclear, los cromosomas se desenrollan formando la cromatina (1,2).

Citocinesis

Es el proceso de separación del citoplasma con la consecuente reorganización de los organelos y el sistema de endomembranas. También se restablece el citoesqueleto (1,5). La membrana comienza a constreñirse alrededor de la circunferencia de la célula, formándose un anillo contráctil de miosina y actina y dejando un puente citoplasmático entre células hijas.

Regulación del ciclo celular

Todas las células tienen un “reloj molecular” que determina cuando deben dividirse. Para esto, cuenta con diversas moléculas proteicas (2,6). Los dos “engranajes” de este reloj son (2):

- Ciclinas: llamadas así porque alternan períodos de síntesis con períodos de degradación.
- Quinasas dependientes de las ciclinas (CDK): actúan cuando son activadas por las ciclinas fosforilando moléculas cruciales para la división celular. Si la ciclina es baja, la cinasa permanece desactivada. Se identificaron dos principales: cdc2 (ciclo de división celular) y cdk2 (quinasa dependiente de la ciclina).
- Otras moléculas: P53, P21, P16.

Telómeros y telomerasa: los telómeros se acortan cada vez que la célula se divide y este mecanismo “cuenta” el número de divisiones. Cuando están demasiado cortos, la célula pierde su capacidad mitótica. En células inmortales, la enzima telomerasa evita que los telómeros se acorten reemplazando las

secuencias de ADN perdidas, y entonces si los telómeros son de tamaño constante se preserva la capacidad de división (2,6,7).

Estímulos que regulan la reproducción celular

• **Estímulos Internos**

- Factores de crecimiento: producto de la secreción paracrina y endocrina: factores de crecimiento fibroblásticos (FGF), plaquetarios (PDGF) y epidérmico (EGF), que estimulan la proliferación de diferentes tipos celulares (8).
- Somatomedina: estimula la proliferación de células cartilaginosas durante el crecimiento óseo. Se sintetiza en el hígado en respuesta a la hormona de crecimiento hipofisaria (8).
- Eritropoyetina: sintetizada en los riñones, estimula la proliferación de glóbulos rojos en la médula ósea (8).
- Citoquinas (8-10).

• **Estímulos Externos**

- Cambios en la temperatura y el pH.
- Disminución de los niveles de nutrientes (9).
- Fármacos: colchicina y antimicrobianos (9).

Regulación y Cáncer

El cáncer consiste en el crecimiento excesivo y descontrolado de células anormales, que tienen la capacidad de invadir y dañar tejidos y órganos (7). La carcinogénesis o aparición de un cáncer es el resultado de dos procesos sucesivos (7):

- Aumento de la proliferación de un grupo celular que da lugar a un tumor o neoplasia.
- Adquisición por estas células de capacidad invasiva, para diseminarse desde su sitio natural en el organismo y colonizar y proliferar en otros tejidos u órganos (metástasis).

Existen genes que en sus versiones “sanas” están relacionados con el control de crecimiento y supervivencia celular y cuando se alteran determinan la aparición de ciertos tipos de cánceres (7). Entre ellos se encuentran:

- Protooncogenes: genes que estimulan la proliferación celular. Su mutación origina un oncogén que da lugar a la reproducción excesiva y descontrolada (7).
- Genes supresores tumorales: inhiben la producción anormal de células. Un defecto en estos genes elimina los frenos a la proliferación, generan cuadros cancerosos (7).

APLICACIONES CLÍNICAS

- Neoplasias benignas y malignas como resultado de procesos de desregulación del ciclo celular.
- Cáncer: mecanismos de génesis, desarrollo y posibilidades terapéuticas a través del control de la división celular.
- Telómeros y telomerasa, su relación con el envejecimiento celular y cáncer.

PROCEDIMIENTOS

1.- Colocar las cebollas frescas en un vaso de boca angosta con agua que cubra solo la parte inferior de la cebolla.

2.- Mantenerlas en un lugar oscuro durante 7 días o hasta que aparezcan raicillas largas y blancas.

3.- Para transportar la cebolla no sacarla del agua ya que se desecarán (transportarlas en un recipiente con agua).

4.- Al momento de realizar la experimentación sacar la cebolla del agua y cortar la porción distal de las raicillas (2-3 cm) y colocarlas en el tubo de ensayo.

5.- Luego añadir 3 mL de orceína acética.

6.- Calentar en el mechero hasta que hierva y retirar del fuego durante 20 segundos, repetir este procedimiento dos veces más con cuidado de no regar el colorante.

7.- A continuación, sacar las raicillas y cortar los ápices (5 mm) colocar cada una en un portaobjetos, pues es aquí donde existen mayor cantidad de células en mitosis.

8.- Cubrir la preparación con una gota adicional de orceína y un cubreobjetos, colocar entre una servilleta doblada y presionar digitalmente (squash) para fijar, el éxito de la preparación depende de que no se corra el cubre sobre el portaobjetos.

9.- Observar al microscopio primero con el objetivo de 10x y luego con el lente de inmersión.

10.- Identificar las diferentes fases de la mitosis.

11.- Determinar cuál es la fase que con más frecuencia se observa y a qué se debe.

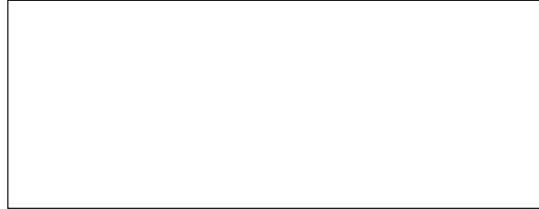
12.- Observar el aspecto de la cromatina en las

diferentes fases

PREGUNTAS DE EVALUACIÓN

- 1.- ¿Qué tipo de bacterias se dividen por esporulación?
- 2.- Dibuje las fases de la mitosis.
- 3.- Investigue cómo actúa P53 en la prevención de la proliferación celular anormal.
- 4.- ¿Cáncer, neoplasia y tumor significan lo mismo?
¿Sí?
¿No? ¿Por qué?
- 5.- ¿Cuál es el cáncer más prevalente a nivel mundial?
- 6.- Enumere los 3 tipos de cánceres con más prevalencia tanto en hombres como en mujeres en nuestro país
- 7.- Elabora un cuadro comparativo entre neoplasias benignas y malignas.
- 8.- ¿El cáncer se hereda? ¿Sí? ¿No? ¿Por qué?
- 9.- Investigue 2 antineoplásicos y su mecanismo de acción.
- 10.- ¿Qué es la clasificación TNM?

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE



Referencias Bibliográficas

1. Turnpenny PD, Ellard S. Emery's elements of medical genetics. Edition 15. Philadelphia, PA: Elsevier; 2017. 400 p.
2. Karp G, Iwasa J, Marshall W. Cell and Molecular Biology [Internet]. New York: Wiley; 2015 [citado el 14 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://public.ebib.com/choice/PublicFullRecord.a.spx?p=5106341>
3. Audesirk T, Audesirk G, Byers BE. Biología: la vida en la Tierra. México [etc.: Pearson Educación; 2008.
4. Sadler TW, Langman J. Embriología Médica. Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
5. Lewis R. Human genetics: concepts and applications. Eleventh edition. New York: McGraw- Hill Education; 2015. 1 p.
6. Abizanda Soler P, Rodríguez Mañas L. Tratado de medicina geriátrica: fundamentos de la atención sanitaria a los mayores. Barcelona, España: Elsevier; 2015.
7. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, editores. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. Ninth edition. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2015. 1391 p.
8. Hall JE. Guyton and Hall textbook of medical physiology. 13th edition. Philadelphia, PA: Elsevier; 2016. 1145 p.
9. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology. 7th Edition. Philadelphia: Elsevier/Saunders; 2013. 874 p.
10. Soliz D, Jerves T, Encalada V, Chacón K, Guerrero A. Manual de Prácticas de Biología. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas; 2011

9

Práctica

Gametos humanos y fecundación

Materiales Reactivos

- ✘ Microscopio óptico compuesto
- ✘ Gotero
- ✘ Portaobjetos
- ✘ Cubreobjetos
- ✘ Guantes de manejo
- ✘ 2 Pruebas de embarazo
- ✘ Muestras de orina de mujer embarazada y no embarazada.

Muestras biológicas

- ✘ Muestra de semen fresco

Reactivos

- ✘ Lugol
- ✘ 1 limón
- ✘ Bicarbonato

JUSTIFICACIÓN

El proceso mediante el cual se forman los óvulos y los espermatozoides se denominan ovogénesis y espermatogénesis respectivamente (en conjunto, gametogénesis) (1,2).

Los gametos humanos son células haploides, con 23 cromosomas (n), que, al momento de la fecundación, reconstituirán un cigoto con 46 cromosomas ($2n$), permitiendo así la continuación de la especie (1–3).

LOGROS DE APRENDIZAJE DE LA PRÁCTICA

- 🔗 Diferencia los gametos masculino y femenino según sus características morfofisiológicas.
- 🔗 Conoce las características de un seminograma normal.
- 🔗 Utiliza adecuadamente la prueba de embarazo y entiende sus bases fisiológicas.

Espermatogénesis

Es el proceso mediante el cual se forman los espermatozoides. Ocurre en los testículos (túbulos seminíferos), donde se encuentran las espermatogonias y dura entre 65 y 75 días. Cada día 300 millones de espermatozoides completan el proceso (1,2).

Las espermatogonias son células madre diploides que se diferencian en espermatocitos primarios (2n) y luego de la primera división meiótica generan dos espermatocitos secundarios (n), los cuales al completar la segunda división meiótica producen en total 4 espermátides que finalmente se transformarán en 4 espermatozoides (n), como se esquematiza en la Ilustración 29 (1-3). A medida que las células espermatogénicas proliferan, no completan la citocinesis y permanecen en contacto por medio de puentes citoplasmáticos (2).

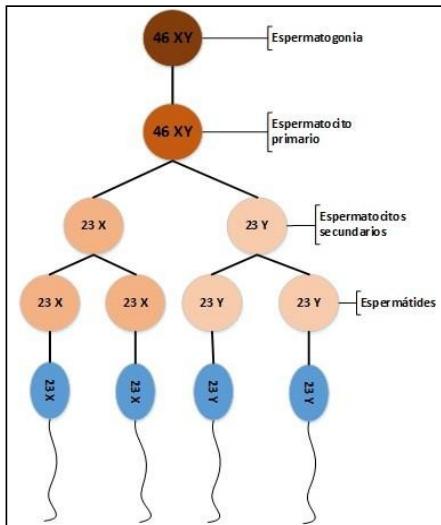


Ilustración 29. Espermatogénesis.
Elaborado por: los autores.

Estructura de los espermatozoides

Los espermatozoides están formados por:

- Cabeza: aplanada y piriforme, mide 4-5 μm . Su parte anterior se encuentra cubierta por el acrosoma y en su interior se encuentra el núcleo (1,4-6).
- Cuello: llamado también pieza intermedia, mide alrededor de 5 μm y presenta una gran cantidad de mitocondrias que aportan la energía necesaria para el movimiento además de los centriolos que formarán los microtúbulos (1,4-6).
- Cola: mide aproximadamente 35 μm y permite el desplazamiento. Tiene la misma estructura de un flagelo (9 tripletes de microtúbulos y un par central) (1,4-6).

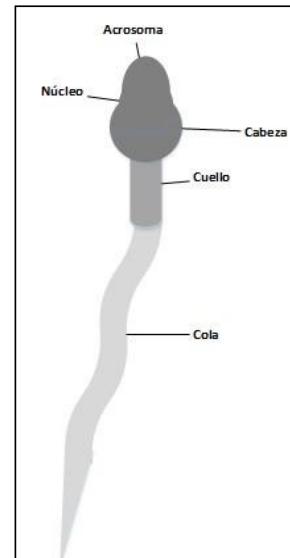


Ilustración 30. Estructura del espermatozoide.
Elaborado por: los autores.

Eyacuación

Es la expulsión de semen a través de los conductos deferentes y la uretra hacia el exterior, provocado por la contracción del epidídimo y los músculos perineales gracias a la estimulación simpática. Por cada eyacuación se expulsa alrededor de 1,5-6 mL de semen (7,8).

Semen

Es un líquido lechoso y mucoso de color blanco o levemente amarillo, con un pH de 7,5. Está compuesto por: espermatozoides (10%), líquido seminal (60%) y líquido prostático (30%). Además, contiene moco proveniente de las glándulas bulbouretrales, ácido cítrico, ácido ascórbico, fosfatasa alcalina, prostaglandinas, fructosa, etc. (7–9).

Seminograma normal

Este examen complementario analiza la capacidad reproductiva del hombre, ya que permite estudiar a los espermatozoides. Para realizar un seminograma es necesaria abstinencia sexual de 3 a 7 días, previo al examen (8,9). Los datos más relevantes que se observan en la prueba se describen en la Tabla 10 (8):

Tabla 10. Valores de referencia del seminograma.	
Parámetro	Valor normal
Volumen eyaculado	1,5 - 6 mL
pH del semen	7,2 – 8
Concentración de espermatozoides	>20 millones/mL
Conteo total de espermatozoides	>40 millones
Morfología normal	>50%
Viabilidad o espermatozoides vivos	>50%
Movilidad mm/mio	2,3 - 2,5

Elaborado por: los autores

Alteraciones de los espermatozoides

Existen varias etiologías para ciertas alteraciones en el seminograma. Entre las principales tenemos (8–10):

- Oligozoospermia: poca cantidad de espermatozoides (menor a 20 millones por mililitro).
- Azoospermia: ausencia de espermatozoides en el semen. Puede ser por obstrucción de los conductos por donde son expulsados o por déficit en su producción.
- Hipoespermia: poca cantidad de semen.
- Polispermia: volumen elevado de semen.
- Teratozoospermia: espermatozoides con formas anormales.
- Astenozoospermia: los espermatozoides tienen poca movilidad.

Ovogénesis

La ovogénesis es el proceso por el cual se forma el óvulo (Ilustración 31). Tiene lugar en la corteza ovárica, donde se encuentran las células primordiales, llamadas ovogonias (2n), que se transforman en ovocitos primarios (2n) y se rodean de una capa de células foliculares, constituyendo el folículo primordial. Luego los ovocitos inician la profase de la primera división meiótica y esta se finaliza después de la pubertad (1,2,4,11).

En la pubertad, los folículos primordiales maduran, solo uno cada mes. El ovocito primario da lugar al ovocito secundario (n) y al primer cuerpo polar. Si este ovocito secundario es fecundado se lo denomina óvulo, caso contrario, es expulsado o reabsorbido en el organismo (1,2).

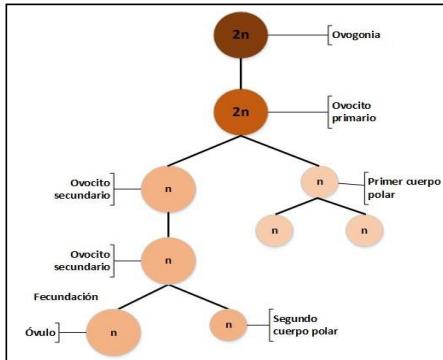


Ilustración 31. Ovogénesis.
Elaborado por: los autores.

Características del óvulo

El óvulo mide alrededor de 150–200 μm y está formado por las siguientes estructuras (1,4):

- Núcleo: contiene el genoma materno. No todos los óvulos u ovocitos están en la misma fase de reducción meiótica al fecundarse.
- Membrana citoplasmática: fundamental en el intercambio de iones y porque ha de fusionarse con la membrana plasmática del espermatozoide.
- Zona pelúcida: fuera de la membrana citoplasmática, está formada fundamentalmente por glucoproteínas.
- Corona radiada: corresponden a las células foliculares del ovario.

Fecundación

La fecundación es el proceso de unión de los gametos

células del cuerpo humano. La fecundación dura alrededor de 24 horas y sus resultados son (2,11,12):

- Restauración del número de cromosomas.
- Determinación del sexo según los cromosomas sexuales (XX mujer y XY varón).
- Estimulación de la segmentación del cigoto.

APLICACIONES CLÍNICAS

Los gametos humanos cumplen una función primordial dentro del proceso de la reproducción. Por lo tanto, cualquier alteración presente en ellos o en las estructuras anatómicas relacionadas a los mismos podría ocasionar problemas de infertilidad y esterilidad en la pareja. Ya que la ovogénesis se mantiene durante años, la formación del óvulo conlleva un mayor riesgo de no disyunción y, por lo tanto, de aneuploidías. Mientras que, por el contrario, las espermatogonias se dividen frecuentemente a través de la mitosis la frecuencia de mutaciones puntuales es más común en los espermatozoides (3).

PROCEDIMIENTOS

1.- Observación del semen y espermatozoides.

- a) Observar e identificar las características macroscópicas del semen: cantidad eyaculada,

femenino y masculino para dar origen a un nuevo ser

color, olor y viscosidad.

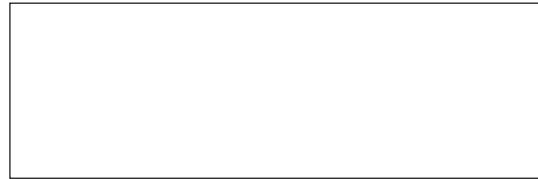
- b) Colocar en un portaobjetos una gota de semen humano y observar en el microscopio.
- c) Luego colocar en distintas muestras de semen, una gota de ácido clorhídrico, bicarbonato y lugol respectivamente y observar que sucede con los espermatozoides en cada uno de los casos.

- 2.- Observación de una placa de corte de ovario.
a) Observar los folículos en diferentes grados de maduración.
- 3.- Realización de una prueba de embarazo.
a) Para ello es necesario conseguir con anticipación una muestra de orina de una mujer embarazada.
b) Aclarar la razón de la positividad de la prueba.
c) Las pruebas de embarazo vienen en diferentes presentaciones, pero todas con el mismo principio, poseen anticuerpos anti-hCG, que permiten detectar la presencia de la hormona en la orina, ya que la misma es producida en un inicio por cuerpo amarillo del ovario y durante el período de gestación, por la placenta (sincitiotrofoblasto) (8).

7.- ¿Cuáles son las tres fases de la fecundación y qué reacciones ocurren una vez concluida la fusión de las membranas del espermatozoide y del ovocito?

8.- ¿Cuáles son las causas principales de la infertilidad en varones y mujeres?

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE



PREGUNTAS DE EVALUACIÓN

- 1.- Dibuje las anomalías morfológicas que se pueden presentar en los espermatozoides.
- 2.- ¿En qué consisten los teratomas?
- 3.- ¿Qué es la enfermedad trofoblástica gestacional?
- 4.- ¿Qué es la eyaculación precoz?
- 5.- ¿Qué es el embarazo ectópico? ¿Cuál es su clasificación?
- 6.- Investigue el fundamento químico para la prueba de embarazo.

Referencias Bibliográficas

1. Tortora GJ, Derrickson B. Principios de anatomía y fisiología. México; Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2013.
2. Sadler TW, Langman J. Embriología Médica. Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
3. Carlson BM. Embriología humana y biología del desarrollo. Barcelona: Elsevier; 2014.
4. Ovalle WK, Nahirney PC, Netter FH. Netter's essential histology. 2nd ed. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2013. 517 p.
5. Montuenga Badía L, Calvo González A, Esteban Ruiz FJ. Técnicas en histología y biología celular. Barcelona: Elsevier Masson; 2014.
6. Ross MH, Pawlina W, Negrete J. Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular. Buenos Aires, Madrid [etc.: Editorial Médica Panamericana; 2011.
7. Hall JE. Guyton and Hall textbook of medical physiology. 13th edition. Philadelphia, PA: Elsevier; 2016. 1145 p.
8. Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA. Campbell-Walsh urología. México, D.F.: Médica Panamericana; 2015.
9. McAninch JW, Lue TF, Smith DR, Pineda Rojas E. Smith and Tanagho Urología general. México: McGraw-Hill education; 2014.
10. Angel Mejía G, Ángel Ramelli M. Interpretación clínica del laboratorio. Bogotá: Médica Panamericana; 2010.
11. Cunningham FG. Williams obstetrics. 25th edition. New York: McGraw-Hill; 2018.
12. Soliz D, Jerves T, Encalada V, Chacón K, Guerrero A. Manual de Prácticas de Biología. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas; 2011

10

Seminario

Educación sexual y reproductiva

JUSTIFICACIÓN

La conducta sexual humana es un fenómeno diverso y cotidiano que ocurre en diferentes lugares físicos y contextos sociales, incluyendo una amplia variedad de actividades específicas, siendo percibida de diferente manera en base a la persona y las influencias externas. Así, es poco probable que la ciencia sea suficiente para responder todas las preguntas que se podrían hacer sobre la conducta sexual.

LOGROS DES APRENDIZAJE DEL SEMINARIO

- ☞ Define los conceptos principales en materia de sexualidad.
- ☞ Conoce e interpreta los derechos sexuales y reproductivos de las personas.
- ☞ Determina los componentes de la práctica de sexo seguro para la prevención de enfermedades de transmisión sexual

Educación sexual

La educación sexual se refiere a las actividades para la enseñanza y difusión acerca de la sexualidad humana en todas las edades del desarrollo, orientación sexual, relaciones sexuales, planificación familiar, anticoncepción, sexo seguro, reproducción humana, derechos sexuales y reproductivos, con el objetivo de lograr un estado específico de salud sexual y reproductiva, influyendo por ende en la salud física y mental (1).

Derechos sexuales y reproductivos

Derechos reproductivos

- Derecho a disfrutar de una vida sexual satisfactoria y sin riesgo, a la capacidad de reproducirse y a la libertad para decidir hacerlo o no cuándo, con quién y con qué frecuencia (2,3).
- Derecho a una educación sexual y reproductiva basada en información veraz, oportuna, científica y libre de prejuicios (2,3).
- Derecho a obtener información en todo lo relacionado a la salud sexual y reproductiva, acceso a métodos anticonceptivos seguros, eficaces, asequibles, aceptables y de emergencia (2,3).
- Derecho a participar con voz y voto en la creación de programas y políticas de salud sexual y reproductiva (2,3).
- Acceso a servicios de salud integrales, especializados, dirigidos específicamente a jóvenes incluyendo servicios de salud sexual y reproductiva, con calidad, calidez, confidencialidad y libres de prejuicios, sin discriminación, por razón de edad, clase social, raza, sexo, orientación sexual, etnia, etc (2,3).
- Derecho a no ser rechazada en el trabajo o en instituciones de cualquier índole por estar embarazada (2,3).

Derechos sexuales

- Derecho a gozar de la sexualidad y la libre decisión de tener o no relaciones sexuales, independientemente del coito y la penetración.
- Derecho a vivir la sexualidad de manera placentera, libre de violencia, prejuicios y culpas.
- Derecho a ejercer la sexualidad plena e independiente del estado civil, edad, etnia, género, orientación sexual y discapacidad.
- Derecho a la información y al acceso médico para el tratamiento de enfermedades de transmisión sexual.
- Derecho a una información veraz, oportuna, científica, libre de prejuicios, sin discriminación alguna, que permita prevenir la infección por VIH.
- Derecho a la autonomía y a la aplicación consentida e informada de los exámenes de detección de VIH y/o embarazo y a la confidencialidad de sus resultados.
- Derecho al libre ejercicio del autoerotismo.

Conceptos básicos de sexualidad

Sexo: se refiere a las características físicas determinadas genéticamente que diferencia al hombre de la mujer o mujer, tomando en cuenta su función en la reproducción (1,4).

Género o rol de género: es un conjunto de normas, o expectativas culturalmente definidas, que precisan la manera en que las personas de un sexo deben comportarse (1,4).

Identidad sexual: o identidad de género, es el sentimiento de pertenencia a uno u otro sexo, es decir el convencimiento de ser hombre o mujer, lo que ocasionará determinadas conductas en los individuos (1,4).

Orientación sexual: es la atracción emocional, erótica, romántica o sexual hacia otros. Se clasifica en base al sexo de las personas que generan la atracción:

- Heterosexual: con el sexo opuesto.
- Homosexual: con el mismo sexo.
- Bisexual: con ambos sexos.
- Pansexual: hacia otras personas independientemente de su género o sexo.
- Asexual: ausencia de atracción sexual

Sexo seguro

El sexo seguro implica las medidas de protección que deben ser tomadas al participar en relaciones sexuales para evitar el contagio de enfermedades de transmisión sexual (1,4). Dentro de estas medidas tenemos:

- La abstinencia
- Relaciones monógamas
- Historial sexual
- Respeto y goce de los derechos sexuales y reproductivos
- Evitar sustancias que alteren el estado de consciencia (alcohol, drogas, etc.).
- Métodos de barrera (preservativos masculino y femenino)
- Manejo integral de las enfermedades de transmisión sexual, así como consejería de comportamiento para las personas que han adquirido este tipo de enfermedades

Prevención del VIH-SIDA

La educación y las modificaciones conductuales son las bases de la estrategia para la prevención de la infección por VIH. El problema más importante es que muchas infecciones se transmiten por personas que no saben que están infectados. El riesgo individual de adquirir la infección VIH después de una exposición depende de la probabilidad de infección VIH en la persona fuente, del tipo de

exposición y de la susceptibilidad de la persona expuesta. El cálculo del riesgo de transmisión depende de la prevalencia de la infección VIH en la población a la que pertenece la persona fuente y del riesgo estimado del tipo de exposición (1,5-7).

El sexo más seguro es el método más eficaz para evitar que las personas sexualmente activas contraigan la infección y para que las infectadas eviten su diseminación. El único método definitivo para prevenir la transmisión sexual es la abstinencia, ante situaciones de riesgo. Sin embargo, esto no es factible y, por ello, se recomiendan diversas prácticas que reducen en forma considerable la posibilidad de contagio:

- El uso de preservativos reduce el riesgo de transmisión; éstos no son eficaces en 100% de los casos para prevenir la transmisión del VIH.
- Conocer a la pareja y averiguar sobre conductas sexuales pasadas y actuales.
- El método más eficaz para prevenir el contagio de la infección por VIH en los adictos a drogas por vía parenteral consiste en abandonar el hábito. Por desgracia, es extraordinariamente difícil lograr este objetivo a menos que el paciente se incorpore a un programa de tratamiento. Para aquellos que no puedan o no quieran participar en un programa de este tipo, la siguiente opción para evitar el contagio consiste en no compartir las jeringas ni ningún tipo de objeto de uso personal.
- Según la normativa vigente del MSP en Ecuador se debería realizar un tamizaje para VIH a: pacientes que lo soliciten voluntariamente; personas con infecciones de transmisión sexual, cuadro clínico y/o de laboratorio sugestivo de infección por VIH u otras inmunodeficiencias; mujeres embarazadas; donantes de hemoderivados, órganos, semen, leche materna, células madre y otros; personas con tuberculosis pulmonar o extrapulmonar; personas que tienen

relaciones sexuales sin protección; poblaciones más expuestas: HSH, trabajadoras/es sexuales; parejas sexuales de personas bajo estas características y de las personas que viven con VIH/Sida; inseminación artificial; trasplante de órganos; hemofílicos; adictos a drogas por vía endovenosa; hijos de madres infectadas con VIH; exposición laboral y no laboral.

- La transmisión del VIH a través de la sangre o de hemoderivados disminuyó en gran medida gracias al estudio sistemático de todos los donantes de sangre mediante el análisis tanto para los anticuerpos anti- VIH y ácidos nucleicos y gracias también a la autoexclusión de los sujetos con riesgo de infección por el VIH.
- Profilaxis pre exposición (PrEP): consiste en la administración de medicamentos antirretrovirales a una persona no infectada antes de la posible exposición al VIH para reducir el riesgo de infección (8).
- Profilaxis post exposición (PEP): es una acción de emergencia para evitar la adquisición del VIH luego de una exposición ocupacional (por ejemplo, un médico que sufre un pinchazo con aguja) o no ocupacional (por ejemplo, luego de actividad sexual de riesgo) a sangre infectada con VIH o fluidos corporales potencialmente infecciosos (8).
- El tratamiento de una madre infectada por el VIH mediante regímenes con fármacos antirretrovirales durante el embarazo y del lactante durante las primeras semanas siguientes a su nacimiento ha resultado de gran eficacia para disminuir la transmisión del VIH de la madre al hijo.
- El VIH se puede transmitir a través de la leche materna y del calostro. Impedir la

lactancia materna puede ser poco práctico en los países en vías de desarrollo, pero si es posible, debe evitarse la lactancia (1,5,6).

ABC de la prevención del VIH

A: abstenerse de tener relaciones sexuales de riesgo o aplazar la primera relación sexual.

B: tener relaciones sexuales con una pareja estable.

C: usar correctamente preservativos de latex

APLICACIONES CLÍNICAS

- Atención integral en salud sexual y reproductiva.
- Atención integral en salud sexual y reproductiva para grupos de atención prioritaria: menores de edad, adultos mayores, personas con discapacidad.
- Atención en salud a personas lesbianas, gays, bisexuales, transgénero e intersexo (LGBTI).

PREGUNTAS DE EVALUACIÓN

- 1.- Explicar con ejemplos la diferencia entre sexo y género.
- 2.- ¿Qué influencia tiene la religión sobre la sexualidad humana?
- 3.- ¿El sexo puede cambiarse? ¿El género puede cambiarse? ¿Sí? ¿No? ¿Por qué?
- 4.- Enumerar 3 derechos sexuales y 3 reproductivos no mencionados en este manual.

5.- ¿El VIH se transmite por la saliva o al compartir utensilios de comida? Fundamentar la respuesta.

6.- Investigar la fisiopatología del VIH-SIDA.

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE

A large, empty rectangular box with a thin black border, intended for the student to write their conclusions.

Referencias Bibliográficas

2017;38(1):1-9.

1. Hyde JS. Sexualidad Humana. McGraw Hill; 2016.
2. Constitución de la República del Ecuador. 2008. (Registro Oficial No. 449).
3. Ministerio de Salud Pública del Ecuador, Plan Nacional de Salud Sexual y Salud Reproductiva: Viceministerio de Gobernanza de la Salud Pública. Quito, Ecuador; 2017 mar.
4. Benavides Torres RA. Promoción de la salud sexual en jóvenes [Internet]. 2013 [citado el 3 de marzo de 2019]. Disponible en: <http://public.eblib.com/choice/publicfullrecord.asp x?p=3219237>
5. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, editores. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Eighth edition. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2015. 2 p.
6. Kasper DL, editor. Harrison's principles of internal medicine. 19th edition / editors, Dennis L. Kasper, MD, William Ellery Channing, Professor of Medicine, Professor of Microbiology, Department of Microbiology and Immunobiology, Harvard Medical School, Division of Infectious Diseases, Brigham and Women's Hospital, Boston, Massachusetts [and five others]. New York: McGraw Hill Education; 2015. 1 p.
7. Soliz D, Jerves T, Encalada V, Chacón K, Guerrero A. Manual de Prácticas de Biología. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas; 2011.
8. Marfatia YS, Jose SK, Baxi RR, Shah RJ. Pre- and post-sexual exposure prophylaxis of HIV: An update. Indian J Sex Transm Dis AIDS.

11

Práctica

Métodos anticonceptivos

Materiales

- ✂ 2 Preservativos masculinos.
- ✂ Muestras de métodos anticonceptivos de todos los tipos.
- ✂ Una maqueta del pene en erección.
- ✂ Un calendario

JUSTIFICACIÓN

Los métodos anticonceptivos, llamados también métodos contraceptivos, desempeñan un rol fundamental en el control de la natalidad y la planificación familiar, con el beneficio adicional, de algunos de ellos, de aportar protección ante infecciones de transmisión sexual, incluido el VIH. El embarazo no deseado sigue siendo un gran problema en el Ecuador y demás países en vías de desarrollo, trayendo consecuencias en las esferas biológica, psicológica y social, tanto de los padres como de los niños. Actualmente existen un sinnúmero de métodos anticonceptivos de diversa índole, sin embargo, la exigua información, el acceso limitado a los mismos, las barreras culturales, así como la incipiente educación sexual en materia de anticoncepción, propician una inadecuada utilización de estas herramientas.

LOGROS DE APRENDIZAJE DE LA PRÁCTICA

- 🔗 Describe los mecanismos de la fecundación humana.
- 🔗 Conoce y clasifica los principales métodos anticonceptivos.
- 🔗 Utiliza adecuadamente los métodos anticonceptivos más difundidos en el medio.
- 🔗 Determina el uso correcto de la anticoncepción de emergencia, sus riesgos y beneficios.

Reproducción

La reproducción sexual es indispensable para la supervivencia de la especie humana, pues permite la formación de nuevos individuos y la transmisión de la información genética de generación en generación. La OMS manifiesta que “es un derecho tener relaciones sexuales gratificantes y enriquecedoras, sin coerción y sin temor de infecciones ni de embarazos no deseados, poder regular la fertilidad sin riesgos de efectos secundarios desagradables o peligrosos, poder tener embarazos, partos seguros y criar hijos saludables”

Por su parte, el coito es solo una pequeña parte de la sexualidad, que en los seres humanos cumple funciones de carácter psicológico y social, más allá de la función biológica. (1,2).

Fecundación

La fecundación es un proceso complejo que requiere condiciones adecuadas para llevarse a cabo. Un requisito previo para la fertilización es la capacitación de los espermatozoides, un periodo de acondicionamiento en el tracto reproductor femenino (principalmente en la trompa de Falopio) durante el cual profundas transformaciones bioquímicas confieren movimientos erráticos (hiperactivación) a los gametos masculinos. Además, estos tienen que sobrevivir a las barreras naturales que posee el tracto genital femenino y esperar a que el ovocito II haya salido del ovario y se ubique en la ampolla de la trompa uterina para entonces dar lugar al último proceso de la fecundación: la penetración de la corona radiada, la zona pelúcida y la membrana del ovocito. Entre las barreras más importantes están el moco cervical, cuyo pH ácido, cantidad y consistencia, modificados por las hormonas femeninas, dificultan el avance de los espermatozoides, por ello durante la maduración, los espermatozoides se cubren y protegen con la proteína DEF126, producida en el epidídimo (3,4).

A través del coito, una vez depositado el semen en el aparato reproductor femenino, en un tiempo de 24 horas ocurre la fecundación; los 200 millones de espermatozoides (microgametos) son eyaculados con las contracciones orgásmicas para fertilizar al ovocito II (macrogameto) y dar lugar a la formación del huevo o cigoto; para ello, los espermatozoides tardan en alcanzar los oviductos, desde el cuello uterino, un tiempo que varía entre 30 minutos y 72 horas (sobrevida máxima al interior del tracto genital femenino). Finalmente, tras sucesivas divisiones del cigoto se formará la mórula y posteriormente el embrión y feto, respectivamente (3,4).

Ciclo sexual femenino

Engloba tanto el ciclo ovárico como el ciclo menstrual, dos procesos diferentes pero interrelacionados, durante los cuales el ovario y el endometrio uterino experimentan cambios periódicos (Ilustración 32).

El ciclo ovárico depende de la integridad del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal. Comprende 3 fases controladas por la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), producida por el hipotálamo (3,5-7):

- **Fase folicular:** está influenciada por la hormona foliculoestimulante (FSH). Se produce la maduración de los folículos ováricos (primordiales, primarios, secundarios y maduros o de Graaf, en orden ascendente de desarrollo).
- **Ovulación:** producida gracias a un pico de hormona luteinizante (LH). Consiste en la liberación del ovocito II del folículo maduro (junto con células de la granulosa del cúmulo oóforo), fenómeno que coincide con el día 14 del ciclo menstrual. El ovocito que viaja a través de la trompa de Falopio solo es viable 24 horas.
- **Fase lútea:** las células de la granulosa del folículo maduro roto, bajo la influencia de la LH, pasan a constituir el cuerpo lúteo, secretor de progesterona y estrógenos. El cuerpo lúteo se mantiene viable si se llega a producir la

fecundación (por estímulo de la HCG producida por el sincitiotrofoblasto de la placenta), caso contrario, degenera y forma el cuerpo albicans, con la consecuente disminución de progesterona.

El ciclo menstrual dura 28 días, siendo el primer día de la hemorragia vaginal el primero del ciclo. Varía según cada mujer, pudiendo ser regular cuando los ciclos tienen la misma duración o irregular cuando el tiempo entre ciclo y ciclo es variable. Muchos factores tanto físicos como psicológicos pueden modificar su duración al alterar la concentración de las hormonas que participan de este proceso. Su control depende directamente de las hormonas ováricas (estrógenos y progesterona) pero también del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal. Comprende tres fases (3-9):

- **Fase folicular o proliferativa:** depende de los estrógenos (17β -estradiol). Su duración es irregular (10 a 16 días), prolongándose hasta la ovulación. Consiste en el crecimiento del endometrio a expensas de sus glándulas, preparándose para una futura implantación.
- **Fase prostagésional o secretora:** inicia entre las 48 y 72 horas posteriores a la ovulación. Depende de la progesterona producida por el cuerpo lúteo, y en menor medida de estrógenos. Es más regular que la anterior (dura 14 días). Se caracteriza por la detención del crecimiento endometrial.
- **Fase de menstruación:** llevada a cabo gracias a la disminución de progesterona y estrógenos en ausencia de fecundación e implantación. Tiene una duración promedio de 4 a 6 días. Consiste en la desintegración de la capa funcional del endometrio.

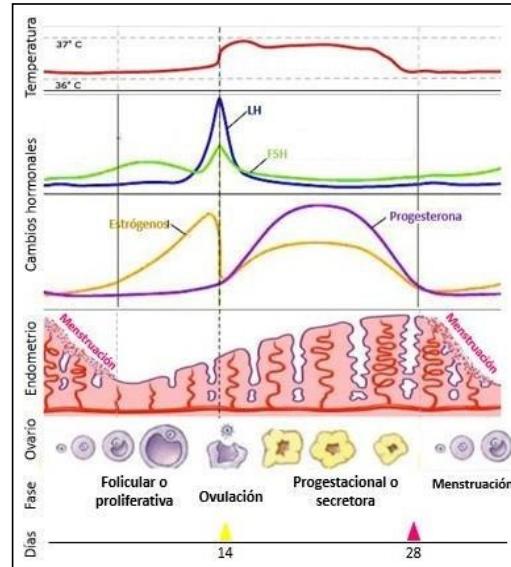


Ilustración 32. Ciclo sexual femenino.
Elaborado por: los autores.

Métodos contraceptivos

Efectividad

En la actualidad existe una gran gama de métodos anticonceptivos, pero solo unos pocos han sido difundidos en nuestro medio. Uno de los factores que más interviene en la selección es la efectividad para el control de la natalidad, siendo importante destacar que ningún método es completamente eficaz, ya que cada uno posee ventajas y desventajas. Según la efectividad al año de su uso y tomando en cuenta el porcentaje de embarazo en este tiempo se puede clasificar a los métodos anticonceptivos en (10):

- Muy efectivos (<1%)
- Efectivos (<10%)
- Moderadamente efectivos (10-25%)
- Poco efectivos (25-36%)

Tabla 11. Clasificación de los Métodos Contraceptivos.					
Artificiales					Naturales
Temporales			Definitivos		
Barrera	Hormonales	Dispositivos Intrauterinos (DIU)	Esterilización masculina	Esterilización femenina	
<ul style="list-style-type: none"> •Preservativo masculino •Preservativo femenino •Diafragma •Capuchón •Esponja cervical •Espermicida 	<ul style="list-style-type: none"> •Píldora combinada •Píldora solo progestina •Inyectables •Implante subdérmico •Parche •Anillo vaginal 	<ul style="list-style-type: none"> •T de Cobre •T de levonorgestrel 	<ul style="list-style-type: none"> •Vasectomía 	<ul style="list-style-type: none"> •Ligadura de trompas 	<ul style="list-style-type: none"> •Método del ritmo •Método de Billings •Método de la temperatura basal •Método sinsotérmico •Método de la amenorrea de la lactancia •Retirada

Elaborado por: los autores

La Tabla 11 clasifica los métodos contraceptivos y, a continuación, se destacan las características más importantes de cada método, teniendo en cuenta que algunos de ellos se pueden combinar para conseguir una mejor efectividad en la prevención del embarazo.

Existe también un concepto denominado “doble protección”, que consiste en el uso de cualquier método anticonceptivo para evitar el embarazo más el uso del preservativo masculino para prevenir el contagio de infecciones de transmisión sexual, incluyendo el VIH.

No debemos olvidar que normalmente 1 de cada 10 de las parejas sufre de infertilidad, es decir, no logran un embarazo después de un año de relaciones sexuales sin utilizar métodos anticonceptivos (11).

Tabla 12. Porcentaje de embarazos durante el primer año de uso.

Método Contraceptivo	%	
	UP*	UT**
Implantes	0,05	0,05
Vasectomía	0,1	0,15
DIU de levonorgestrel	0,1	0,1
Esterilización femenina	0,5	0,5
T de cobre	0,6	0,8
Mensualmente inyectable	0,05	3
Inyectable solo progestina	0,3	3
Píldoras combinadas	0,3	9
Píldoras solo progestina	0,3	9
Parche combinado	0,3	9
Anillo vaginal combinado	0,3	9
Condomes masculinos	2	18
Método sintotérmico	2	25
Método de Billings	3	25
Método del ritmo	9	25
Diafragma	6	16
Condomes femeninos	5	21
Espermicidas	18	29
Esponja (multíparas)	20	32
Esponja (nulíparas)	9	16
Capuchón (multíparas)	26	32
Capuchón (nulíparas)	9	16
Coito interrumpido	4	27
Ninguno	85	85

*UP = Uso perfecto

**UT = Uso típico

Elaborado por los autores

Es importante aclarar que, según datos del Servicio Nacional de Salud de Reino Unido (NHS), de 2 000 hombres vasectomizados apenas 1 de ellos podría provocar un embarazo accidental durante el resto de su vida (5, 12, 13).

I.- Métodos Naturales

Se basan en el conocimiento del ciclo menstrual femenino y los cambios que se desarrollan en el mismo, calculando los probables días fértiles para abstenerse del coito. Estos métodos se recomiendan a las mujeres con ciclos regulares y con una pareja estable. Utilizados correctamente son efectivos, no tienen efectos adversos y no necesitan de un control médico. Sin embargo, su uso incorrecto los hace poco efectivos y requieren la participación y disciplina de la pareja.

Método del ritmo: llamado también el calendario u Ogino Knaus. Considera los días fértiles que son los 3 días previos a la ovulación, el día de la ovulación y 3 días después de la ovulación, tomando en cuenta que los espermatozoides pueden sobrevivir en el tracto genital femenino 72 horas. Se emplea en mujeres con ciclos regulares y para calcular el día de la ovulación se resta 14 del total de días que dura el ciclo menstrual o de la fecha de la próxima menstruación. Una alternativa para este método requiere del registro de la cantidad de días de cada ciclo menstrual por al menos 6 meses, así, se restará 18 del total de días del ciclo más corto (el resultado indica el primer día fértil) y 11 del ciclo más largo (el resultado indica el último día fértil); en esos días la mujer tendrá que guardar abstinencia o utilizar otros métodos como el preservativo (Ilustración 33).

El Método de los Días Fijos es otra opción dentro de los métodos basados en el calendario. Solo puede ser utilizado por mujeres con ciclos menstruales de 26 a 32 días de duración. Se consideran como fértiles los días 8 a 19 de cada ciclo (14–16).

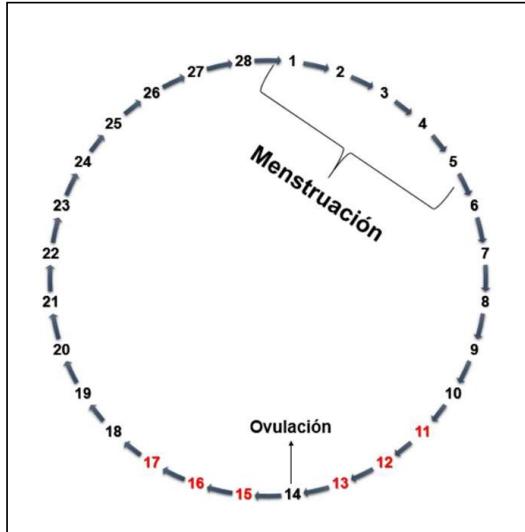


Ilustración 33. Método del ritmo.
En rojo se marcan los días fértiles. Elaborado por: los autores.

Método de Billings: también llamado método del moco cervical. La mujer debe revisar cada día cualquier secreción con sus dedos, en la ropa interior o en el papel de baño. En el momento de la aparición de secreciones se evitará mantener relaciones sexuales sin protección y se continuará con la revisión diaria del moco cervical, pues este llegará a un pico durante el cual se tornará más claro, resbaladizo y elástico; al día siguiente la consistencia cambiará a pegajosa, seca o ausencia absoluta de secreción (Ilustración 34). La abstinencia debe prolongarse hasta 3 días después del mencionado pico. Las mujeres con infecciones vaginales no pueden usar este método. Además, no se puede tener relaciones sexuales dos días seguidos porque se modifica la consistencia del moco, lo que puede alterar la interpretación (14–16).



Moco cervical en días no fértiles: pegajoso, seco.



Moco cervical en días fértiles: claro, elástico.

Ilustración 34. Método de Billings.
Fuente: los autores.

Método de la temperatura basal: consiste en tomarse la temperatura todas las mañanas en condiciones basales, es decir a la misma hora, en ayunas y previo a levantarse de la cama. Justamente antes de la ovulación hay una elevación de 0.2° a 0.5°C que se mantiene hasta el inicio del nuevo ciclo (Ilustración 35). Sin embargo, existen otras causas para el aumento de la temperatura y no se puede determinar los días previos a la ovulación, lo cual limita su efectividad (14–16).



Ilustración 35. Método de la temperatura basal.
Elaborado por: los autores.

Método sintotérmico: combina el método de Billings, la temperatura basal y otros síntomas para determinar los días fértiles (sensibilidad en los senos, dolor ovulatorio). Al igual que el anterior se debe evitar el coito dos días seguidos (14–16).

Método de la amenorrea de la lactancia: es un método contraceptivo transitorio, basado en el efecto de la lactancia materna sobre la fertilidad (inhibición de la ovulación). Utilizado correctamente posee una alta efectividad (que en ciertos casos puede llegar al 99%), para lo cual deben cumplirse 3 condiciones (14–16):

- Que no haya retornado la menstruación.
- Que el bebé sea alimentado exclusivamente con la leche materna desde su nacimiento.
- Que el bebé tenga una edad menor a 6 meses.

Coito interrumpido (retirada): No debe ser considerado un método. Consiste en retirar el pene antes de la eyaculación de tal manera que esta se produzca fuera del tracto genital femenino. En ciertas ocasiones el líquido preseminal suele contener espermatozoides, por lo que la mujer puede quedar embarazada, aunque la eyaculación no se haya producido dentro de la vagina. Este método presenta mayor riesgo de fracaso en aquellos hombres que no pueden percibir consistentemente cuándo la eyaculación va a ocurrir y en casos de eyaculación precoz. (14,17).

II.- Métodos Artificiales

Son aquellos que emplean un mecanismo artificial para evitar el embarazo y, por lo tanto, no involucran la necesidad de abstenerse de las relaciones sexuales.

A) Temporales: al suspender su uso se recupera la fertilidad.

1.- De barrera: evitan que los espermatozoides lleguen al ovocito II utilizando una barrera mecánica o química.

Preservativo masculino: está hecho comúnmente de látex (también los hay de poliuretano, poliisopreno, piel de cordero y nitrilo) y está disponible en diferentes presentaciones. Posee la ventaja de proteger ante las infecciones de transmisión sexual. Para obtener su mayor efectividad se debe utilizar correctamente (Ilustración 36), como indican las siguientes recomendaciones (14–16):

- Es importante tomar en cuenta el almacenamiento de los condones, pues se dañan al guardarlos en lugares húmedos o calientes o con la exposición solar. No es recomendable llevarlos en una billetera.
- Antes de abrir el preservativo prestar atención la fecha de caducidad y asegurarse que este se encuentre en buenas condiciones; una forma de hacerlo es verificando la burbuja de aire al aplastar el envoltorio con los dedos.
- Para abrir la envoltura no utilizar tijeras, los dientes o uñas largas porque pueden perforar el preservativo. Para romper el envoltorio se debe desplazar el preservativo hacia un lado con los dedos y luego abrirlo valiéndose de las ranuras de los extremos.
- La mayoría de los preservativos vienen lubricados, en caso de necesitar una mayor lubricación se debe utilizar lubricantes a base de agua como los geles, ya que los oleosos favorecen la perforación.
- El preservativo se debe colocar con el pene en erección, tras presionar la punta para evitar que entre aire, luego deslizar el anillo hasta la base del pene.
- No debe haber penetración antes de la colocación del preservativo. Antes y después de la penetración se debe sostener el anillo para evitar que se quede en la vagina.
- Se debe retirar después de la eyaculación y no puede ser reutilizado.
- Para desecharlo, realizar un nudo sin que se riegue su contenido y ejercer presión para verificar que no se haya roto.

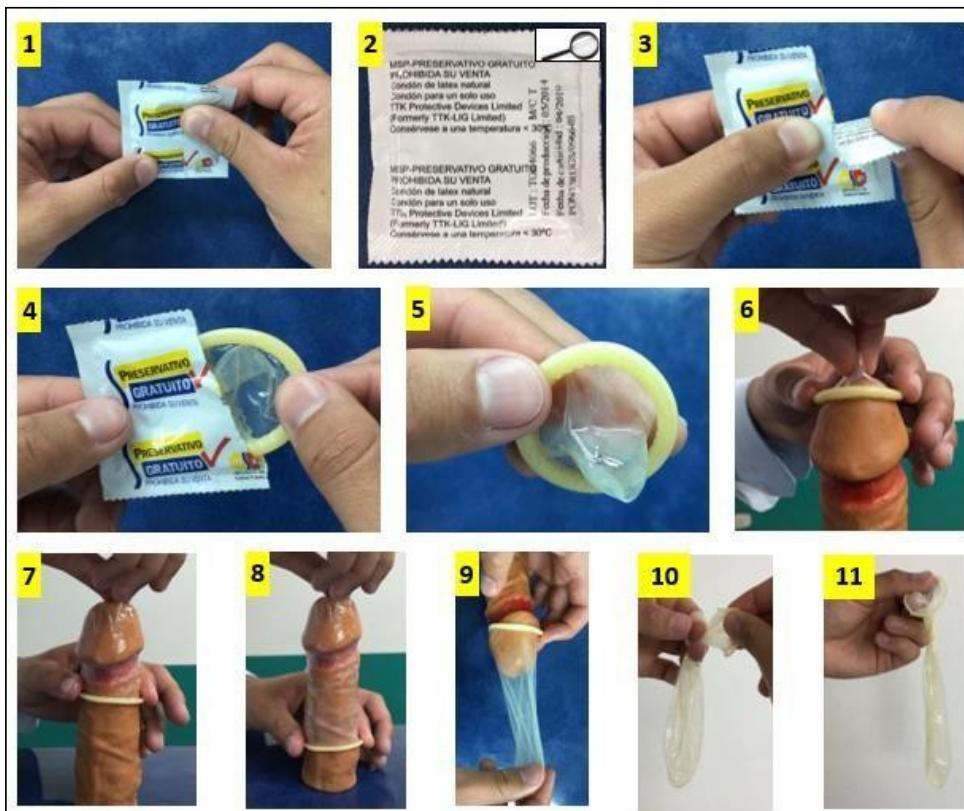


Ilustración 36. Correcto uso del preservativo masculino.
 Fuente: los autores.

Preservativo femenino: es menos difundido en nuestro medio. Consiste en una funda de látex o poliuretano de dimensiones mayores, que tiene un anillo en cada extremo (Ilustración 37); se debe colocar dentro de la vagina para que la penetración de realice a través de este. También previene infecciones de transmisión sexual.

Diafragma y otros: son menos difundidos y menos efectivos. Son dispositivos que se colocan en el fondo de la vagina o rodeando el cuello del útero. Además del diafragma existe el capuchón cervical y la esponja anticonceptiva. Para una mayor efectividad se los utiliza junto con espermicidas (14).

Espermicidas: son sustancias que matan a los espermatozoides, la más usada es el nonoxinol-9. Existen diversas presentaciones como cremas, jaleas, tabletas, óvulos o espumas. Cualquiera de estas formas debe ser colocada en el fondo de la vagina 10 minutos antes de la relación sexual y permanecer ahí al menos 6 horas después para asegurar su efectividad, es decir, en este tiempo no se puede realizar una ducha vaginal.

Pueden producir irritación y lesiones que aumentan el riesgo de infecciones de transmisión sexual; son poco efectivos (14).



Ilustración 37. Preservativo femenino.

Fuente: los autores.



Ilustración 38. Correcto uso del preservativo femenino.

Fuente: Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Norma y Protocolo de Planificación Familiar. (Actualización 2016). Quito: Ministerio de Salud Pública, Dirección Nacional de Normatización – MSP; 2016 p 80.

2.- Hormonales: utilizan hormonas sintéticas, ya sea solo progestágeno o la combinación de progestágeno con estrógenos para inhibir la ovulación. El estrógeno inhibe la producción de FSH y así la foliculogénesis, mientras el progestágeno inhibe la producción de LH y su pico preovulatorio. Otros mecanismos de acción reconocidos son la modificación de la consistencia del moco cervical, la función tubárica y el endometrio, haciéndolos hostiles a los espermatozoides, impidiendo así la fecundación (18).

Producen una serie de efectos adversos que incluyen cefalea, dolor abdominal, acné, mastalgia, náusea, mareo, cambio de humor y alteración del peso y la menstruación. Los mecanismos que incluyen estrógenos implican mayor riesgo (dosis dependiente) de padecer trombosis venosa y tromboembolia pulmonar, por lo cual, están contraindicados en mujeres con trombosis o tromboembolia previa, enfermedad vascular, enfermedad coronaria y riesgos cardiovasculares (14).

Píldoras combinadas: se deben tomar diariamente, son 28 píldoras de las cuales las 7 últimas no contienen hormonas. También vienen en presentaciones de 21 tabletas, por lo que 7 días se descansa. No se recomienda su uso durante la lactancia, ya que los estrógenos pueden disminuir la producción de leche (5,14).

Píldoras solo progestágeno: deben tomarse todos los días y a la misma hora; las 28 píldoras contienen la sustancia activa. No interfieren con la lactancia (5,14).

Están documentados beneficios adicionales como protección contra cáncer de ovario, endometrio y quistes ováricos, mientras la relación de los anticonceptivos orales con el cáncer de mama sigue siendo controversial (5).

Inyectables mensuales: contienen progestágenos y estrógenos (acetato de medroxiprogesterona/cipionato de estradiol o enantato de noretisterona/valerato de es-

tradiol). Son administrados por vía intramuscular (5,14).

Inyectables bimensuales: contienen solo progestágeno (enantato de noretisterona - NET-EN). Son administrados por vía intramuscular (5,14).

Inyectables trimestrales: contienen solo progestágeno (acetato de medroxiprogesterona de liberación lenta – DMPA). Son administrados por vía intramuscular o subcutánea (5,14).

Implantes: consisten en una o dos varillas que se colocarán debajo de la piel del brazo por un profesional cualificado (Ilustración 39). Poseen una vida útil de 3, 4 o 5 años, luego de lo cual serán retirados (5,14).



Ilustración 39. Implante subdérmico.

Fuente: los autores.

Parches combinados: se puede colocar en la piel limpia y sana del brazo, espalda, nalgas o abdomen, pero no en los pechos. Su uso correcto consiste en presionar la parte adhesiva del parche, sin tocar con los dedos, contra el lugar seleccionado por 10 segundos. Cada uno de los tres parches se debe usar por 1 semana y luego retirarlo para descansar una semana (5,14).

Anillo vaginal combinado: debe ser colocado en el fondo de la vagina cada 28 días y permanecer ahí por 21 días (3 semanas), luego descansar una semana. No puede ser reutilizado (5,14).



Ilustración 40. Anticonceptivos hormonales.
Fuente: los autores.

Dispositivos Intrauterinos (DIU): son plásticos en forma de “T” que ejercen un efecto anticonceptivo al crear un efecto anticonceptivo al crear un microambiente tóxico que daña a los espermatozoides y ovocitos previo a su encuentro, dicho microambiente es debido a un proceso inflamatorio al interior del útero inducido por el dispositivo. Los DIU son insertados dentro del útero por un profesional de salud y deben ser retirados después de unos años al tirar de las cuerdas que por un extremo están fijas al brazo vertical del dispositivo y por el otro están sueltas en la cavidad vaginal. No deben ser colocados cuando hay una infección del tracto genital femenino. En la actualidad se ha descartado la posibilidad de abortos derivados del uso de estos métodos (19).

T de cobre: es el más utilizado de este grupo debido a su menor costo. El plástico está cubierto de cobre, el cual intensifica la respuesta inflamatoria y posee propiedades espermicidas (Ilustración 41). Produce alteraciones de la menstruación, sobre todo los primeros meses. Su vida útil es de 10 a 12 años. (5).

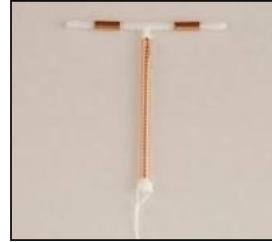


Ilustración 41. T de Cobre.
Fuente: los autores.

Sistema intrauterino de levonorgestrel: en la rama vertical del dispositivo hay un cilindro que contiene levonorgestrel (progestina) recubierto de una membrana que permite una liberación a un ritmo constante y en cantidades pequeñas ($20\mu\text{g}/\text{día}$) (Ilustración 42). El efecto anticonceptivo deriva del escaso y espeso moco vaginal, la atrofia endometrial y la respuesta inflamatoria. Efecto anovulatorio también. Posee una vida útil de 3 a 5 años. Sus efectos adversos son los mismos que los de los métodos hormonales (5,14).



Ilustración 42. DIU de levonorgestrel MIRENA®.
Fuente: los autores.

B.- Definitivos: son muy efectivos. Al ser irreversibles no se recomiendan a personas jóvenes o quienes todavía no tienen hijos. Además, requieren del personal y ambiente apropiados para su realización.

Vasectomía: la esterilización masculina implica un procedimiento quirúrgico poco invasivo que consiste en acceder a los conductos deferentes a través del escroto y cortarlos (Ilustración 43). Se debe esperar 3 meses después de la cirugía hasta que todos los espermatozoides del epidídimo se hayan agotado y el procedimiento adquiera su máxima efectividad. No afecta el desempeño sexual masculino. La reversión de la vasectomía es posible gracias al desarrollo de métodos de macro y microcirugía, a través de las técnicas de vasovasostomía y vasoepididimostomía, con una tasa de embarazo del 37 al 93%. Un intervalo de 10 años o más entre la esterilización y la reversibilidad disminuye la probabilidad de éxito (14,20).

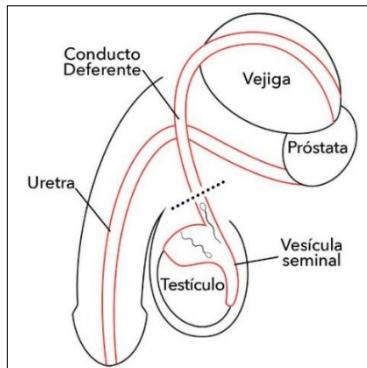


Ilustración 43. Vasectomía.
Elaborado por: los autores

Ligadura de trompas: la esterilización femenina se puede llevar a cabo mediante varias técnicas quirúrgicas más complejas que la vasectomía, pero todas ellas tienen el mismo fin: interrumpir el paso del ovocito desde las trompas de Falopio hasta el útero (Ilustración 44). La técnica más conocida se denomina Pomeroy, consiste en elevar una parte del oviducto para crear un lazo o un nudillo, luego una tasa de éxito de varía entre el 20 y el 85%, sin

ser complejos, costosos y de baja disponibilidad. (5,14,21-23).

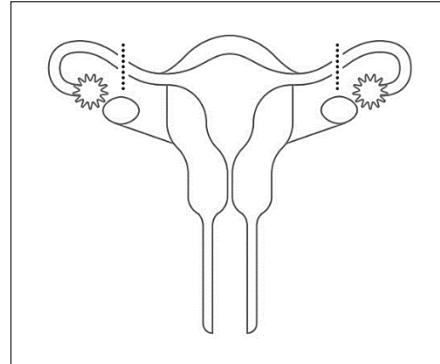


Ilustración 44. Ligadura de trompas.
Elaborado por: los autores.

Anticoncepción de emergencia

La píldora anticonceptiva de emergencia (PAE), más conocida como la pastilla del día después, posee como principios activos más comunes al levonorgestrel (progestina). Previene el embarazo cuando se toma hasta 3 días después del sexo sin protección, siendo mayor su efectividad cuanto más pronto sea ingerida. Actúa previniendo o retrasando la ovulación por 5 o 7 días; se ata una liga absorbible alrededor de la base del segmento elevado y se corta. No produce alteraciones hormonales. En la actualidad se han desarrollado diversas técnicas que buscan la reversión de la ligadura de trompas como la microcirugía y reanastomosis istmo a istmo, con para entonces,

embargo, estos procedimientos se caracterizan por

cualquier espermatozoide en el tracto reproductivo de la mujer habrán muerto. Si ha ocurrido la ovulación y la fecundación, las PAE no previenen la implantación ni interrumpen un embarazo ya establecido. A dosis comunes el levonorgestrel no produce cambios en el endometrio ni en el moco cervical (14, 24-27).

- PAE de levonorgestrel: En el país solo se encuentra disponible la presentación de 1,5mg bajo los nombres de

ESCAPEL, GLANIQUE (Ilustración 45), TACE, la cual debe ser tomada en dosis única lo más pronto posible luego de una relación sexual de riesgo (14,27).



Ilustración 45. Píldora anticonceptiva de emergencia (PAE).
Fuente: los autores.

Los efectos adversos que se presentan son similares a los de otros métodos hormonales, pero con una intensidad y frecuencia mayor: náusea, vómito, sensibilidad en los senos, dolor abdominal, letargo, dolor de cabeza, sofocos y mareos.

No se recomienda como método anticonceptivo de larga duración, pues no se ha comprobado que sea más efectivo que los contraceptivos de uso común en prevenir un embarazo, además que la mujer experimenta mayor cantidad de reacciones adversas (14)

El uso de la PAE está indicado en las siguientes situaciones:

- Después de relaciones sexuales en las que no se haya utilizado ningún método anticonceptivo.
- Por accidente, fracaso o uso incorrecto de otros métodos anticonceptivos, por ejemplo, rotura

del preservativo u olvido en la toma de anticonceptivos orales.

- En caso de violación.

APLICACIONES CLÍNICAS

- Correcto uso de métodos anticonceptivos y anticonceptivos de emergencia.
- Planificación familiar.

PROCEDIMIENTOS.

1. Calcule los días que no se debe tener relaciones sexuales, según el método del ritmo, en ejemplos planteados.
2. Realizar la observación de muestras de anticonceptivos, conocer su presentación, clasificarlas, determinar su composición.
3. Debatir con sus compañeros de clase la importancia de la educación, e información a la población adolescente sobre el uso correcto de los métodos anticonceptivos,
4. Practicar la colocación del preservativo en la maqueta, siguiendo las recomendaciones del uso correcto.

PREGUNTAS DE EVALUACIÓN

- 1.- Una paciente de 25 años, recién casada, acude a consulta con su pareja solicitando planificación familiar, debido a que no desean tener hijos sino hasta los próximos 3 años, tiempo en que terminarán sus estudios de maestría. ¿Qué método anticonceptivo recomendaría usted para este caso?
- 2.- Paciente hombre de 22 años, con vida sexual activa, sin una pareja estable, manifiesta el deseo de realizarse la

vasectomía para evitar un embarazo. ¿Es este un método contraceptivo adecuado para el paciente? ¿Por qué?

¿Qué método considera apropiado para el caso?

3.- Investigue cuáles son los principales errores cometidos en el uso de la PAE.

4.- Realice una revisión bibliográfica acerca de la anticoncepción masculina en desarrollo: métodos hormonales y el sistema vasalgel.

5.- Consulte nombres genéricos, comerciales y el precio de diferentes métodos anticonceptivos disponibles en nuestro medio:

- Anticonceptivos orales
- PAE: levonorgestrel y acetato de ulipristal
- Preservativos masculinos y femeninos
- DIU hormonal
- Implantes
- Inyecciones

6.- Investigue las contraindicaciones para la colocación de un DIU.

7.- Realizar una revisión bibliográfica acerca de la asociación entre anticonceptivos hormonales y riesgo de desarrollo de cáncer de mama: qué anticonceptivos están implicados y por qué.

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE

Referencias Bibliográficas

1. Castro Santoro R. UNA NUEVA MIRADA SOBRE ROL DEL GÍNECO-OBSTETRA EN LA SALUD DE LAS PERSONAS. Revista chilena de obstetricia y ginecología. 2007;72(1):1-4.
2. Schwarcz R, Castro R, Galimberti D, Martínez I, García Ó, Lomuto C, et al. Guía para el Uso de Métodos Anticonceptivos [Internet]. Argentina: Ministerio de Salud de la Nación - Argentina; 2002 oct [citado 30 de mayo de 2018]. Disponible en: http://www.msal.gob.ar/saludsexual/downloads/guia_de_metodos_anticonceptivos.pdf
3. Sadler T.W. Langman Embriología Médica. 13° ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
4. Michael H. Ross WP. Histología: texto y atlas. Correlación con biología celular y molecular. 7° ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
5. Berek JS, Berek DL, Jiménez González D, López Félix JA. Berek y Novak ginecología. 15° ed. Barcelona: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
6. Cunningham FG, Williams JW, editores. Williams obstetrics. 24th ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2014. 1385 p.
7. Guyton AC, Hall JE. Guyton & Hall, tratado de fisiología médica. 13° ed. Barcelona: Elsevier España; 2016.
8. Fuchs A, Esch EV, Cline JM. Physiology and Endocrinology of the Ovarian Cycle in Macaques.
9. Reed BG, Carr BR. The Normal Menstrual Cycle and the Control of Ovulation. En: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, et al., editores. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000 [citado 21 de febrero de 2018]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279054/>
10. Soliz D, Jerves T, Encalada V, Chacón K, Guerrero A. Manual de Prácticas de Biología. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas; 2011.
11. Rojas Quintana P, Medina Tío D, Torres Ajá L. Infertilidad. MediSur. agosto de 2011;9(4):340-50.
12. Vasectomy (male sterilisation) - NHS.UK [Internet]. [citado 23 de febrero de 2018]. Disponible en: <https://www.nhs.uk/conditions/contraception/vas-ectomy-male-sterilisation/>
13. How effective is contraception at preventing pregnancy? - NHS.UK [Internet]. [citado 23 de febrero de 2018]. Disponible en: <https://www.nhs.uk/conditions/contraception/how-effective-contraception/>
14. World Health Organization, Reproductive Health and Research, World Health Organization. Medical eligibility criteria for contraceptive use. 2015.
15. Organización Mundial de la Salud, Departamento de Salud Reproductiva e Investigaciones Conexas. Recomendaciones sobre prácticas seleccionadas para el uso de anticonceptivos. 3° ed. 2018.
16. Lampiao F. Coitus Interruptus: Are there spermatozoa in the pre-ejaculate? International Journal of Medicine and Biomedical Research. 2014;3(1):1-4.

17. Sánchez Borrego R, Martínez Pérez Ó. Guía práctica en anticoncepción oral: basada en la evidencia. San Sebastián de los Reyes: Médica Internacional; 2003.
18. Espey E, Pasternack T. The Intrauterine Device. En: Whitaker A, Gilliam M, editores. Contraception for Adolescent and Young Adult Women [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2014 [citado 26 de febrero de 2018]. p. 15-23. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4614-6579-9_2
19. Patel AP, Smith RP. Vasectomy reversal: a clinical update. *Asian J Androl.* 2016;18(3):365-71.
20. Schepens JBBFG, Mol BWJ, Wiegerinck MAHM, Houterman S, Koks CAM. Pregnancy outcomes and prognostic factors from tubal sterilization reversal by sutureless laparoscopic re-anastomosis: a retrospective cohort study. *Hum Reprod.* 1 de febrero de 2011;26(2):354-9.
21. Yassaee F. Tuboplasty as a reversal macrosurgery for tubal ligation, is pregnancy possible? A case series. *Iran J Reprod Med.* mayo de 2014;12(5):361- 4.
22. Jayakrishnan K, Baheti SN. Laparoscopic tubal sterilization reversal and fertility outcomes. *J Hum Reprod Sci.* 2011;4(3):125-9.
23. Trussell J, Raymond EG, Cleland K. Emergency contraception: A last chance to prevent unintended pregnancy. *Contemporary Readings in Law & Social Justice* [Internet]. 2014;6(2). Disponible en: <http://ec.princeton.edu/questions/ec-review.pdf>
24. Organization WH. Fact sheet on the safety of levonorgestrel-alone emergency contraceptive pills (LNG ECs). 2010;
25. Lee C-L, Lam KKW, Koistinen H, Seppala M, Kurpisz M, Fernandez N, et al. Glycodelin-A as a paracrine regulator in early pregnancy. *J REPRODU Immunol.* junio de 2011;90(1):29-34.
26. Dixit A, Balakrishnan B, Karande AA. Immunomodulatory activity of glycodelin: implications in allograft rejection. *Clin Exp Immunol.* 22 de diciembre de 2017;
27. Duran C, Marchand B, Jaramillo P, Herteleer J. *Vademécum Farmacoterapéutico del Ecuador* 2015. Quito, Ecuador

12

Seminario

Bioética

JUSTIFICACIÓN

La moral implica un conjunto de juicios establecidos como normas de comportamiento que rigen la práctica diaria de cada individuo, destinados a distinguir a las buenas y malas conductas (1).

La ética ha formado parte integral de la medicina, desde el tiempo de Hipócrates, médico griego del siglo V ac, considerado el fundador de la ética médica. La relación médico-paciente es el pilar fundamental de la práctica médica y por lo tanto de la ética médica. La Declaración de Ginebra exige al médico “velar ante todo por la salud de mi paciente” y el Código Internacional de Ética Médica propone que: “El médico debe a sus pacientes todos los recursos de su ciencia y toda su lealtad”. (2)

LOGROS DE APRENDIZAJE DEL SEMINARIO

- ❖ Determina la importancia de la bioética en medicina.
- ❖ Conoce el significado de bioética, así como sus implicaciones.
- ❖ Identifica los principios de la bioética.
- ❖ Analiza, cuestiona y debate las repercusiones de la eugenesia, eutanasia, aborto y donación de órganos.

Bioética

La bioética estudia la conducta humana en el ámbito de las ciencias de la vida y la salud, analizadas a la luz de los valores y principios morales intentando relacionar la naturaleza biológica humana y el mundo biológico con la formulación de políticas encaminadas a producir el bien social en el presente y futuras generaciones (1,3).

Para las instituciones de salud y según la normativa del Ministerio de Salud Pública del Ecuador, los Comités de Ética de Investigación en Seres Humanos (CEISH) son responsables de realizar la evaluación ética, aprobar las investigaciones que intervengan en seres humanos o que utilicen muestras biológicas y asegurar la evaluación y el seguimiento de los estudios clínicos durante su desarrollo. El objetivo de los CEISH es “proteger la dignidad, los derechos, el bienestar y la seguridad de los seres humanos participantes de estudios, dentro del contexto de un protocolo de investigación”. (Art. 5 del Acuerdo Ministerial, AM, 4889).

Los problemas éticos del pasado dieron lugar a 3 grandes consensos internacionales (3):

El código de Nuremberg: El origen de este documento surge en 1946, para enjuiciar a nazis por crímenes de guerra. En este juicio fueron condenados diecisiete médicos por las agresiones y atropellos cometidos contra personas de todas las edades durante una supuesta investigación científica. El Código fue publicado en 1947 donde se fijan normas éticas para la realización de investigaciones médicas con seres humanos. (4)

La declaración Helsinki: LA asociación Médica Mundial (AMM) ha promulgado la Declaración de Helsinki en 1964 como una propuesta de principios éticos para investigación médica en seres humanos, incluida la

investigación del material humano y de información identificables. (5) “En investigación médica en seres humanos, la preocupación por el bienestar de los seres humanos debe tener siempre primacía sobre los intereses de la ciencia y de la sociedad. (6)

El informe de Belmont: publicado en 1978, donde distinguen tres principios éticos básicos: respeto por las personas, beneficencia y justicia. Se refiere a las cuestiones éticas surgidas en el ámbito de la investigación clínica, y más concretamente en la experimentación con seres humanos.

Principios de la bioética

- **Autonomía:** la autonomía del paciente, significa que los pacientes deben ser los que decidan en definitiva sobre los asuntos que los afecta, es decir respetar el derecho de cada persona para escoger y seguir su propio plan de vida y acción, que solo debe ser restringido cuando afecta otros derechos o bienes, así como a procedimientos médico- quirúrgicos, de los cuales previamente ha sido informado (1,2,3).
- **Beneficencia:** consiste en orientar el ejercicio de la medicina a buscar el bien del paciente. Dos exigencias complementarias explican este principio en la práctica: no hacer daño a las personas, y procurarles el máximo de beneficios y el mínimo posible de daños (7,8).
- **Justicia:** consiste en distribuir los recursos y el talento humano a la población en base a las necesidades peculiares de la misma (con equidad). Impartir justicia a todos por igual, equidad de acuerdo a las necesidades (1-3).
- **No maleficencia:** se refiere a no producir daño a ninguna persona, lo que puede ser desencadenado al indicar tratamientos médicos o quirúrgicos innecesarios que pueden aumentar la morbimortalidad de los pacientes (1-3).

Confidencialidad o secreto profesional

El médico está obligado a guardar el secreto profesional en todo aquello que por razón del ejercicio de su profesión haya visto, oído o comprendido, salvo en aquellos casos con implicaciones legales, asegurándose así que la información sea accesible solo para las personas autorizadas para ello. La confidencialidad el conjunto de acciones que garantizan la seguridad en el manejo de esa información (1,3). La revelación del secreto profesional se podrá hacer en los siguientes casos (3):

- Al enfermo: en aquellos casos que estrictamente lo concierne y convenga.
- A los responsables del paciente (menores de edad y personas mentalmente incapaces).
- A los administradores de la justicia o la autoridad sanitaria, en los casos previstos por ley.
- A terceros, cuando por efectos físicos graves o enfermedades transmisibles o hereditarias se ponga en peligro su vida.

Consentimiento informado

Es el procedimiento a través del cual el profesional de salud obtiene la aprobación del paciente para un procedimiento diagnóstico o terapéutico, ya sea médico o quirúrgico, o para ser sujeto de investigación (1,9). Para ello existen tres componentes (1,9):

- Información: se debe detallar el tipo de procedimiento a aplicar, su objetivo, alternativas, beneficios, riesgos. En caso de una investigación: duración, objetivos, propósitos, implicaciones.
- Comprensión: el profesional de salud tiene que asegurarse que la información sea comprendida completamente por el paciente, siempre y cuando esta haya sido presentada de manera apropiada, completa y veraz.

- Voluntad: el consentimiento es válido solo si es voluntario y no debe existir ningún tipo de coerción para obligar al individuo.

El consentimiento informado se aplica en todos los procesos de práctica médica por mínimos que estos sean, sin embargo, en base a la normativa necesario registrarlo por escrito en (10):

- Intervenciones quirúrgicas consideradas de riesgo mayor
- Exámenes radiológicos bajo anestesia o contraste
- Endoscopia diagnóstica o terapéutica
- Biopsias
- Procedimientos de reproducción asistida
- Prueba de VIH
- Donación de órganos (con donante vivo)
- Todos aquellos casos que impliquen un riesgo mayor, es decir, cuando más incierta se la relación riesgo-beneficio, o entre menos urgente y más experimental sea el procedimiento.

Trasplante de órganos

Es el implante de un órgano o tejido procedente de un donante a un receptor compatible (11).

Tipos

- Alotrasplante: cuando el órgano procede de otro individuo de la misma especie (trasplante de hígado) (11).
- Autotrasplante: cuando procede del mismo paciente (injertos de piel) (11).
- Xenotrasplante: cuando procede de un animal de otra especie (11).

Normativa

En Ecuador, el Sistema Nacional Integrado de Donación y Trasplantes (INDOT), es el organismo encargado de ejecutar las políticas públicas relacionados con la actividad trasplantológica de órganos, tejidos y células (11).

Todos los ecuatorianos y extranjeros residentes legales en el país, mayores de dieciocho años, al fallecer se convertirán en donantes, a menos que en vida hubieren manifestado, en forma expresa, su voluntad de no serlo (11).

La manifestación o restricción de la voluntad para la donación consta en la cédula de ciudadanía y en cualquier otro documento (en caso de extranjeros).

Cuando se compruebe el diagnóstico de muerte cerebral en ecuatorianos o extranjeros residentes legalmente en el país, menores de dieciocho años de edad y que no sean emancipados, solamente sus padres y a falta de éstos su representante legal podrán autorizar la donación de sus órganos, tejidos y/o células. En ausencia de las personas mencionadas, podrán intervenir los administradores de la justicia (11).

Cualquier persona podrá donar, siempre y cuando cumpla los siguientes requisitos (11):

- Ser mayor de edad, en goce de plenas facultades mentales, con un estado de salud adecuado para el procedimiento y compatibilidad biológica, morfológica y funcional con el receptor.
- Parentesco del receptor hasta el cuarto grado de consanguinidad, con el donante, o su cónyuge o conviviente en unión libre.
- Que el donante y el receptor otorguen su consentimiento escrito.

Eugenesia

La palabra eugenesia proviene del griego “eu” que significa bien y “genos”, nacidos; por lo que quiere decir “bien nacido”. Busca aplicar leyes biológicas de la herencia para perfeccionar la especie humana a través de la selección de individuos con la mayor probabilidad de supervivencia en términos sociales y médicos.

Consiste en elegir entre dejar nacer a individuos que no tendrán desventaja social evidente, y no dejar nacer, a individuos, que, sufrirán, desventaja social, discriminación, y desigualdad de oportunidades.

Se lo puede realizar de algunas maneras, por ejemplo, al control prenatal, lo que permite diagnosticar ciertas patologías que pueden poner en desventaja a los sujetos.

Otro método en investigación y avance es la modificación genética, que teoría, modificaría aquellos genes aberrantes causantes de enfermedades (1).

Clasificación

- Positiva: antiguamente se favorecía la supervivencia de seres con genomas “íntegros” que mantendrían la pureza de las razas. Actualmente comprende todas las medidas para garantizar las mejores condiciones para que el nuevo ser nazca sano y se desarrolle de manera integral. También al hecho de no reproducirse si las condiciones no son buenas, por ejemplo, si está con rubeola (12).
- Negativa: al evitar la supervivencia de sujetos con genotipos y fenotipos desfavorables para la especie.

Diagnóstico prenatal

- El diagnóstico prenatal es el conjunto de pruebas diagnósticas realizadas durante el embarazo para



identificar la presencia de posibles defectos congénitos en el feto o factores de riesgo maternos que pueden requerir controles estrictos a lo largo de la gestación. Esto posibilita la adopción de medidas adecuadas, tanto durante el embarazo como durante el parto, para evitar riesgos innecesarios a la madre e hijo e intentar mejorar el pronóstico del neonato tras el nacimiento (1).

Terapia genética

La terapia genética incluye cualquier procedimiento destinado a reemplazar, manipular o complementar genes no funcionales o que funcionan mal con genes sanos (20):

- Se puede insertar un gen normal en una ubicación inespecífica dentro del genoma para reemplazar un gen no funcional. Este enfoque es el más común.
- Un gen anormal podría cambiarse por un gen normal mediante recombinación homóloga.
- El gen anormal podría repararse mediante mutación inversa selectiva, que devuelve el gen a su función normal.
- La regulación (grado en que se activa o desactiva un gen) de un gen en particular podría ser alterado.

Eutanasia

La palabra eutanasia procede del griego “eu” que significa bien y “tanatos” que significa muerte. Es decir, “buena muerte” o “morir bien”. Tiene el objetivo de permitir la muerte sin sufrimiento a los enfermos sin posibilidad de curación (1,3).

Clasificación (1,3,13)

- Directa: su objetivo es causar la muerte.
 - Pasiva: si la muerte es ocasionada por omisión, es decir, retirada de tratamientos y/o elementos que

mantienen la vida (ventilador mecánico).

- Activa: cuando se aplican fármacos para causar la muerte.
- Indirecta: si la muerte es un efecto secundario debido a la aplicación de un tratamiento cuyo objetivo es disminuir el dolor y el sufrimiento del paciente.

Características de la eutanasia:

- Ser provocada por personal de salud.
- La existencia de una intencionalidad compasiva o liberadora (paliar sus sufrimientos).
- Decisión libre, seria y reiterada del enfermo terminal o de sus familiares.

Cuidados paliativos

Los cuidados paliativos previenen y alivian el sufrimiento a través de la identificación temprana, la evaluación y el tratamiento correctos del dolor y otros problemas, sean estos de orden físico, psicosocial o espiritual. Dichos cuidados deberían basarse en las necesidades del enfermo y de su familia más que en un plazo de supervivencia esperada. Todos los enfermos en fase final de la vida deberían tener acceso a un nivel básico de cuidados en todos los ámbitos de atención, proporcionados por un equipo interdisciplinario adecuado (14).

Encarnizamiento terapéutico

Es la aplicación de procedimientos terapéuticos a pesar de la certeza de que aquellos no generan algún beneficio en el paciente y prolongan la agonía del mismo. Esto puede ser debido a la exigencia de familiares, la edad corta del paciente o la existencia de guías de práctica clínica extensas (1). Por el contrario, la limitación del esfuerzo terapéutico (LET) es la decisión meditada sobre la no implementación o la retirada de terapéuticas médicas al

anticipar que no conllevarán un beneficio significativo al paciente (15).

Muerte cerebral

Según la Academia Americana de Neurología, se considera que un individuo presenta muerte cerebral cuando se evidencia (16):

- Cese irreversible de todas las funciones del cerebro completo, incluido el tronco encefálico.

La determinación de la muerte debe hacerse con los estándares médicos aceptados:

Para determinar el "cese de todas las funciones de todo el cerebro, incluido el tronco encefálico", los médicos deben:

1. Determinar la presencia de coma sin respuesta.
2. Determinar la ausencia de reflejos del tronco encefálico.
3. Determinar la ausencia de impulsos respiratorio después de una prueba con CO₂.
- 4.

Para garantizar que el cese de la función cerebral sea "irreversible", los médicos deben:

1. Determinar la causa del coma
2. Excluir condiciones médicas que se puedan confundir con el coma
3. Observar al paciente por un periodo de tiempo para excluir la posibilidad de recuperación.

Suicidio asistido

Consiste en proporcionarle a una persona los medios suficientes para que pueda, ella misma, causarse la muerte (1).

Aborto

La palabra aborto proviene del latín *abortus*, "ab" que significa privativo y "ortus" nacimiento. Es decir, interrupción de la probabilidad de nacimiento. La OMS define al aborto como "la interrupción de un embarazo antes de las 20 semanas de gestación o cuando el producto tiene un peso menor a 500 gramos" (17-19).

Clasificación

- Aborto espontáneo: aquel que sucede sin la intervención de circunstancias que interfieran artificialmente en la gestación (16).
- Aborto selectivo o eugenésico: es aquel que se realiza para evitar el nacimiento de un individuo afectado por una anomalía congénita (16).
- Aborto terapéutico: es aquel practicado por razones médicas para preservar la vida de la madre (16).
- Aborto electivo o voluntario: aquel realizado por decisión de la mujer o su pareja (13,16).

Complicaciones del aborto inseguro

- Hemorragias.
- Infecciones.
- Perforación uterina.
- Infertilidad

APLICACIONES CLÍNICAS

La bioética aborda los problemas morales derivados de los avances en las ciencias biológicas, El estudio de la ética prepara a los estudiantes de medicina a reconocer situaciones difíciles y a tratarlas de manera racional y con principios, entre estas

- Principios de relación médico paciente.
- Correcta utilización del consentimiento informado.
- Eugenesia.
- Eutanasia.

PREGUNTAS DE EVALUACIÓN

1. ¿Qué son los CEAS?
2. En caso de una extracción de sangre venosa a un paciente, ¿es necesario el consentimiento informado por escrito? ¿Sí? ¿No? ¿Por qué?
3. Investigue cuáles son las excepciones de aplicación del consentimiento informado.
4. ¿Qué es la revocación del consentimiento informado?
5. ¿Qué es la lista de espera única nacional?
6. En Ecuador, ¿qué tipos de aborto son legales?
7. ¿Qué es el misoprostol?
8. ¿Cuáles son las posibles complicaciones de un aborto?
9. ¿Qué es el óbito fetal?
10. Enliste y justifique varios argumentos en contra y a favor de la eugenesia, eutanasia y aborto.
11. Comente su opinión sobre una de las siguientes películas: Mar adentro, La Chica del millón, Wit My sister's keeper o Siete almas

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE



Referencias Bibliográficas

1. Sánchez González MA. Bioética en ciencias de la salud. Barcelona: Elsevier Masson; 2013.
2. Williams JR. Manual de Etica Medica. Reino Unido: Wordl Health Communication Associates; 2013.
3. Morales González JA. Principios de ética, bioética y conocimiento del hombre. 2014.
4. Código de Núremberg - Bioeticawiki. 26 de enero 2015]. Disponible en: https://www.bioeticawiki.com/C%C3%B3digo_de_N%C3%BAremberg
5. The World Medical Association-Declaración de Helsinki de la AMM – Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos [citado octubre del 2013]. Disponible en: <https://www.wma.net/es/policies-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos>.
6. DECLARACIÓN DE HELSINKI Antecedentes y posición de la Comisión Nacional de Bioética [helsinki.pdf](#) Disponible en: <http://www.conbioetica-mexico.salud.gob.mx/descargas/pdf/helsinki.pdf>
7. Aparisi S, Carlos J. Los principios de la bioética y el surgimiento de una bioética intercultural. Veritas. marzo de 2010;(22):121-57.
8. Research NC for the P of HS of B and B, National Commission for the Protection of Human Subjects of Biomedical and Behavioral Research. “The Belmont Report”. Ethical Principles and Guidelines for the Protection of Human Subjects of Research <http://www.hhs.gov/ohrp/humansubjects/guidance/belmont.html>
9. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Reglamento para el manejo de información confidencial en el Sistema Nacional de Salud. 2014.
10. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Modelo de gestión de aplicación del consentimiento informado en práctica asistencial. 2015.
11. Ministerio de Salud Pública del Ecuador, Instituto Nacional de Donación y Trasplante de Órganos, Tejidos y Células (INDOT). Ley Orgánica de Donación y Trasplante de Órganos, Tejidos y Células. 2011.
12. Soliz D, Jerves T, Encalada V, Chacón K, Guerrero A. Manual de Prácticas de Biología. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas; 2011
13. León MM, Villahoz PA, León CM, Martín T, Burón DQ. ANÁLISIS ÉTICO Y MÉDICO-LEGAL DE LA EUTANASIA EN LA UNIÓN EUROPEA. 2014;11.
14. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Guía de Práctica Clínica: Cuidados paliativos. Quito: Ministerio de Salud Pública, Dirección Nacional de Normatización-MSP; 2014, 312 pp.; 2017.
15. Fernández Fernández R, Baigorri González F, Artigas Raventos A. Limitación del esfuerzo terapéutico en Cuidados Intensivos. ¿Ha cambiado en el siglo XXI? Med Intensiva. septiembre de 2005;29(6):338–41.
16. Brain Injury and Brain Death | American Academy of Neurology [Internet]. [citado el 15 de septiembre de 2017]. Disponible en: <https://www.aan.com/Guidelines/Home/ByTopic?topicId=13>
17. Cunningham FG, editor. Williams obstetrics. 25th edition. New York: McGraw-Hill; 2018.
18. OMS | Manual de práctica clínica para un aborto seguro [Internet]. WHO. [citado 28 de abril de 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/reproductivehealth/publicatio>

ns/unsafe_abortion/clinical-practice-safe-abortion/es/

19. Carlson LM, Vora NL. Prenatal Diagnosis. *Obstet Gynecol Clin North Am.* junio de 2017;44(2):245–56.

13

Seminario

Alcoholismo y drogodependencia

JUSTIFICACIÓN

La exposición a ciertas sustancias u objetos puede crear dependencia física y psicológica. Estos hábitos personales están influenciados por factores sociales, psicológicos y del objeto de adicción.

Frente a este tópico es imperioso destacar en el ámbito biológico, el papel del retículo endoplasmático liso de los hepatocitos y su maquinaria enzimática, especialmente el citocromo P450, como catalizadores de reacciones de detoxificación, fundamental en la farmacocinética de diversas drogas. De manera similar, merece una mención especial el rol de las modificaciones celulares y moleculares en el desarrollo de fenómenos como la dependencia y la tolerancia, a través de procesos de adaptación celular como la inducción enzimática, activación y síntesis de nuevos receptores a nivel neuronal, entre otros.

En esta guía definiremos qué es una adicción, expondremos sus consecuencias, haremos una revisión de la naturaleza de las principales sustancias y cuáles son sus efectos sobre el organismo, dependiendo del tipo de acción que ejerzan en el sistema nervioso central y en base a qué estímulos fisiológicos actúan produciendo la adicción.

LOGROS DE APRENDIZAJE DEL SEMINARIO

- ¶ Clasifica e identifica los efectos de las drogas usadas con más frecuencia.
- ¶ Define la farmacodinamia de las drogas.
- ¶ Diferencia los tipos de dependencia.
- ¶ Establece medidas de prevención.

Adicción

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) es una enfermedad física y psicoemocional que crea una dependencia o necesidad hacia una sustancia, actividad o relación (1).

Se caracteriza por un conjunto de signos y síntomas, en los que se involucran factores biológicos, genéticos, psicológicos y sociales.

Es una enfermedad progresiva y fatal, caracterizada por episodios continuos de descontrol, distorsiones del pensamiento y negación ante la enfermedad (1).

La dependencia física y psicológica implica que las personas presenten tres o más de los siguientes criterios en un período de 12 meses:

- Necesidad de consumir la sustancia (adicción).
- Dificultad para controlar dicho consumo.
- Síndrome de abstinencia al interrumpir o reducir el consumo.
- Tolerancia.
- Abandono progresivo de actividades ajenas al consumo de la sustancia.
- Persistencia en el uso de la sustancia a pesar de sus efectos perjudiciales.

Niveles de adicción

1. Experimentación: la persona, guiada por lacuriosidad, se ánima a probar una droga, pudiendo posteriormente continuar el consumo o interrumpirlo (1).

2. Uso: el compromiso con la droga es bajo. Se consume los fines de semana y en oportunidades casuales. No existe deterioro laboral, social o familiar (1).

3. Abuso: el uso se hace regular durante casi todas las semanas y hay episodios de intoxicación (1).

4. Adicción: relación de amigos y familiar se rompe, dificultades académicas y laborales. Búsqueda compulsiva de la droga. Hay conductas de riesgo como: promiscuidad sexual, uso de drogas intravenosas o combinación de varias drogas, accidentes de tránsito (1).

Drogas

Son sustancias naturales o sintéticas, médicas o no, legales o ilegales que tienen un efecto psicoactivo sobre el sistema nervioso central (2,3).

Trastornos relacionados con sustancias

1.- Por consumo

Abuso: definido por el consumo que conlleva un malestar clínicamente significativo, expresado por uno o más de los siguientes ítems durante 12 meses (4):

- Consumo recurrente que da lugar al incumplimiento de obligaciones en el trabajo
- Consumo recurrente en situaciones físicamente peligrosas
- Problemas legales repetidos relacionados con la sustancia
- Consumo continuado a pesar de tener problemas sociales e interpersonales

Dependencia: definida por el consumo que conlleva un deterioro o malestar clínicamente significativo expresado por 3 o más de los siguientes ítems siguientes en un período de 12 meses (4):

- Tolerancia, definida por:
 - Una necesidad de cantidades crecientes para conseguir la intoxicación o el efecto deseado, o
 - El efecto de las mismas cantidades disminuye con su consumo continuado.
- Abstinencia, definida por:

- El síndrome de abstinencia característico para la sustancia, o
- Se toma la misma sustancia (o una parecida) para aliviar o evitar los síntomas de abstinencia.
- La sustancia es tomada con frecuencia en cantidades mayores o durante un período más largo de lo que inicialmente se pretendía.
- Deseo persistente o esfuerzos infructuosos de controlar o interrumpir el consumo.
- Empleo de mucho tiempo en actividades relacionadas con la obtención, el consumo o la recuperación de los efectos de la sustancia.
- Reducción de actividades sociales, laborales o recreativas debido al consumo.
- Consumo continuo a pesar de tener consciencia de problemas psicológicos o físicos recidivantes.

2.- Inducidos por sustancias

- Intoxicación: síndrome reversible, dado por la exposición reciente de una sustancia
- Abstinencia
- Delirium: trastorno agudo caracterizado por alteración de la conciencia (confusión) y disminución de la atención acompañado de otros signos y síntomas.
- Demencia: trastorno crónico y progresivo que se presenta con amnesia acompañada de apraxia, afasia, agnosia.
- Amnesia
- Psicosis
- Ansiedad
- Trastornos del estado de ánimo

- Trastornos del sueño
- Trastornos sexuales
- No especificadas (4)

Clasificación de las drogas

En la Tabla 13 se esquematiza la clasificación de las drogas (5,6).

Tabla 13. Clasificación de las Drogas		
Estimulantes	Depresoras	Alucinógenas
Anfetaminas	Etanol	LSD
Cocaína	Opiáceos	Acetonas
Nicotina	Cannabinoides	Bencenos
Xantinas	Inhalables	
Cafeína	Ácido γ-hidroxiútrico	
MDMA		

Elaborado por: los autores

Estimulantes

Anfetaminas: la droga más conocida de este grupo es el éxtasis, administrada por vía oral en forma de comprimidos o cápsulas (2).

Cocaína: es un alcaloide que se obtiene de las hojas de la especie *Erythroxylon* (*E. coca*) y se expende en forma de sal (clorhidrato de cocaína) (2,3).

La intoxicación, ya sea con anfetaminas o cocaína, se caracteriza por deterioro de la coordinación motora, euforia, ansiedad, sensación de que el tiempo transcurre lentamente, deterioro del juicio, retraimiento social, durante o poco después del consumo, y dos (o más) de los siguientes síntomas (4):

- Taquicardia o bradicardia
- Dilatación pupilar
- Hipertensión o hipotensión
- Escalofríos o sudoración
- Náusea o vómito
- Pérdida de peso
- Agitación o retardo psicomotor

- Debilidad muscular, depresión respiratoria, dolor precordial o arritmias cardíacas
- Confusión, convulsiones, disinesias, distonías o coma

El síndrome de abstinencia se da por la interrupción o disminución del consumo prolongado de la sustancia y se caracteriza por un estado de ánimo disfórico, acompañado de

- Sueños vívidos y desagradables
- Fatiga
- Insomnio o hipersomnias
- Aumento del apetito
- Retraso o agitación psicomotores

Nicotina: la nicotina es el principal alcaloide del tabaco. Es la segunda droga estimulantes más usada (luego de la cafeína) y la segunda droga más consumida (después del alcohol) (2).

El síndrome de abstinencia se da por la interrupción brusca o disminución de la cantidad de nicotina consumida, se caracteriza por:

- Insomnio
- Estado de ánimo disfórico o depresivo
- Irritabilidad, frustración o ira
- Ansiedad
- Dificultad para concentrarse
- Inquietud
- Disminución de la frecuencia cardíaca
- Aumento del apetito o del peso

Además, el consumo de cigarrillo aumenta el riesgo de EPOC, cáncer de pulmón, insuficiencia vascular periférica, enfermedad tromboembólica, úlceras gástricas, dislipidemias, HTA, disfunción eréctil (7). La CDC ha reportado que los cigarrillos electrónicos producen un aerosol al calentar un líquido que generalmente contiene nicotina, saborizantes y otros químicos que los usuarios inhalan y que se asocian con casos de lesión pulmonar aguda. Los pacientes presentan disnea, taquipnea, hipoxemia, náuseas, vómitos, molestias abdominales y fiebre e infiltrados pulmonares bilaterales en la radiografía de tórax (8).

Metilxantinas: grupo formado por la teofilina (té), teobromina (cacao) y cafeína (café). La intoxicación por estas sustancias se caracteriza por un consumo reciente (mayor a 250 mg) y 5 (o más de los siguientes poco después (2,4,8):

- Inquietud
- Nerviosismo
- Excitación
- Insomnio
- Eritema facial
- Poliuria
- Trastornos gastrointestinales
- Calambres
- Taquicardia o arritmias
- Agitación psicomotora

Alucinógenos

Son sustancias capaces de producir distorsión de la realidad. Algunos también producen intensa y rápidas fluctuaciones emocionales. Dentro de este grupo se incluye el LSD, la marihuana y los derivados del cornezuelo de centeno (2). Hay que poner que son alucinaciones como falsas percepciones de objetos o situaciones

Cannabinoides – Marihuana: derivada de la planta del cáñamo (*Cannabis sativa*) contiene diversas moléculas conocidas como

cannabinoides de los cuales destaca el tetrahidrocanabinol que se consume por vía oral o inhalatoria (2,3).

Un estudio evidenció una relación temporal entre el consumo crónico de marihuana y la presencia de esquizofrenia y otros tipos de psicosis, 5 años posterior al inicio del consumo (9).

La intoxicación por cannabis se caracteriza por deterioro de la coordinación motora, euforia, ansiedad, sensación de que el tiempo transcurre lentamente, deterioro del juicio, retraimiento social, durante o hasta 2 horas después del consumo, y dos (o más) de los siguientes síntomas (4):

- Inyección conjuntival
- Aumento de apetito
- Sequedad boca
- Taquicardia

Sustancias inhalables: son sustancias volátiles que producen vapores químicos que tras ser inhalados por vía nasal u oral originan un efecto psicoactivo. Se incluyen: disolventes, gasolinhas, pegamentos, anestésicos (2).

La intoxicación por inhalables se caracteriza por el consumo reciente a dosis altas seguido de un comportamiento problemático o cambios psicológicos poco después con dos o más de los siguientes (4):

- Mareo
- Nistagmus
- Ataxia
- Afasia motora
- Marcha inestable
- Letargia
- Hiporreflexia
- Retardo psicomotor
- Temblor

- Debilidad muscular
- Visión borrosa o diplopía
- Estupor o coma
- Euforia

Depresores

Opiáceos: los opioides son sustancias derivadas el opio, naturales y sintéticas. Entre ellos tenemos morfina, heroína, codeína, loperamida, oxicodona, fentanilo, remifentanilo. Muchos de ellos tienen indicaciones médicas como el manejo del dolor crónico, anestesia general o manejo de la tos, con distintos grados de efectividad. La heroína, a pesar de tener un efecto terapéutico, es muy adictiva por lo cual no se considera un fármaco (2,3).

Etanol:

Según la OMS cada año se producen 3 millones de muertes en el mundo debido al consumo nocivo de alcohol, lo que representa un 5,3% de todas las defunciones.

El uso nocivo de alcohol es un factor causal en más de 200 enfermedades y trastornos, así como de accidentes de tránsito.

En general, el 5,1% de la carga mundial de morbilidad y lesiones es atribuible al consumo de alcohol.

El consumo de alcohol provoca defunción y discapacidad a una edad relativamente temprana. En el grupo etario de 20 a 39 años, un 13,5% de las defunciones son atribuibles al consumo de alcohol. (1)

El uso del etanol supera a todas las otras drogas. Su efecto depresor se basa en la inhibición del sistema reticular activador ascendente (SARA) ubicado en el tronco del encéfalo y encargado de controlar el nivel de consciencia de las personas, así como la función cardiorespiratoria (2,8).

La intoxicación por alcohol se caracteriza por cambios

psicológicos y comportamentales desadaptativos (sexualidad inapropiada, comportamiento agresivo, labilidad emocional, deterioro de la capacidad de juicio y deterioro de la actividad laboral y social) que se presenta durante o minutos después de la ingesta y uno o más de los siguientes síntomas (4):

- Lenguaje furfullante
- Incoordinación
- Marcha inestable
- Nistagmo
- Deterioro de la atención o de la memoria
- Estupor o coma

La abstinencia se caracteriza por dos o más de los siguientes síntomas, horas o días después de la interrupción (o disminución) de consumo prolongado y en grandes cantidades (4):

- Hiperactividad autonómica (sudoración, taquicardia)
- Temblor distal de las manos
- Insomnio
- Náuseas, vómito
- Alucinaciones visuales, táctiles o auditivas transitorias, o ilusiones
- Agitación psicomotora
- Ansiedad
- Crisis convulsivas

Factores que predisponen a las adicciones

Sociales

- Culturas que fomentan el consumo
- Disponibilidad de las drogas
- Aceptación por círculos sociales
- Mitos relacionados (como el machismo, el poder)
- Publicidad engañosa
- Legislación insuficiente

Familiares

- Padres consumidores
- Familiar permisivas
- Familias disfuncionales

Individuales

- Necesidad de compensación para la frustración, soledad, baja autoestima, problemas afectivos, económicos, etc.

Tratamiento integral

Es necesario manejar al paciente como un todo, no solo enfocándose en el aspecto de abuso y/o dependencia.

Prevención

La prevención consiste en una serie de acciones frente al consumo de sustancias encaminadas a (9):

- Eliminar o modificar los factores de riesgo y
- Fomentar factores de protección

Objetivos:

- Retrasar el inicio del consumo de sustancias.
- Evitar que se produzca el consumo o conducta adictiva
- Evitar que se convierta en un problema para la persona o para su entorno social

Los programas de prevención tienen como objetivo cambiar de manera favorable el balance entre los factores de riesgo y los de protección frente a las adicciones en el ámbito educativo, familiar, social.

- Educativo
- Familiar
- Social

Prevención en la familia: Enseñar a los padres cómo reducir los factores de riesgo y fortalecer la relación intrafamiliar tratando de:

- Mejorar las habilidades de interacción familiar
- Fijar expectativas claras
- Supervisar la conducta de sus hijos
- Mantener la disciplina

Prevención Educativa: Las instituciones educativas son lugares donde las personas van creciendo, tanto a nivel individual como social, adquiriendo conocimientos y habilidades básicas para su desarrollo, por ello se debe:

- Realizar promoción de la salud, incluyendo la prevención de las adicciones.
- Promover en adolescentes la adquisición de conocimientos y habilidades que favorezcan el desarrollo de estilos de vida saludables.
- Desarrollar actitudes saludables e informar los riesgos del consumo de drogas.
- Promover habilidades para abordar los problemas que se presentan a lo largo de la vida.
-

Prevención social:

Detectar de forma precoz menores que están iniciándose en el consumo de drogas.

Prevenir trastornos de abuso y dependencia y posibilitar una intervención temprana

Orientar a las familias sobre qué hacer y cómo actuar para prevenir el consumo de drogas.

APLICACIONES CLÍNICAS

El consumo de sustancias es un problema de salud pública, con repercusiones tanto en el individuo como en la sociedad. Para conseguir una reducción de la demanda del consumo de drogas es fundamental el desarrollo de medidas preventivas, para fomentar acciones de protección y evitar el abuso de sustancias, por ello es necesario conocer:

- Efectos de las drogas en el organismo.
- Trastornos por dependencia de sustancias.
- Tolerancia de sustancias.
- Síndromes de abstinencia.
- Tratamiento y prevención.

PREGUNTAS DE EVALUACIÓN

- 1.- Investigue 5 países en los que sea legal el consumo de varias drogas.
- 2.- ¿Qué es el delirium o síndrome confusional agudo?
- 3.- ¿Qué es la demencia?
- 4.- Elabore una tabla con los receptores del SNC para los opioides, cannabinoides, nicotina, alcohol y cocaína, así como su efecto.
- 5.- La cocaína, además de ser una sustancia psicoactiva, ¿qué otro efecto farmacológico posee?

6.- Enumere en orden descendente los opiodes existentes de acuerdo a su intensidad analgésica.

7.- Que programas se podrían proponer desde los estudiantes para la prevención del alcoholismo y las drogodependencias.

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE

A large, empty rectangular box with a thin black border, intended for the student to write their conclusions.

Referencias Bibliográficas

1. Alcohol [Internet]. [citado 18 de julio de 2019]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/alcohol>
2. Katzung BG. Basic & clinical pharmacology [Internet]. 2018 [citado 9 de abril de 2018]. Disponible en: <http://accessmedicine.mhmedical.com/book.aspx?bookid=2249>
3. Goodman LS, Gilman A, Brunton L, Chabner B, Knollman B, Higuera Murillo AR. Goodman & Gilman: las bases farmacológicas de la terapéutica. México, D.F.: McGraw-Hill; 2012.
4. American Psychiatric Association, American Psychiatric Association, editores. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5. 5th ed. Washington, D.C: American Psychiatric Association; 2013. 947 p.
5. Uhl GR, Koob GF, Cable J. The neurobiology of addiction. *Ann N Y Acad Sci.* septiembre de 2019;1451(1):5–28 Soliz D, Jerves T, Encalada V, Chacón K, Guerrero A. Manual de Prácticas de Biología. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas; 2011.
5. Kasper DL, editor. Harrison's principles of internal medicine. 19th edition / editors, Dennis L. Kasper, MD, William Ellery Channing, Professor of Medicine, Professor of Microbiology, Department of Microbiology and Immunobiology, Harvard Medical School, Division of Infectious Diseases, Brigham and Women's Hospital, Boston, Massachusetts [and five others]. New York: McGraw Hill Education; 2015. 1 p.
6. Hall JE. Guyton and Hall textbook of medical physiology. 13th edition. Philadelphia, PA: Elsevier; 2016. 1145 p.
7. Prevención de adicciones. Comunidad de Madrid. 2017 [citado 18 de julio de 2019]. Disponible en: <http://www.comunidad.madrid/servicios/salud/prevencion-adicciones>
8. Davidson K, Brancato A, Heetderks P, Mansour W, Matheis E, Nario M, et al. Outbreak of Electronic-Cigarette–Associated Acute Lipoid Pneumonia — North Carolina, July–August 2019. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* el 13 de septiembre de 2019;68(36):784–6.
9. Kelley ME, Wan CR, Broussard B, Crisafio A, Cristofaro S, Johnson S, et al. Marijuana use in the immediate 5-year premorbid period is associated with increased risk of onset of schizophrenia and related psychotic disorders. *Schizophr Res.* marzo de 2016;171(1–3):62–7.

14

Seminario

Alteraciones cromosómicas numéricas

JUSTIFICACIÓN

Las anomalías numéricas de los cromosomas ocurren generalmente por errores en la repartición de los mismos durante la meiosis, y en perspectiva, si son fecundados podrían determinar el nacimiento de un niño con un síndrome cromosómico, aunque la gran mayoría de estas concepciones terminan en aborto espontáneo. Si bien las meiosis alteradas pueden darse en la gametogénesis masculina o femenina, es en esta segunda donde con mayor frecuencia ocurren, debido a su largo período de dictioteno, donde los cromosomas se mantienen apareados.

En el mundo la alteración numérica más frecuente es el síndrome de Down, presentándose en 1 de cada 1.000-1.100 nacidos vivos (1). Las alteraciones físicas y a nivel de órganos de estos síndromes son típicas y les confieren a los niños una apariencia característica.

LOGROS DEL APRENDIZAJE DEL SEMINARIO

- 🔗 Conoce cuáles son las alteraciones cromosómicas numéricas más frecuentes.
- 🔗 Describe la etiología y fisiopatología de las alteraciones cromosómicas numéricas.
- 🔗 Identifica los principales signos y síntomas de cada uno de los síndromes cromosómicos.

Alteraciones numéricas de los cromosomas

Las cromosomopatías son enfermedades producidas por alteración de los cromosomas, tanto en su estructura como en su número, pudiendo ser evidenciadas a través del cariotipo (2-4).

Las alteraciones numéricas son las más comunes, siendo responsables de hasta el 50% de todos los abortos espontáneos y de diversos síndromes; se agrupan en dos tipos: euploidías y aneuploidías (5-8).

Euploidías: son anomalías correspondientes a múltiplos exactos del número haploide de cromosomas ($n=23$ cromosomas), es decir, existe una alteración en la dotación total de los mismos (poliploidías). Una célula somática normal (diploide) posee 46 cromosomas, mientras que en las poliploidías puede observarse:

- Triploidía: $3n$ cantidad de cromosomas (69 cromosomas), resultado de un fenómeno de dispermia, es decir, la fecundación de un ovocito por dos espermatozoides (Ilustración 46) (4).
- Tetraploidía: $4n$ cantidad de cromosomas (92 cromosomas) (4).

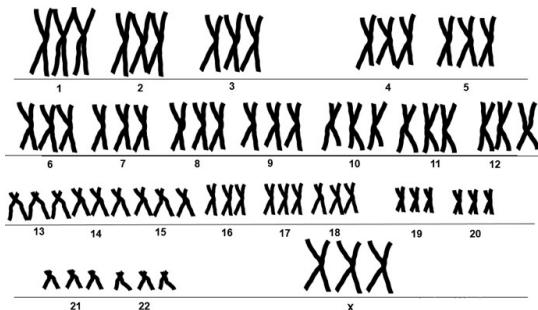


Ilustración 46. Triploidía (69, XXX).
Elaborado por: los autores.

A más de estas situaciones, existen también euploidías de origen parental, denominadas diandria y diginia (3). Todas las euploidías son incompatibles con la vida, perdiéndose la mayoría como abortos espontáneos durante el primer trimestre, y en casos excepcionales sobreviven hasta el momento del nacimiento (9).

Aneuploidías: cualquier cromosomopatía numérica que no corresponda a múltiplos exactos de la cantidad haploide es una aneuploidía, situación que afecta a pares cromosómicos específicos, pero no al juego total. Son más frecuentes que las euploidías y su etiología es la no disyunción, tanto durante la meiosis I como durante la meiosis II (10).

Cuando la no disyunción ocurre en la gametogénesis los gametos formados tendrán un cromosoma extra ($n+1$) o un cromosoma menos ($n-1$); la fertilización de estos por gametos normales resultará en dos tipos de cigotos: trisómicos ($2n+1$), dando origen a una trisomía; y monosómicos ($2n-1$), dando origen a una monosomía. La falta de dos cromosomas homólogos ($2n-2$) se denomina nulisomía, la presencia de cuatro cromosomas homólogos ($2n+2$) tetrasomía, y la existencia de dos cromosomas demás, correspondientes cada uno a un par homólogo distinto ($2n+1+1$), se conoce como doble trisomía (10).

La mayor parte de las aneuploidías son letales, perdiéndose también como abortos espontáneos. Sin embargo, alteraciones específicas pueden dar lugar a determinados síndromes, especialmente aquellas que implican a los cromosomas acrocéntricos y a los pares sexuales, debido a la escasa cantidad de genes presentes en los primeros (y en el cromosoma Y), así como por fenómenos de compensación, en el caso de X (4,6).

Síndrome de Down

Cariotipo $47,XY+21$ (hombre) y $47,XX+21$ (mujer).
Denominado así en honor a John Langdon Haydon Down,

médico británico que describió el síndrome en 1866, más tarde identificado como una trisomía del cromosoma 21 por J. Lejeune en 1959 (3).

Epidemiología: su prevalencia es de aproximadamente 1 por cada 1.000 embarazos, de los cuales un gran porcentaje se pierde como aborto, lo que da como resultado una frecuencia de 13,5 por cada 10 000 nacidos vivos en Estados Unidos (1,11).

Los niños con síndrome de Down son nacidos de padres de todas las edades, aunque el riesgo incrementa a medida que lo hace la edad de la madre: 1 por 1.000 a los 30 años, 1 por 400 a los 35 años y 1 por 100 a los 40 años (9). El 85% de los pacientes con este síndrome supera el primer año de vida, y a partir de entonces la supervivencia varía según las anomalías viscerales presentes (6).

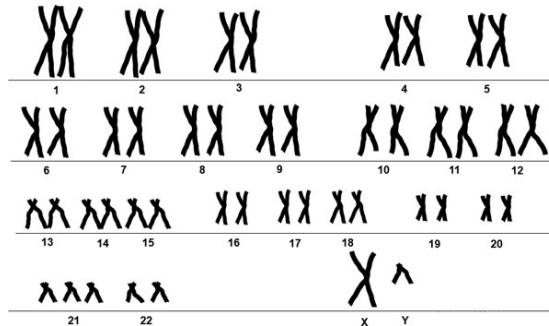


Ilustración 47. Cariotipo Síndrome de Down (47,XY,+21).
Elaborado por: los autores.

Etiología:

- Trisomía 21: 95% de los casos (Ilustración 47).
- Translocación robertsoniana 14:21 (la más común): 3-4% de los casos.

- Mosaicismo o isocromosomas: 1-2% de los casos (11).

Clínica:

- Diferentes grados de discapacidad intelectual.
- Retraso del crecimiento intrauterino.
- Hipotonía muscular.
- Epicanto.
- Micrognatia.
- Hipoplasia maxilar y protrusión lingual.
- Pabellones auriculares de longitud disminuida.
- Braquidactilia.
- Pliegue simiano.
- Cardiopatías congénitas: persistencia del conducto arterioso, comunicación interauricular, comunicación interventricular.
- Atresia duodenal o esofágica.
- Mayor riesgo de: reflujo gastroesofágico, enfermedad celíaca, hipotiroidismo, estrabismo, cataratas, infecciones respiratorias, diabetes mellitus, obesidad, leucemia, enfermedad de Alzheimer precoz, etc. (3,5,9,11).

Síndrome de Edwards

Cariotipo 47,XY+18 (hombre) y 47,XX+18 (mujer).
Descrito por John H. Edwards en 1960. Es la segunda trisomía más común luego del síndrome de Down, y al igual que este, guarda relación con la edad materna.

Epidemiología: su prevalencia es de 1 por cada 6 600 recién nacidos vivos. Menos del 5% supera el primer año de vida, siendo su supervivencia aproximada de 3 a 14,5 días (5,6,11).

Etiología: trisomía 18 (Ilustración 48).

Clínica:

- Retraso del crecimiento intrauterino.
- Retraso del desarrollo psicomotor.
- Dolicocefalia.
- Hidrocefalia.

- Espina bífida.
- Micrognatia.
- Pabellones auriculares dismórficos y de implantación baja.
- Malformaciones cardíacas, renales, gastrointestinales, oculares y de las extremidades.
- Hernias abdominales.
- Criptorquidia (3,5,7,9)

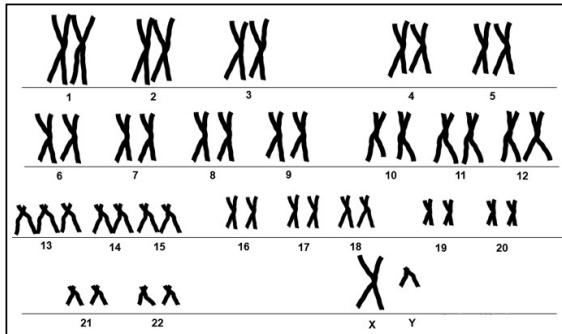


Ilustración 48. Cariotipo Síndrome de Edwards (47,XY,+18).
Elaborado por: los autores.

Síndrome de Patau

Cariotipo 47,XY+13 (hombre) y 47,XX+13 (mujer). Descrito por Klaus Patau en 1960. Al igual que el síndrome de Edwards posee una elevada letalidad y la mayoría se pierden como abortos espontáneos (11).

Epidemiología: su prevalencia es de 1 por cada 12 000 recién nacidos vivos. Menos del 5% supera el primer año de vida y menos del 10% el primer día (5,6,11).

Etiología: la trisomía 13 es su causa más frecuente (Ilustración 49), seguida por la translocación robertsoniana 13 -14 (11-14).

Clínica:

- Labio leporino
- Pladar hendido
- Microftalmia.
- Anoftalmia.
- Coloboma.
- Microcefalia.
- Holoprosencefalia.
- Hipoplasia cerebelosa.
- Agenesia del cuerpo calloso.
- Polidactilia.
- Pabellones auriculares de implantación baja.
- Malformaciones cardíacas, renales.
- Criptorquidia (3,5-7,9).

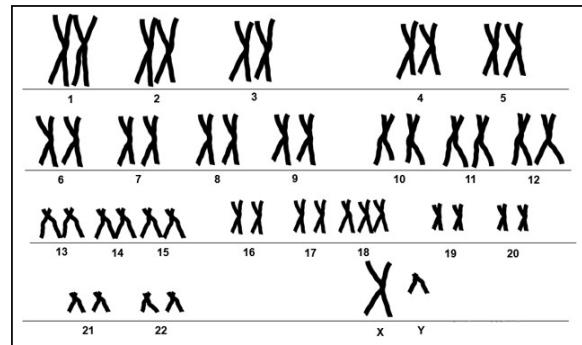


Ilustración 49. Cariotipo Síndrome de Patau (47, XY+13).
Elaborado por: los autores

Síndrome del Triple X

Cariotipo 47,XXX. También denominado síndrome de la súper mujer o trisomía X. Típicamente no se asocia a alteraciones fenotípicas, aunque algunas características suelen ser frecuentes. La mayor parte de pacientes son fértiles, debido a que el daño gonadal, cuando está presente, se ocasiona una vez que han tenido lugar la

diferenciación y el desarrollo del ovario, quedando algún grado de función folicular, sin embargo, pueden tener dificultades en la formación de los gametos y transmitir su condición (15,16).

Epidemiología: su prevalencia es de 1 por cada 1.000 mujeres (11,16).

Etiología: trisomía X. El cromosoma extra deriva de la madre en más del 90% de los casos (11).

Clínica:

- Talla alta.
- Características faciales leves como epicanto.
- Clinodactilia.
- Tamaño cefálico proporcionalmente más pequeño.
- Retraso del desarrollo motor y del lenguaje.
- Comportamiento introvertido, dificultad con relaciones interpersonales.
- Mayor probabilidad de desórdenes psiquiátricos.
- Diferentes grados de retardo mental: el IQ es menor con cada cromosoma X extra, tanto en hombres (47,XXY) como en mujeres (48,XXXX o 49,XXXXX) (4,17,18).

Síndrome XYY

Cariotipo 47,XYY. No posee asociación con la edad de los padres y no presenta características fenotípicas propias. **Epidemiología:** su prevalencia es de 1 por cada 1 000 hombres (11).

Etiología: una copia extra del cromosoma Y, debido a no disyunción meiótica paterna (11,17-20).

Clínica:

- Estatura ligeramente mayor a la media de la población.
- Pubertad normal.
- Fertilidad afectada en algunos casos: oligospermia.
- Inteligencia normal, aunque existe cierto

riesgo de deterioro del lenguaje.

- Se pensaba que un cromosoma Y adicional estaba asociado a una conducta violenta y comportamiento criminal, sin embargo, múltiples estudios no han llegado a esta conclusión.
- La presencia de copias extra del cromosoma Y, así como la coexistencia de repeticiones de X e Y se asocian a anomalías fenotípicas evidentes y retraso mental importante (11,20).

Síndrome de Klinefelter

Cariotipo 47,XXY (Ilustración 50). Descrito por Harry Klinefelter en 1942, es la anomalía más frecuente de los cromosomas sexuales (11,21).

Epidemiología: su prevalencia es de 1 por cada 600 hombres (11).

Etiología: una copia extra del cromosoma X (11).

Clínica: fenotípicamente no hay ningún dato anómalo hasta la pubertad, en que pueden objetivarse signos de hipogonadismo.

- Pubertad: aparece a una edad normal pero los testículos no se desarrollan y permanecen pequeños, con escasa producción de testosterona, requiriendo por ello tratamiento hormonal a largo plazo.
- Pene pequeño.
- Estatura alta.
- Infertilidad, azoospermia, oligospermia: debido a fibrosis y hialinización de los túbulos seminíferos (resultado de una secreción excesiva de gonadotropinas).
- Pobre desarrollo de los caracteres sexuales secundarios.
- Vello corporal escaso y de distribución ginecoide.
- Masa muscular poco desarrollada.
- Distribución femenina del tejido celular

subcutáneo.

- Ginecomastia.
- Disfunción sexual: disfunción eréctil, pérdida de la libido.

Capacidad intelectual: el IQ de estos individuos es ligera pero significativamente inferior que el de los varones con cromosomas normales (9,11,22).

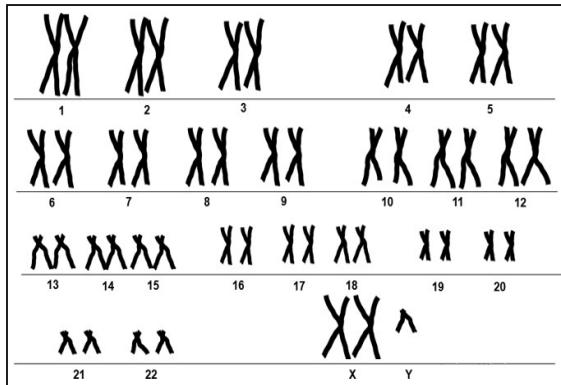


Ilustración 50. Cariotipo Síndrome de Klinefelter (47,XXY).
Elaborado por: los autores.

Síndrome de Turner

Cariotipo 45,X. Descrito en 1.938 por Henry H. Turner, es la única monosomía compatible con la vida (11,21).

Epidemiología: su prevalencia es de 1 por cada 5.000 nacidos vivos o de 1 por cada 2.500 mujeres (11).

Etiología: ausencia de una copia del cromosoma X (Ilustración 51) o presencia de una copia incompleta del mismo (9,22-24).

Clínica: existen 3 fenotipos distintos: aborto espontáneo en el primer trimestre (98%), higroma quístico e hidropesía fetal (terminan en muerte fetal) y aquellos casos que llegan a la edad adulta, en quienes es común:

- Malformaciones congénitas: cardíacas (coartación de la aorta), renales (riñón en herradura).
- Ptosis palpebral.
- Epicanto.
- Baja estatura.
- Pterigium colli.
- Baja implantación del cabello y pabellones auriculares.
- Cúbito valgo.
- Tórax plano, amplio “en forma de escudo”.
- Hipotiroidismo.
- Síndrome metabólico.
- Enfermedad inflamatoria intestinal.
- Desarrollo retrasado o incompleto de la pubertad, que incluye mamas pequeñas y vello púbico disperso.
- Infertilidad.
- Disgenesia de ovarios.
- Ojos secos.
- Amenorrea primaria.
- Dispareunia (9,11,24).

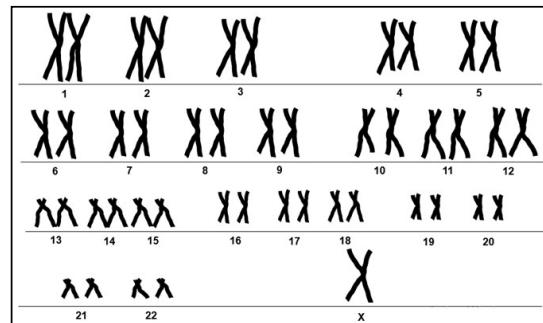


Ilustración 51. Cariotipo Síndrome de Turner.
Elaborado por: los autores

Consejo Genético

También denominado asesoramiento genético, es un proceso de comunicación mediante el cual profesionales cualificados y calificados (consejero genético o genetista clínico) proporcionan información y apoyo a familias afectadas o en riesgo de padecer un trastorno genético, comparten conocimientos sobre los aspectos genéticos de las enfermedades, ayudan a las personas a comprender sus afecciones genéticas, así como las posibilidades de ser afectados o tener un hijo o cualquier miembro de la familia con un trastorno genético, capacitando de esta manera a los pacientes en la toma de decisiones autónomas e informadas sobre procedimientos preventivos, diagnósticos y terapéuticos (25–28).

Indicaciones

- Antecedentes familiares de cromosomopatías.
- Riesgo elevado de mutaciones genéticas.
- Antecedentes familiares de cáncer.
- Malformaciones detectadas al nacimiento, sean únicas o múltiples.
- Alteraciones metabólicas que debuten dentro de las primeras horas o semanas de vida.
- Historia de abortos a repetición.
- Consanguinidad.
- Resultados anómalos de pruebas durante control prenatal (ultrasonido, amniocentesis).
- Planificación familiar.
- Infertilidad (3,9,25).

Momentos clave durante la sesión:

- Obtención de la información: antecedentes familiares, antecedentes médicos personales, pruebas o evaluaciones adicionales.
- Evaluación: examen físico, pruebas

analíticas y de imagen. Establecimiento del diagnóstico.

- Orientación: naturaleza y consecuencias de la enfermedad (carga para el paciente y la familia, impacto clínico, psicológico, social, económico, etc.).
- Riesgo de recurrencia y posibilidad de modificar la carga y/o riesgo de recurrencia de la afección genética al paciente y/o a su familia.
- Toma de decisiones: remisión a otros especialistas, así como grupos de apoyo.
- Planificación de una evaluación continua.
- Apoyo social.
- Desarrollo de la ciencia en el futuro: información acerca de los eventuales procedimientos que estén ocurriendo en el campo de la afección genética en cuestión y que puedan incidir en probables tratamientos específicos (por ejemplo, terapia génica) que mejoren la calidad de vida de los afectados.

Características

- La información proporcionada debe ser precisa, actualizada, verídica, científicamente comprobada, imparcial, objetiva y expresada en términos apropiados, según el nivel educativo de los pacientes o sus familiares (26-28).
- La comunicación es fundamental y debe ser bidireccional, tanto para brindar la información a los pacientes y sus familias, como para recibir sus temores, inquietudes y aspiraciones.
Teniendo en cuenta los factores psicológicos y emocionales implicados en torno a la enfermedad, la consulta debe realizarse en un sitio agradable, tranquilo, privado, con el tiempo suficiente para solventar las dudas que se manifiesten.
- Incluir no únicamente los datos desalentadores sino las oportunidades y el apoyo del que pueden disponer (6).

APLICACIONES CLÍNICAS

El conocimiento de los signos y síntomas de las cromosopatías permitirá que el quehacer médico no pase por alto aquellos casos, que, aunque no son muy frecuentes, no son imposibles de hallar.

- Aproximación al diagnóstico de las principales alteraciones cromosómicas numéricas.
- Diagnóstico, factores de riesgo, complicaciones de pacientes con síndrome de Down.
- Diagnóstico diferencial entre las diferentes cromosopatías.
- Consejería genética (ver seminario 17).

PREGUNTAS DE EVALUACIÓN

1.- Realizar gráficos a través de los cuales se expliquen las diferencias entre euploidía, aneuploidía y mosaicismo.

2.- Investigar qué otros factores, a más de la edad materna, están relacionados con un riesgo incrementado de anomalías cromosómicas.

3.- Realizar un gráfico que explique la génesis de una trisomía.

4.- Realizar un álbum con imágenes que representen los fenotipos de las alteraciones cromosómicas numéricas.

5.- Realizar una revisión bibliográfica y posterior ensayo acerca de las barreras y facilidades para la participación física, intelectual y social de los pacientes con síndrome de Down. Citar adecuadamente las referencias consultadas.

6.- Hacer cromosomas sexuales en cartulina y explicar cómo ocurren los síndromes:

XXY origen paterno y materno

XYY

XO origen paterno y materno

7.- Buscar imágenes del periodo de dictionema o diplonema y poner la duración del mismo (ejemplos).

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE

Referencias Bibliográficas

1. Lagan N, Huggard D, Mc Grane F, Leahy TR, Franklin O, Roche E, et al. Multiorgan involvement and management in children with Down syndrome. *Acta Paediatr.* junio de 2020;109(6):1096–111.
2. Robbins SL, Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Cotran RS, Perkins JA, et al. Robbins y Cotran: patología estructural y funcional. 2015.
3. Solari AJ, Roubicek M. Genética humana: fundamentos y aplicaciones en medicina. Madrid [etc.: Médica Panamericana; 2011.
4. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson, genética en medicina. Barcelona: Elsevier España; 2016.
5. Esparza-García E, Cárdenas-Conejo A, Huicochea-Montiel JC, Araújo-Solís MA. Cromosomas, cromosomopatías y su diagnóstico. *Revista Mexicana de Pediatría.* 2017;84:10.
6. Lewis R. Human genetics: concepts and applications. Eleventh edition. New York: McGraw-Hill Education; 2015. 1 p.
7. Sadler T.W. Langman Embriología Médica. 13° ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
8. Roberts JL, Buckley RH, Luo B, Pei J, Lapidus A, Peri S, et al. CD45-deficient severe combined immunodeficiency caused by uniparental disomy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 26 de junio de 2012;109(26):10456-61.
9. Goldstein ML, Morewitz S. Chromosomal Abnormalities. En: *Chronic Disorders in Children and Adolescents* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2011 [citado 31 de marzo de 2018]. p. 31-58. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-9764-7_2
10. Soliz D, Jerves T, Encalada V, Chacón K, Guerrero A. Manual de Prácticas de Biología. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas; 2011.
11. Cunningham FG, Williams JW, editores. Williams obstetrics. 24th ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2014. 1385 p.
12. Chinnarappa Prakash A, Sharanappa Devarmani S, Ganesh Patil A, Karnappa Andola S. EDWARDS SYNDROME: AUTOPSY REPORT OF TWO CASES. *J Evol Med Dent Sci.* 17 de marzo de 2016;5(22):1199-202.
13. Fleitas L. Patau syndrome or trisomy 13: a case report. *Nac.* 2014;6(2):55-60.
14. Información sobre la anoftalmía y la microftalmia | Defectos de nacimiento | NCBDDD | CDC [Internet]. [citado 1 de abril de 2018]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/ncbddd/spanish/birthdefect/s/anophthalmia-microphthalmia.html>
15. Reference GH. Triple X syndrome [Internet]. Genetics Home Reference. [citado 23 de abril de 2018]. Disponible en: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/triple-x-syndrome>
16. Otter M, Schrandner-Stumpel CT, Curfs LM. Triple X syndrome: a review of the literature. *Eur J Hum Genet.* marzo de 2010;18(3):265-71.

17. Reference GH. 47,XXX syndrome [Internet]. Genetics Home Reference. [citado 24 de abril de 2018]. Disponible en: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/47xyy-syndrome>
18. Kim IW, Khadilkar AC, Ko EY, Sabanegh ES. 47,XXX Syndrome and Male Infertility. *Rev Urol*. 2013;15(4):188-96.
19. Griffiths DA. Shifting syndromes: Sex chromosome variations and intersex classifications. *Soc Stud Sci*. febrero de 2018;48(1):125-48.
20. Bonomi M, Rochira V, Pasquali D, Balercia G, Jannini EA, Ferlin A. Klinefelter syndrome (KS): genetics, clinical phenotype and hypogonadism. *J Endocrinol Invest*. febrero de 2017;40(2):123-34.
21. Giménez-Serrano S, Borrell-Muñoz M. Hallazgo de un caso de síndrome de Klinefelter durante el estudio del dolor testicular crónico. *SEMERGEN - Med Fam*. enero de 2011;37(1):41-4.
22. Shankar RK, Backeljauw PF. Current best practice in the management of Turner syndrome. *Ther Adv Endocrinol Metab*. enero de 2018;9(1):33-40.
23. Chaput B, Chavoïn JP, Lopez R, Meresse T, Nadon F, Herlin C, et al. The «Posterior Cervical Lift»: A New Approach to Pterygium Colli Management. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. septiembre de 2013;1(6):e46.
24. Malla TM, Dar FA, Pandith AA, Zargar MH. Frequency and pattern of cytogenetic alterations in primary amenorrhea cases of Kashmir, North India. *Egypt J Med Hum Genet*. enero de 2016;17(1):25-31.
25. WHO | Genetic counselling services [Internet]. WHO. [citado 29 de abril de 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/genomics/professionals/counselling/en/>
26. Genetic Counseling | Genetic Testing | Genomics | CDC [Internet]. 2018 [citado 29 de abril de 2018]. Disponible en: https://www.cdc.gov/genomics/gtesting/genetic_counseling.htm
27. Middleton A, Hall G, Patch C. Genetic counselors and Genomic Counseling in the United Kingdom. *Mol Genet Genomic Med*. marzo de 2015;3(2):79-83.
28. Alliance G, Screening Services TNY-M-AC for G and N. GENETIC COUNSELING [Internet]. Genetic Alliance; 2009 [citado 29 de abril de 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK115552/>

15

Seminario

Alteraciones cromosómicas estructurales

JUSTIFICACIÓN

Las anomalías estructurales de los cromosomas son aquellas que se producen por alteración en la secuencia normal de los fragmentos génicos que componen un cromosoma. Se originan como consecuencia de roturas cromosómicas seguidas de reconstitución, dando lugar a una combinación aberrante.

En conjunto, son menos frecuentes que las aneuploidías, con una prevalencia general de 0.3% al momento del nacimiento (1). Se producen de manera espontánea con una frecuencia baja y también inducidas por agentes externos llamados teratógenos, como la radiación ionizante, infecciones víricas y gran variedad de productos químicos.

LOGROS DE APRENDIZAJE DEL SEMINARIO

- ‡ Conoce las principales alteraciones cromosómicas estructurales.
- ‡ Distingue las principales características de cada síndrome.

Alteraciones cromosómicas estructurales

También denominadas mutaciones cromosómicas, son la segunda causa de patología cromosómica, después de las aneuploidías, y a diferencia de ellas, las alteraciones estructurales representan un reto diagnóstico mayor, para el cual se requieren técnicas como la hibridación fluorescente in situ (FISH) y microarray (2). La hibridación fluorescente in situ (FISH) es una técnica citogenética molecular que utiliza sondas fluorescentes que se unen solo a aquellas partes de una secuencia de ácido nucleico con un alto grado de complementariedad de secuencia. El principio detrás de los microarrays es que las secuencias complementarias se unirán entre sí. Las moléculas de ADN desconocidas se cortan en fragmentos mediante endonucleasas de restricción y marcadores fluorescentes están unidos a estos fragmentos de ADN. Luego se les permite reaccionar con sondas del chip de ADN. Obedecen a roturas (tanto en el momento cromatínico como en el cromosómico) y reordenamientos cromosómicos, mismos que pueden ocurrir de forma espontánea, bien por fuerzas físicas o por ciertos compuestos químicos. La recombinación homóloga es un tipo de recombinación genética en la que las secuencias de nucleótidos se intercambian entre dos moléculas similares o idénticas de ADN. Es la más utilizada por las células para reparar roturas nocivas en ambas hebras de ADN. La recombinación homóloga también produce nuevas combinaciones de secuencias de ADN durante la meiosis (espermatozoides y óvulos). Estas nuevas combinaciones de ADN representan la variación genética en la descendencia, y permite que las poblaciones se adapten (evolución). La recombinación homóloga se utiliza también en la transferencia horizontal de genes para el intercambio de material genético entre diferentes cepas y especies de bacterias y virus. (2–4).

Al producirse rotura se obtendrá un fragmento acéntrico (sin centrómero) y otro con centrómero; en este caso, el fragmento acéntrico se perderá, pues al no tener

centrómero no se produce la migración a uno de los polos de la célula en la división mitótica (3).

Otra de las consecuencias de las roturas, cuando ocurren en los extremos y se pierde parte de los telómeros, es que se generan extremos “pegajosos” que pueden dar lugar a asociaciones erróneas entre cromosomas (3).

El resultado final es un ordenamiento alterado de las secuencias de ADN presentes en los cromosomas, mutaciones que pueden ser (3):

- Balanceadas (equilibradas): si se conserva la cantidad de material genético, es decir, no se gana ni se pierde.
- Desbalanceadas (desequilibradas): si no se conserva la cantidad normal de material genético, existiendo ganancia o pérdida.
- Intracromosómicas: si involucran un solo cromosoma.
- Intercromosómicas: si involucran más de un cromosoma, entre los cuales se reorganiza el material genético (2,5).

La Tabla 14 enlista los tipos de alteraciones cromosómicas estructurales.

Tabla 14. Tipos de Alteraciones Cromosómicas Estructurales	
Reordenamientos Intracromosómicos	Reordenamientos Intercromosómicos
*Delección *Inversión *Duplicación *Cromosomas en anillo *Isocromosomas	*Translocación *Inserción *Reordenamientos cromosómicos complejos *Cromosoma marcador

A esta clasificación deben sumarse “sitios frágiles”. Tomado y modificado de (3).

Deleciones

Implican la pérdida de secuencias de ADN (Ilustración 52) (3). La mayoría de las deleciones ocurren durante la meiosis y son el resultado de mala alineación o falta de coincidencia de los cromosomas durante el crossing over.

Cuando esto sucede, el segmento desalineado puede ser eliminado (1).

Las deleciones se producen entre los cromosomas miembros de un par homólogo, originando una rotura a dos niveles, de manera que los fragmentos pueden unirse de forma diferente, produciendo en un cromosoma deleción y en el otro una duplicación (6).

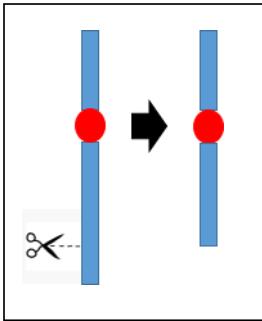


Ilustración 52. Deleción.
Elaborado por: los autores.

Se describen dos tipos de deleciones:

- Terminales, que se producen con una única rotura en el cromosoma.
- Intersticiales, cuando en el cromosoma se producen dos roturas (2).

Las deleciones en cromosomas homólogos (cuando ambos pares homólogos tienen la misma deleción) son letales, revelando que la mayoría de las regiones de los cromosomas son esenciales para la viabilidad celular y que la eliminación completa de cualquier segmento del genoma es deletérea. Por el contrario, las deleciones en heterocigotos dan lugar a determinados síndromes (7):

1. Síndrome de Cri du Chat

También llamado “síndrome del maullido de gato”, su

frecuencia es de aproximadamente 1 por cada 15.000 a 50.000 nacimientos vivos (4). El promedio de vida generalmente estará dentro de lo normal, a menos que posean anomalías congénitas severas en órganos vitales. **Etiología:** deleción del brazo corto del cromosoma 5 (ubicación: 5p15.2-15.3) (1).

Clínica:

- Llanto muy agudo (anomalías en el desarrollo laríngeo).
- Hipotonía muscular.
- Microcefalia.
- Bajo peso al nacer.
- Hipertelorismo: aumento de la distancia existente entre dos órganos homólogos y contralaterales, por ejemplo, los ojos.
- Micrognatia: mandíbula pequeña.
- Epicanto.
- Orejas de implantación baja.
- Trastornos del lenguaje.
- Retraso en el desarrollo psicomotriz (especialmente para comenzar a caminar), problemas en la alimentación, hiperactividad, escoliosis y retardo mental severo (1,8-10).

2. Síndrome de Angelman

El médico inglés Harry Angelman adoptó en 1950, el término “muñecos felices” para describir a tres pacientes que compartían dos características fundamentales: un andar rígido y una risa excesiva. Su prevalencia es de 1 por cada 12.000 a 20.000 habitantes (11).

Etiología: puede tener cuatro orígenes distintos:

- Deleción del brazo largo del cromosoma 15 de origen materno (ubicación: 15q11.2-q13).
- Disomía uniparental de 15q11-q13 de origen paterno.
- Mutación de la impronta.
- Mutación del gen UBE3A (1,8,9,11).

Clínica:

- Risa, sonrisa y excitabilidad frecuentes.

- Microcefalia.
- Retraso severo en el desarrollo del lenguaje: disminución en la capacidad de habla o uso mínimo de palabras.
- Imposibilidad de mantener atención durante tiempos prolongados
- Trastornos de movimiento y equilibrio: ataxia y temblor.
- Movimientos de aleteo de manos, hipermotricidad.
- Crisis convulsivas antes de los tres años de edad.
- Estrabismo.
- Boca grande, dientes espaciados.
- Mandíbula prominente (11,12).

3. Síndrome de Prader-Willi

Descrito en Suiza por Prader, Labhart y Willi en el año 1956. Su prevalencia es de aproximadamente 1 por cada 10.000 a 30.000 habitantes (13,14).

Etiología: las alteraciones cromosómicas y la localización de las lesiones son las mismas que se presentan en el síndrome de Angelman, pero en el síndrome de Prader-Willi estas son heredadas del cromosoma paterno:

- Deleción del brazo largo del cromosoma 15 de origen paterno (ubicación: 15q11.2-q13).
- Disomía uniparental de 15q11-q13 de origen materno.
- Mutación de la impronta.
- La pérdida de la expresión del gen UBE3A no es una causa de Prader-Willi, pues conduce únicamente a síndrome de Angelman (11,14).

Clínica:

- Llanto débil y dificultad para la succión al momento del nacimiento.
- Desarrollo tardío e incompleto en la pubertad.

- Talla baja con extremidades cortas.
- Obesidad.
- Hipotonía muscular.
- Hipogonadismo.
- Criptorquidia.
- Retraso mental.
- Diabetes mellitus juvenil (8,14).

Cromosomas en anillo

Existen diversos mecanismos para la formación de cromosomas en anillo, siendo el más frecuente la rotura a ambos lados del centrómero y la posterior unión de los extremos (Ilustración 53). Su frecuencia es muy variada, con un rango entre 1:28 a 1:62.000. Este tipo de cromosomas son frecuentes en neoplasias como carcinomas, sarcomas y leucemias (1,2).

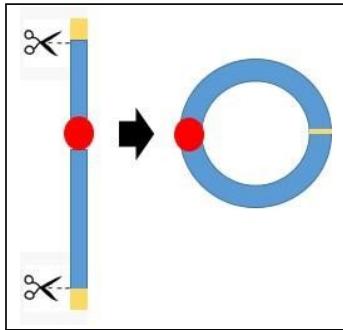


Ilustración 53. Cromosomas en anillo.
Elaborado por: los autores.

El síndrome de cromosoma 15 en anillo, que resulta de la delección de una parte del brazo corto del cromosoma 15 (15q25-26), se caracteriza por microcefalia, retraso en el crecimiento, retraso mental, estatura corta y anomalías faciales distintivas (15).

Duplicaciones

Pueden ser definidas como una trisomía parcial. Consisten en la inclusión de una porción cromosómica de manera repetida (2 veces e incluso 3 veces) (Ilustración 54) (1,2).

Según la posición del segmento repetido las duplicaciones pueden ser:

- En tándem, cuando la región duplicada se localiza adyacente y en el mismo orden que la región original. Un claro ejemplo de este tipo de duplicación es la hemoglobina humana y la génesis de formas anormales como la hemoglobina Lepore, donde existe un entrecruzamiento con intercambio de material genético entre un gen δ -globina y

un gen β - globina y la consecuente formación de un gen híbrido δ - β globina. La síntesis de la Hb Lepore

Según el origen pueden ser: uniparentales (debidas a errores durante la meiosis) o biparentales (debidas a errores post cigoto, resultando en un mosaicismo) (2).

Las duplicaciones pequeñas suelen ser viables, constituyéndose en un ejemplo de mutación a favor de la evolución de las especies (16).

Por su parte, los cromosomas marcadores supernumerarios e isocromosomas son considerados formas especiales de duplicación (2).

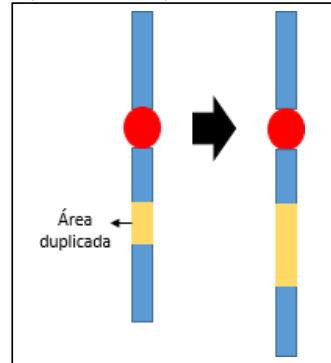


Ilustración 54. Duplicación
Elaborado por: los autores

Isocromosomas

Son el resultado de una partición anómala del centrómero durante la división celular, haciéndolo de manera transversal en lugar de longitudinal, originando un

cromosoma constituido por dos brazos largos y otro por dos brazos cortos (Ilustración 55), hecho que en última instancia constituye una duplicación y una deleción, respectivamente (1,2).

Los isocromosomas se presentan infrecuentemente. Algunas veces se observan en el síndrome de Turner (3).

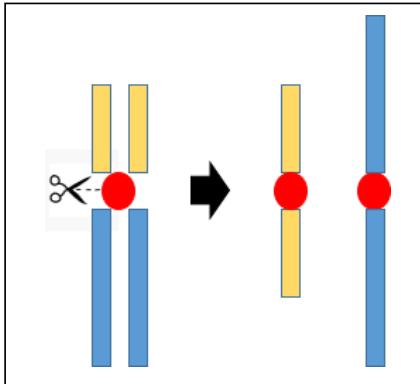


Ilustración 55. Isocromosomas.
Elaborado por: los autores.

1. Síndrome de Pallister-Killian

Descrito por Pallister en 1977 y por Killian en 1983. Es el resultado de material genético adicional del cromosoma 12 (isocromosoma supernumerario 12p [tetrasomía 12p]). El cuadro clínico incluye: retardo mental severo, atonía muscular, facciones toscas, frente prominente, labio superior muy delgado, labio inferior grueso y nariz corta. Otros problemas de salud asociados son convulsiones, mala alimentación, rigidez en las articulaciones, cataratas (en adultos), pérdida auditiva y defectos cardiopatías (2,17).

Inversiones

Son reordenamientos intracromosómicos originados por dos rupturas en un cromosoma seguidas de la reinserción del fragmento rotado en 180° (Ilustración 56) (18).

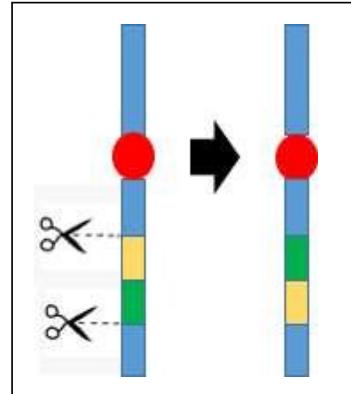


Ilustración 56. Inversión.
Elaborado por: los autores.

Según la cantidad de fragmentos existen inversiones simples, cuando en un cromosoma hay un fragmento invertido; o complejas, cuando se invierten simultáneamente diversos segmentos de un mismo cromosoma (3,16).

Según la relación con el centrómero, ocurren inversiones pericéntricas (puntos de corte localizados en el brazo largo y en el corto, involucrando el centrómero) y paracéntricas (puntos de corte localizados en el mismo brazo, sea este largo o corto, sin involucrar el centrómero) (2,3).

1. Síndrome de Ambras

También conocido como hipertricosis universal congénita, fue descrito en 1993 por Baumeister y colaboradores. Es una rara alteración de la cual se han reportado, hasta 2016, únicamente 10 casos. Su etiología es una inversión en el cromosoma 8 (8q22-24). Se caracteriza por la

presencia de vello fino, rubio, de tipo lanugo, distribuido por todo el cuerpo, respetando palmas, plantas y mucosas. Los pacientes no presentan mayor morbilidad ni mortalidad con respecto al resto de la población, sin embargo, su aspecto los convierte en individuos susceptibles a padecer problemas psicológicos y discriminación social (19,20).

Translocaciones

Son alteraciones que implican la ruptura o segmentación de fragmentos cromosómicos (generalmente heterólogos) y el posterior intercambio de dichas secuencias (Ilustración 57) (2).

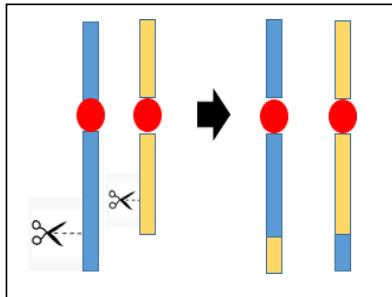


Ilustración 57. Translocación.
Elaborado por: los autores.

Según la correspondencia mutua de segmentos cromosómicos intercambiados las translocaciones pueden ser de dos tipos (1):

- **Recíprocas:** son menos frecuentes. Existe una correspondencia mutua entre los fragmentos cromosómicos translocados, es decir, un segmento de un cromosoma A pasa al cromosoma B y viceversa. Por su parte las translocaciones recíprocas pueden ser:
 - *Balanceadas (equilibradas):* existe compensación total de los segmentos fragmentados, no hay ganancia ni pérdida de material genético en el individuo, sino únicamente un reordenamiento. Bajo estas circunstancias los individuos generalmente no presentan alteraciones fenotípicas, sin embargo, se constituyen en portadores de la alteración. Las principales manifestaciones clínicas son alteraciones de la fertilidad (1,4).
 - *Desbalanceadas (desequilibradas):* no existe compensación total de los segmentos fragmentados, hay ganancia o pérdida de material genético en el individuo, que generalmente da lugar a trisomías o monosomías parciales, incompatibles con la vida.
- **No Recíprocas:** no existe una correspondencia mutua entre los fragmentos cromosómicos translocados, es decir, un segmento de un cromosoma A pasa a un cromosoma B sin que un segmento del B pase al A. Un tipo especial dentro de estas translocaciones es la Robertsoniana.

La **translocación Robertsoniana** es la alteración estructural más frecuente de los cromosomas, presentándose en 1 de cada 1.000 recién nacidos. Se

produce entre los cromosomas acrocéntricos (13, 14, 15,21,22) no homólogos, principalmente translocaciones 13- 14 (Síndrome de Patau) y 14-21 (Síndrome de Down), en los cuales, segmentaciones cercanas al centrómero determinarán la unión de los brazos largos de un cromosoma A con los largos de un cromosoma B y la unión de los brazos cortos de un cromosoma A con los cortos de un cromosoma B. Dicho fenómeno dará origen a dos cromosomas “mixtos”, uno formado por dos brazos largos unidos y otro formado por dos brazos cortos unidos, este último suele perderse por contener únicamente satélites y organizadores nucleolares, sin involucrar heterocromatina (1,2,4,9).

Como estas alteraciones ocurren durante la meiosis, la segregación al azar de los cromosomas en la gametogénesis determina la generación de 4 tipos de espermatozoides u ovocitos: 1 normal (con cromosomas 14 y 21 íntegros), 1 con el cromosoma translocado (brazos largos), 2 gametos sin un cromosoma, pues corresponde a los brazos cortos unidos que degeneran.

Así, posteriormente a una fecundación, los individuos que presenten ganancia de material genético (al poseer 2 brazos largos) expresarán un fenotipo patológico, los que experimenten pérdida de material genético (al poseer 2 brazos cortos) originarán un monosomía y se perderán como abortos, y aquellos que presenten una translocación balanceada (45 cromosomas compensados por la translocación) serán portadores (1,2,4,9).

Un padre portador de la translocación 14-21, poseedor de cualquiera de las 4 variedades de cigotos descritos, al fecundar un ovocito normal podría dar lugar a: un niño normal, un niño portador de la translocación, una monosomía (aborto) y un niño con

Síndrome de Down, siendo esta la explicación para los casos del síndrome sin relación con la edad materna y de carácter hereditario. Poner el diagrama

Sitios Frágiles - Síndrome X Frágil

Pueden existir sitios cromosómicos frágiles, que en el cariotipo dan el aspecto de una muesca, mismos que son susceptibles de romperse cuando, por ejemplo, en cultivo hay carencias de ácido fólico. Este es el caso del cromosoma X frágil (síndrome de Martin-Bell), el cual afecta a ambos sexos, aunque se presenta con mayor frecuencia en varones, debido a que la penetrancia es 80% para ellos y únicamente entre 20 y 30% en mujeres. **Etiología:** incremento de repeticiones del trinucleótido CGG en la región del telómero del brazo largo (Xq27) del cromosoma X, siendo el rango de normalidad desde 5 hasta 44 repeticiones, de 45 a 54 se considera una zona gris, entre 55 y 200 se denomina premutación (ocasionando una zona inestable) y más de 200 repeticiones constituyen una mutación completa del gen FMR1, denominada FRAXA, que determinará el síndrome (22,23).

Clínica:

- Retraso mental (moderado a severo).
- Falta de atención e hiperactividad.
- Ansiedad y humor inestable.
- Cara alargada con mandíbula y orejas prominentes.
- Pies planos.
- Articulaciones hiperextensibles, especialmente en los dedos de las manos.
- En los varones: macroorquidismo (testículos grandes), que se evidencia en la adolescencia.

APLICACIONES CLÍNICAS

En el ambiente hospitalario es común encontrarse con ciertas enfermedades o condiciones que tienen un origen genético, para lo cual, sin importar la especialidad en la que se esté manejando al paciente, es imprescindible la intervención de la genética. Para ello, como médicos generales, es necesario tener los conocimientos básicos para comprender lo siguiente, expresados en términos médicos y genéticos:

- Aproximación al diagnóstico de las principales alteraciones cromosómicas estructurales.
- Fisiopatología de las cromosopatías.
- Semiotecnia de las enfermedades.
- Principios de relación médico paciente.
- Tratamiento y pronóstico.

PREGUNTAS DE EVALUACIÓN

1.- Indicar qué es una impronta genética. Citar algunos ejemplos.

2.- Realizar una revisión bibliográfica acerca del cromosoma Filadelfia.

3.- Indicar qué es una microdelección, establecer sus diferencias con las deleciones y citar ejemplos.

4.- Realizar una revisión bibliográfica referente al diagnóstico prenatal de síndrome de Down: técnicas utilizadas según las semanas de gestación, parámetros que valoran y disponibilidad en nuestro país.

5.- Realizar un álbum con imágenes que representen los fenotipos de las alteraciones cromosómicas estructurales.

6.- Realizar un dibujo en el que se esquematice un padre portador de translocación 14-21, los espermatozoides que originaría y su posible progenie con una mujer sin alteraciones en sus gametos.

7.- Una paciente de 32 años acude a consulta con su pareja, 3 meses posteriores a la muerte de su tercer hijo, quien padeció síndrome de Patau. Los resultados de estudios citogenéticos indican una translocación robertsoniana 13-14 como etiología del síndrome. Ante el deseo de completar el núcleo familiar con un tercer hijo sus principales inquietudes son: ¿es elevada la probabilidad de recurrencia del síndrome en un nuevo embarazo? ¿recomendaría planificar un nuevo embarazo? Solventar las interrogantes de la pareja y justificar apropiadamente las respuestas.

8.- ¿Qué es la enfermedad de Tay-Sachs?

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE

Referencias Bibliográficas

1. Cunningham FG, Williams JW, editores. Williams obstetrics. 24th ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2014. 1385 p.
2. Behrend C, Karimzad Hagh J, Mehdipour P, Schwanitz G. Structural Chromosome Aberrations. En: Human Chromosome Atlas [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2017 [citado 31 de marzo de 2018]. p. 3-9. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-54099-3_2
3. Lewis R. Human genetics: concepts and applications. Eleventh edition. New York: McGraw-Hill Education; 2015. 1 p.
4. Solari AJ, Roubicek M. Genética humana: fundamentos y aplicaciones en medicina. Madrid [etc.: Médica Panamericana; 2011.
5. Álvarez DCE, Jordán DG, Castillo F. Aberración cromosómica balanceada. A propósito de un caso. *Multimed*. 2013;17(4):8.
6. Soliz D, Jerves T, Encalada V, Chacón K, Guerrero A. Manual de Prácticas de Biología. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas; 2011.
7. Phadnis N, Fry JD. Widespread Correlations Between Dominance and Homozygous Effects of Mutations: Implications for Theories of Dominance. *Genetics*. septiembre de 2005;171(1):385-92.
8. Sadler T.W. Langman Embriología Médica. 13° ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
9. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson, genética en medicina. Barcelona: Elsevier España; 2016.
10. Gu H, Jiang J, Li J, Zhang Y, Dong X, Huang Y, et al. A familial Cri-du-Chat/5p deletion syndrome resulted from rare maternal complex chromosomal rearrangements (CCRs) and/or possible chromosome 5p chromothripsis. *PLoS One*. 2013;8(10):e76985.
11. Goldstein ML, Morewitz S. Chromosomal Abnormalities. En: Chronic Disorders in Children and Adolescents [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2011 [citado 31 de marzo de 2018]. p. 31-58. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-9764-7_2
12. Williams CA, Driscoll DJ, Dagli AI. Clinical and genetic aspects of Angelman syndrome. *Genet Med*. julio de 2010;12(7):385-95.
13. Dulac O, Lassonde M, Sarnat HB, editores. Pediatric neurology. Edinburgh ; New York: Elsevier; 2013. 3 p. (Handbook of clinical neurology).
14. Angulo MA, Butler MG, Cataletto ME. Prader-Willi syndrome: a review of clinical, genetic, and endocrine findings. *J Endocrinol Invest*. 2015;38:1249-63.
15. Cannarella R, Mattina T, Condorelli RA, Mongioi LM, Pandini G, La Vignera S, et al. Chromosome 15 structural abnormalities: effect on IGF1R gene expression and function. *Endocr Connect*. 18 de agosto de 2017;6(7):528-39.
16. Karp G, Iwasa J, Marshall W. Cell and Molecular Biology [Internet]. New York: Wiley; 2015 [citado 14

- de marzo de 2018]. Disponible en: <http://public.ebib.com/choice/PublicFullRecord.aspx?p=5106341>
17. Srinivasan A, Wright D. Pallister-Killian syndrome. *Am J Case Rep.* 7 de mayo de 2014;15:194-8.
 18. Martínez-Taibo, Tolabas, Dávila, Vilte. INVERSIONES CROMOSÓMICAS POCO FRECUENTES ASOCIADAS A FENOTIPOS NORMALES Y PATOLÓGICOS. *J Basic Appl Genet* [Internet]. 2014;25(1). Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/bag/v25s1/v25s1a06.pdf>
 19. Reddy Kundoor VK, Maloth KN, Kesidi S, Moni T. Ambras Syndrome with Gingival Hyperplasia: A Rare Entity. *Int J Trichology.* 2016;8(2):81-3.
 20. Pavone P, Praticò AD, Falsaperla R, Ruggieri M, Zollino M, Corsello G, et al. Congenital generalized hypertrichosis: the skin as a clue to complex malformation syndromes. *Ital J Pediatr* [Internet]. 5 de agosto de 2015 [citado 29 de abril de 2018];41. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4526284/>
 21. Ishita A, Sujatha GP, Pramod GV, Ashok L. Ambras syndrome: A rare case report. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* junio de 2016;34(2):189-91.
 22. Ciaccio C, Fontana L, Milani D, Tabano S, Miozzo M, Esposito S. Fragile X syndrome: a review of clinical and molecular diagnoses. *Ital J Pediatr* [Internet]. 19 de abril de 2017 [citado 29 de abril de 2018];43. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5395755/>
 23. Saldarriaga W, Tassone F, González-Teshima LY, Forero-Forero JV, Ayala-Zapata S, Hagerman R. Fragile X Syndrome. *Colomb Médica CM.* 45(4):190-8.

16

Seminario

Mutaciones

JUSTIFICACIÓN

Las mutaciones son cambios permanentes en el ADN y tienen repercusiones clínicas y sociales ya que tienen un rol principal en enfermedades hereditarias, carcinogénesis y evolución.

Este seminario tiene como propósito integrar los conocimientos previos de estructura y funcionamiento de los ácidos nucleicos, y particularmente, de los genes; y busca encontrar una explicación para los efectos de las mutaciones, enfermedades genético hereditarias, evolución y búsqueda de información referente a agentes mutágenos y prevención.

LOGROS DE APRENDIZAJE DEL SEMINARIO

- Define y clasifica las mutaciones.
- Identifica el efecto de las mutaciones en el fenotipo de los individuos.
- Determina los agentes mutágenos, así como los métodos de prevención existentes.

Mutaciones

Son modificaciones permanentes del ADN (en la secuencia de las bases), que alteran los genes y a su vez el fenotipo del individuo. Las mutaciones que afectan a las células germinales se transmiten a la descendencia y dan lugar a trastornos hereditarios. Las mutaciones que se originan en las células somáticas no causan enfermedades hereditarias, pero sí tienen importancia en la aparición de cánceres y algunas malformaciones congénitas (1–4).

Clasificación

Los términos mutación y polimorfismo a menudo generan confusión. Por lo tanto, se recomienda que estos términos sean reemplazados por el término "variante" con los siguientes modificadores (1,4,5,9):

- Patogénico
- Probablemente patogénico
- De significado incierto
- Probablemente benigno
- Benigno

Estos modificadores no abordan todos los fenotipos humanos, pero comprenden un sistema de clasificación de cinco niveles para las variantes relevantes para la enfermedad mendeliana. A continuación, se describen las clasificaciones existentes para las mutaciones:

1. Por el tamaño

- 1.1. **Mutaciones puntuales:** implican un cambio en un número reducido de nucleótidos o en un solo par. Producen la sustitución de un aminoácido por otro en las proteínas. Dado que estas mutaciones modifican el significado de la secuencia codificada, también se llaman mutaciones de "sentido erróneo". Cuando el aminoácido sustituido da lugar a pocos cambios

en la función proteica, se llama mutación de sentido erróneo "conservadora". Por otro lado, una mutación de sentido erróneo "no conservadora" sustituye el aminoácido normal por otro distinto. Un ejemplo clásico es la mutación que causa la anemia drepanocítica que afecta a la cadena de la β -globina de la hemoglobina. En este caso, el triplete de nucleótidos CTC (GAG en el ARNm), que codifica el ácido glutámico, es sustituido por CAC (GUG en el ARNm), que codifica la valina (Ilustración 58). Esta sustitución de un aminoácido único modifica las propiedades fisicoquímicas de la hemoglobina y causa la anemia.

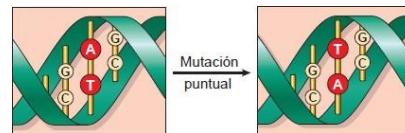


Ilustración 58. Mutación presente en la anemia drepanocítica. Elaborado por: los autores.

Además de ocasionar un cambio de aminoácido, una mutación puntual podría cambiar un codón de un aminoácido por otro de terminación (mutación sin sentido). Si se elige de nuevo el ejemplo de la β -globina, una mutación puntual que afecte al codón de la glutamina (CAG) da lugar a un codón de terminación (UAG) cuando se cambia la C por U. Este cambio origina la terminación prematura de la traducción del gen de la β -globina y el péptido corto que se genera se degrada con rapidez. La consiguiente deficiencia de cadenas de la β -globina puede dar lugar a la talasemia (Ilustración 59).

1.4. **Mutaciones de repeticiones de trinucleótidos:** se caracterizan por la amplificación de una secuencia de tres nucleótidos. Aunque la secuencia específica de nucleótidos que se amplifica es distinta en diversas enfermedades, casi todas las secuencias afectadas comparten los nucleótidos G y citosina C. Por ejemplo, el síndrome de X frágil, que es el ejemplo característico, muestra entre 250 y 4.000 repeticiones en tándem de la secuencia CGG dentro de un gen llamado *fragile X mental retardation 1* (FMR1). En las poblaciones normales, el número de repeticiones es pequeño, con un promedio de 29. Estas expansiones de las secuencias de trinucleótidos impiden la expresión normal del gen FMR1, lo que ocasiona retraso mental. Otra característica distintiva de las mutaciones por repetición de trinucleótidos es su carácter dinámico (es decir, el grado de amplificación aumenta durante la gametogonia).

1.5. **Grandes mutaciones:** son cambios que ocurren en genes completos, el cromosoma o incluso el juego completo de cromosomas (ver seminario 16 y 17):

- 1.5.1. Alteraciones cromosómicas estructurales
 - 1.5.1.1. Inversiones
 - 1.5.1.2. Translocaciones
 - 1.5.1.3. Deleciones
 - 1.5.1.4. Duplicaciones
- 1.5.2. Alteraciones cromosómicas numéricas

- 1.5.2.1. Euploidías
- 1.5.2.2. Aneuploidías

2. Por el origen

2.1. **Espontáneas:** son el resultado de la actividad normal de la célula o su interacción con el medio. Aparecen por errores en la replicación, reparación o recombinación. Existe una tasa “basal” de mutaciones que no tiene significancia clínica, sin embargo, los mecanismos de reparación corrigen el 99,9% de aquellas mutaciones

2.2. **Inducidas:** aquellas provocadas, directa o indirectamente, por agentes físicos o químicos (mutágenos).

3. Por el efecto fenotípico

3.1. **Positivas:** siendo esenciales para la evolución de las especies, ya que el gen mutado provee a los sujetos de ventajas adaptativas.

3.2. **Deletéreas:** que afectan la supervivencia de los individuos.

3.2.1. Subvitalas: la viabilidad del mutante es mayor al 10% pero menor al 100%.

3.2.2. Semiletalas: causan la muerte de más del 90% o en los primeros años de vida.

3.2.3. Letales: ocasionan la muerte de todos los individuos.

4. Por la dominancia

4.1. **Dominantes:** con un solo alelo del gen mutante se presenta la característica alterada, en homocigotos como en heterocigotos.

4.2. **Recesivas:** se requiere la mutación de ambos alelos para que se presente el rasgo.

5. Por la alteración en la función

5.1. **Ganancia de función:** determinan un incremento

en la actividad del producto (proteína). El efecto depende de la naturaleza de la proteína afectada. Como ejemplo tenemos los oncogenes, que aumentarían la replicación celular originando las neoplasias.

- 5.2. **Pérdida de función:** interrumpen la expresión del gen, la proteína no se sintetiza o si lo hace, no es funcional. Nuevamente, el efecto dependerá de la naturaleza de la proteína afectada.

6. Por el cromosoma que afectan

- 6.1. Somáticas
- 6.2. Sexuales

7. Por la célula que afectan

- 7.1. **Somáticas:** ocurren en células no sexuales, por lo que se expresan en algún rasgo del organismo, no se heredan.
- 7.2. **Gaméticas:** suceden en las células sexuales, resultando un cambio heredable, y en tal caso, todas las células del nuevo individuo presentan la mutación.

Mutágenos

Son agentes químicos o físicos que alteran la secuencia del ADN (2,3).

Mutágenos físicos

- **Radiaciones ionizantes:** como los rayos X, que provocan la inestabilidad molecular debido a la expulsión de electrones.
- **Radiaciones no ionizantes:** elevan los niveles de energía de los átomos volviéndolos inestables como los rayos UV (2,3).

Mutágenos químicos:

- **Directos:** compuestos que no necesitan ser

metabolizados para ejercer su acción mutagénica.

- **Indirectos:** al ser metabolizados generan compuestos que son los mutágenos, como los radicales libres producto de la actividad enzimática en el metabolismo aerobio de la célula (2,3).

Factores que aumentan las mutaciones

- El tamaño del gen, pues mientras más grande mayor riesgo tiene de ser expuesto a mutágenos, como el gen que codifica para la distrofina y causa la distrofia muscular de Duchenne.
- Secuencia de nucleótidos, como en el cromosoma X cuyos codones CGG constituyen un sitio "frágil" más susceptible a mutar (6).

Prevención

Si se pueden prevenir las mutaciones se podrían prevenir varias enfermedades. Por otro lado, si se pueden prevenir mutaciones en otros seres vivos, como en las bacterias, se podría evitar o disminuir la tasa de resistencia a los antimicrobianos. Para ello se puede (3,4):

- Disminuir la exposición a agentes mutagénicos, especialmente mediante la modificación de los estilos de vida (uso de protector solar, evitar el cigarrillo, uso de mandiles de plomo en caso de que por profesión se esté expuesto a radiaciones X).
- Uso de agentes químio-preventivos como vitaminas (C, E) que actúan como antioxidantes.

Secuenciación

La secuenciación del ADN permite localizar secuencias reguladoras y genéticas, hacer comparaciones entre genes homólogos entre especies e identificar mutaciones.

El método de Sanger (secuenciación de dideoxi o terminación de cadena), se basa en el uso de dideoxinucleótidos (ddNTP) además de los nucleótidos normales (NTP) encontrados en el ADN. Los dideoxinucleótidos son esencialmente los mismos que los nucleótidos, excepto que contienen un grupo hidrógeno en el carbono 3' en lugar de un grupo hidroxilo (OH). Estos nucleótidos modificados, cuando se integran en una secuencia, evitan la adición de más nucleótidos. Esto ocurre porque no se puede formar un enlace fosfodiéster entre el dideoxinucleótido y el siguiente nucleótido entrante, y así la cadena de ADN está terminada (10).

La secuenciación de futura generación (NGS, por sus siglas en inglés) utiliza diferentes tecnologías de secuenciación de millones de pequeños fragmentos de ADN en paralelo. Los análisis bioinformáticos se utilizan para juntar estos fragmentos mapeando las lecturas individuales al genoma de referencia humano. Cada una de los tres mil millones de bases en el genoma humano se secuencia varias veces, proporcionando una gran profundidad para entregar datos precisos y una idea de la variación inesperada del ADN. NGS puede usarse para secuenciar genomas completos o restringirse a áreas específicas de interés, incluidos los 22 000 genes codificadores (un exoma completo) o un pequeño número de genes individuales (11).

APLICACIONES CLÍNICAS

Aunque actualmente se dispone de muchas técnicas para diagnosticar los trastornos genéticos, es importante emplear estos métodos con buen criterio médico para decidir qué individuos los necesitan. En general, las pruebas que detectan alteraciones heredadas en la línea germinal se pueden dividir realizar en el período prenatal y posnatal. Se debería ofrecer el análisis genético prenatal a todos los pacientes con riesgo de tener una descendencia con

alteraciones genéticas. Se puede realizar con células obtenidas por amniocentesis, biopsia de vellosidad coriónica o en sangre del cordón umbilical. Algunas indicaciones importantes son las siguientes (7,8):

- Madre de edad avanzada (35 años), por el riesgo aumentado de trisomías.
- Padre portador de una translocación recíproca equilibrada, translocación robertsoniana o inversión.
- Padre con un hijo anterior afectado por un trastorno cromosómico.
- Feto con malformaciones identificadas por ecografía.
- Padre portador de un trastorno genético ligado al X.
- Concentraciones anormales de AFP, β -HCG y estriol en la triple prueba.

Los análisis genéticos posnatales se realizan en linfocitos de sangre periférica y sus indicaciones son:

- Malformaciones congénitas múltiples.
- Retraso mental y/o del desarrollo no explicados.
- Sospecha de aneuploidía.
- Sospecha de autosoma desequilibrado.
- Sospecha de trastorno de los cromosomas sexuales.
- Sospecha de síndrome del X frágil.

PREGUNTAS DE EVALUACIÓN

1. ¿Qué ocurre en la distrofia muscular de Duchenne? ¿Quiénes son los afectados?
2. ¿La neurofibromatosis es una enfermedad hereditaria?
3. ¿Cuál es el gen afectado en la poliposis familiar del colon? Elabore un gráfico que explique la etiopatogenia de la enfermedad.
4. ¿En qué consiste el síndrome de Lynch? ¿Es inocua la exposición a una tomografía axial computarizada?
5. ¿Cuáles son las posibles complicaciones de la exposición crónica a los rayos X?
6. Los rayos UV son conocidos mutágenos, ¿con qué patología se relacionan?
7. ¿Cuál es el error genético en la enfermedad de Huntington?
8. ¿Qué es la condrodisplasia?
9. ¿Qué es la mutagénesis dirigida? ¿Cuál podría ser su aplicación clínica?
10. ¿Qué medidas en general recomendaría a un paciente para prevenir las mutaciones?

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE

Referencias Bibliográficas

1. Lewis R. Human genetics: concepts and applications. Eleventh edition. New York: McGraw-Hill Education; 2015. 1 p.
2. Karp G, Iwasa J, Marshall W. Cell and Molecular Biology [Internet]. New York: Wiley; 2015 [citado 14 de marzo de 2018]. Disponible en: <http://public.eblib.com/choice/PublicFullRecord.aspx?p=5106341>
3. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, editores. Robbins and Cotran pathologic basis of disease. Ninth edition. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2015. 1391 p.
4. Turnpenny PD, Ellard S. Emery's elements of medical genetics. Edition 15. Philadelphia, PA: Elsevier; 2017. 400 p.
5. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. Mutations: Types and Causes. Molecular Cell Biology 4th edition [Internet]. 2000 [citado 15 de junio de 2019]; Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21578/>
6. Soliz D, Jerves T, Encalada V, Chacón K, Guerrero A. Manual de Prácticas de Biología. Cuenca: Facultad de Ciencias Médicas; 2011.
7. Sadler TW, Langman J. Embriología Médica. Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
8. Kasper DL, editor. Harrison's principles of internal medicine. 19th edition / editors, Dennis L. Kasper, MD, William Ellery Channing, Professor of Medicine, Professor of Microbiology, Department of Microbiology and Immunobiology, Harvard Medical School, Division of Infectious Diseases, Brigham and Women's Hospital, Boston, Massachusetts [and five others]. New York: McGraw Hill Education; 2015. 1 p.
9. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med. mayo de 2015;17(5):405–23.
10. França LTC, Carrilho E, Kist TBL. A review of DNA sequencing techniques. Q Rev Biophys. mayo de 2015;35(2):169–200.
11. Behjati S, Tarpey PS. What is next generation sequencing? Arch Dis Child - Educ Pract Ed. diciembre de 2013;98(6):236–8.

Clonación, células madre y reprogramación celular

JUSTIFICACIÓN

Uno de los logros más importantes alcanzados por la ciencia en el campo de la investigación genética ha sido la clonación de la oveja Dolly, el primer mamífero clonado a partir de una célula adulta, demostrando que a partir de células especializadas se podría crear una copia exacta del animal del cual provenían. Las células madre han permitido a los científicos plantear la posibilidad de reemplazar células viejas o enfermas, y transformar la medicina utilizando células madre como terapia para una amplia variedad de condiciones médicas.

En este seminario se expondrá la clonación y sus tipos, células madre, su clasificación usos y perspectivas, el concepto de reprogramación celular y las consideraciones éticas respectivas.

OBJETIVOS

- ¶ Definir qué es la clonación.
- ¶ Establecer diferencias entre clonación con fines reproductivos y terapéuticos.
- ¶ Conocer qué son las células madre.
- ¶ Indicar los tipos de células madre.

Clonación

La clonación es una forma de reproducción asexual que produce individuos o células genéticamente idénticos a partir de un individuo que ya existe, es decir puede utilizarse para producir copias genéticamente idénticas de un ente biológico. El material copiado, que tiene la misma composición genética que el original, se conoce como clon. Actualmente se han clonado materiales biológicos, células, genes, tejidos e incluso distintos tipos de animales (1).

En el año de 1979, los investigadores lograron obtener los primeros ratones genéticamente idénticos al dividir embriones murinos en un tubo de ensayo y luego al implantar los embriones resultantes en los vientres de ratonas adultas. Sin embargo, en el año de 1996, se logró clonar al primer mamífero de una célula (somática) madura tomada de un animal adulto. Luego de 277 intentos, investigadores escoceses clonaron a Dolly, producto de una célula de la ubre de una oveja de seis años (1).

Tipos de clonación

Encontramos la clonación natural y la clonación artificial. La clonación natural se presenta en plantas o bacterias, que producen descendientes genéticamente idénticos, y también en los hermanos gemelos monocigóticos (fruto de un mismo óvulo fecundado), que dan lugar a dos individuos genéticamente iguales.

La clonación artificial puede ser de tres tipos: clonación génica, clonación reproductiva y clonación terapéutica.

La clonación génica consiste en la producción de copias idénticas de un gen o un fragmento de DNA, célula u organismo, es una tecnología utilizada ampliamente por la ingeniería genética, los científicos esperan encontrar a través de la clonación genética la cura para varias enfermedades. La clonación de genes es utilizada para obtener en gran cantidad un gen específico, o segmentos de ADN, que puede ser utilizado para producir una nueva vacuna, un nuevo medicamento. A través de la clonación se pueden tomar genes de bacterias, virus, animales, plantas y humanos para combinarlos, gracias a las tecnologías de ingeniería genética (1, 2). Como ejemplo relevante podemos mencionar el caso de la insulina, una hormona requerida para metabolizar la glucosa que presenta déficit en personas con diabetes mellitus; con la clonación del gen y la inserción (recombinación) se produce la insulina en bacterias o levaduras.

La clonación reproductiva produce copias de animales enteros, es un método practicado artificialmente para clonar uno o más seres vivos que poseen un patrimonio genético idéntico al de su donante. Su objetivo es generar clones de seres vivos, como Dolly. Se puede realizar mediante dos técnicas diferentes que son la clonación por transferencia de un núcleo celular a una célula de un óvulo enucleado y la clonación por escisión gemelar (1).

La clonación terapéutica (transferencia nuclear de células somáticas o SCNT), produce células madre embrionarias para experimentos dirigidos a crear tejidos para reemplazar tejidos lesionados o afectados, su objetivo es desarrollar un embrión para extraer sus células madre y aplicarlas en la medicina, para crear tejidos u órganos dañados (1, 2).

Clonación de Dolly

La clonación de la oveja Dolly se realizó en el Instituto Roslin de Edimburgo (Escocia), por los genetistas Ian Wilmut y Keith Campbell, anunciando su nacimiento en 1997, siendo sacrificada el 14 de febrero de 2003, debido al sufrimiento padecido por enfermedades de tipo pulmonar y articulares (1, 3).

La clonación animal a partir de una célula adulta es mucho más difícil que de una célula embrionaria, por ello la creación de Dolly, único cordero nacido después de 277 intentos, fue una noticia de gran importancia en todo el mundo. Para fabricar a Dolly, los investigadores realizaron el siguiente procedimiento (Ilustración 61) (1, 3):

Usaron una célula de ubre de una oveja blanca de la raza Finn Dorset de seis años de edad, y de ella se extrajo el núcleo, que contiene todo el material genético (ADN) de la oveja adulta; para lo cual tuvieron que 'reprogramar' las células de ubre para mantenerlas vivas sin que crecieran, por ello alteraron su medio de crecimiento.

De otra oveja se obtuvo un óvulo no fecundado, el cual serviría de célula receptora, se sacó el núcleo (enucleación), eliminando todo el material genético de la oveja donante.

Se combinó el núcleo de la célula mamaria y, mediante impulsos eléctricos, se fusionó al óvulo sin núcleo de la oveja donante, se fusionaron las membranas externas del ovulo y de la célula mamaria. El núcleo con el ADN de la célula Donante se integró en el interior del ovulo vacío.

Con los mismos impulsos se activó al óvulo para que comenzara su división, tal y como lo hacen los óvulos fertilizados en un proceso natural de reproducción. Al sexto día, ya se habrá formado un embrión, el cual fue implantado en el útero de una tercera oveja, la madre sustituta, que tras un período normal de gestación, dio a luz a Dolly: una oveja exactamente igual a su madre genética.

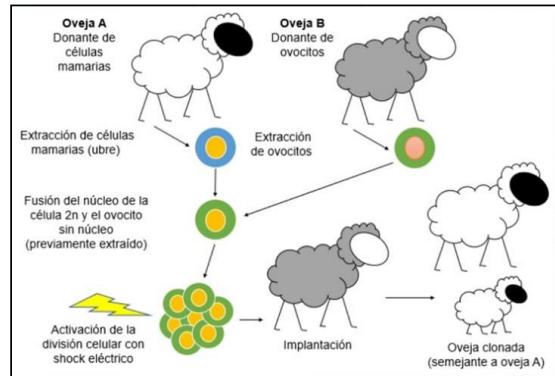


Ilustración 61. Clonación.

Elaborado por: los autores

Gracias a esta técnica, con la que se clonó a la oveja Dolly, científicos han logrado generar células madre humanas con el mismo ADN que un adulto –clonadas–, que luego podrían utilizarse con fines terapéuticos.

Células Madre

Las células madre son células dotadas de la capacidad de dar lugar a otras células, pueden diferenciarse en otros tipos celulares y autorrenovarse, es decir, dividirse y hacer copias de sí mismas (es decir producir más células madre), pudiendo colonizar, integrarse y originar nuevos tejidos (4).

Las células madre presentan características únicas:

- **Diferenciación:** capacidad de convertirse en distintos tipos de células especializadas en ciertas funciones.
- **Auto-renovación:** capacidad de crear nuevas células madre.
- **Proliferación:** capacidad de dividirse indefinidamente.

Las características de las células madre permiten la regeneración de tejidos dañados y la sustitución de células muertas, siendo por ello su importancia en el tratamiento de diversas enfermedades (5).

Fuentes de células madre

Las células madre se encuentran presentes en prácticamente todos los órganos y tejidos, siendo obtenidas con mayor frecuencia de (6):

- Cordón umbilical.
- Tejido adiposo.
- Médula Ósea.
- Sangre periférica.

Se clasifican según su origen en: células madre adultas y células madre embrionarias.

Células madre adultas

Son aquellas células madre no diferenciadas que tienen la capacidad de "clonarse" y crear copias de sí mismas para regenerar órganos y tejidos. Las células madre adultas más conocidas y empleadas en la medicina son las células madre hematopoyéticas, las mismas que encontramos en la médula ósea y en el cordón umbilical del recién nacido (6).

Células madre embrionarias

Las células madre embrionarias sólo existen en las primeras etapas del desarrollo embrionario, son obtenidas a partir de embriones viables y son capaces de producir cualquier tipo de células en el organismo; son células que, bajo condiciones adecuadas, conservan la capacidad de dividirse indefinidamente (4).

Por su potencia las células madre se clasifican en:

- **Células madre totipotentes:** tienen la capacidad para formar un organismo con tres capas embrionarias (endodermo, mesodermo y ectodermo), células madre germinales (óvulo y espermatozoides) y extraembrionarias, (especialmente la placenta, y son las primeras células que constituirán la mórula.)
- **Células madre pluripotentes:** pueden diferenciarse en células de cualquiera de las tres capas embrionarias, pero no en células extraembrionarias. Por lo tanto, no pueden originar tejidos que hagan posible el desarrollo de un organismo completo (7).

- **Células madre multipotentes:** dan origen a otras en su propia línea por ejemplo las sanguíneas
- **Células madre uni o monopotentes** exclusivamente de su tipo.
- **Células madre pluripotentes inducidas:** o células madre “reprogramadas”, son células adultas reprogramadas en laboratorio para volver a ser una célula madre, similar a una embrionaria (8).

Aplicaciones médicas

- La crío preservación de las células madre permite su utilización inmediata, por el propio individuo o por algún familiar compatible, en el tratamiento de diversas enfermedades.
 - Las células madre tienen muchas aplicaciones clínicas, especialmente las células madre de la médula ósea que se utilizan para sustituir a células dañadas y tratar enfermedades especialmente hematológicas, pero también en fracturas óseas, enfermedades retinianas, en trastornos de la médula espinal, en las enfermedades de Parkinson y Huntington y en el infarto de miocardio, aunque muchos de estos tratamientos están aún en fase experimental (8).
 - Estudiar enfermedades, puesto que mediante células madre los científicos pueden modelar los procesos de las enfermedades en el laboratorio y comprender mejor los defectos genéticos que causan la alteración (4).
- ☒ Medicina Regenerativa: llamada también terapia celular, consiste en utilizar células madre multiplicadas en laboratorio e implantadas posteriormente en el paciente,

reparando o sustituyendo el tejido dañado. Son células mesenquimales (MSC), que pueden especializarse en células de tejido conjuntivo, cartílago o hueso, y que pueden obtenerse a partir de tejido adiposo, médula ósea, especialmente de tejido del cordón umbilical, que son células madre más jóvenes, por lo que su potencial de multiplicación y especialización es mucho mayor que las células obtenidas de la médula ósea o el tejido adiposo.

- Células madre del cordón umbilical: el cordón umbilical y la placenta de un recién nacido contienen sangre del cordón umbilical, que puede recogerse y congelarse para su uso posterior. La sangre del cordón umbilical contiene células madre hematopoyéticas que pueden producir todas las células sanguíneas, incluidas las células del sistema inmunitario, por ello pueden utilizarse para tratar diferentes enfermedades como la leucemia (9).
- El trasplante de sangre de cordón umbilical tiene como objetivo, reemplazar la médula ósea enferma o deficitaria de un individuo por células madre sanas, con el fin de regenerar la médula ósea del paciente.

Perspectivas a futuro

La investigación médica se enfrenta a grandes retos, entre ellos, el de corregir la información genética incorrecta.

Las células madre, en un futuro, podrán ayudar a tratar a muchos pacientes, sin embargo, también pueden tener efectos secundarios negativos si no se utilizan correctamente, ya que estas células pueden emigrar a otras partes del organismo y producir tumores (8).

Mediante la llamada “terapia del futuro” se plantea poder

regenerar un tejido u órgano dañado, eliminando los problemas de rechazo que existen actualmente en el trasplante de órganos, puesto que se utilizarían las células madre del propio individuo para regenerar la estructura dañada, por ejemplo la terapia celular, utilizando células precursoras condro/osteogénicas, constituye una atractiva alternativa clínica de las enfermedades óseas (10).

Reprogramación celular

La reprogramación celular se refiere a la transformación de una célula especializada en otro tipo celular diferente. Las células madre reprogramadas potencialmente podrían constituirse en la herramienta para estudiar la epigenética, el envejecimiento, el cáncer y la regeneración. Esta nueva posibilidad abrirá oportunidades para estudiar las células afectadas durante una enfermedad y algún día usar las propias células de los pacientes para curarlas (11).

La reprogramación celular en células pluripotentes inducidas (iPSCs) tiene por objetivo conseguir que las células somáticas se reprogramen genéticamente en células madre pluripotentes, casi tan potentes como las células madre embrionarias. Para ello, requiere un primer paso llamado desdiferenciación, donde las células alcanzan un estado pluripotente para posteriormente ser inducidas para su diferenciación en tipos de células específicos. La reprogramación celular está también asociada a la transdiferenciación celular, es decir, una célula diferenciada se transforma en una célula diferenciada distinta, por ejemplo, de fibroblastos a esperma sin tener que pasar primero por el proceso de desdiferenciación (11).

Para el procedimiento se toman fibroblastos y se introduce un cóctel específico de factores de transcripción, siendo los más usados la combinación de Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc, utilizando vectores retrovirales para inducir una expresión "forzada" de genes específicos que da como resultado la formación de iPSC (11).

Actualmente, la aplicación más ambiciosa es la producción de iPSC específicas del paciente para el reemplazo de tejido dañado, envejecido o no funcional (11).

Consideraciones éticas

La clonación reproductiva en humanos es la que está cuestionada por los investigadores y prohibida en la mayoría de los países. Dos años después de que la famosa oveja Dolly llegara al mundo, convirtiéndose en el primer mamífero clonado a partir de una célula de animal adulto, el 12 de enero de 1998, el Consejo de Europa, aprobaba la primera norma internacional firmada por 19 países que prohibía la clonación de seres humanos (1).

La clonación génica es una técnica cuidadosamente regulada que es aceptada en gran medida hoy en día y utilizada rutinariamente en muchos laboratorios en el mundo. No obstante, tanto la clonación reproductiva como terapéutica plantean cuestiones éticas importantes, especialmente en cuanto a su relación con el posible uso de estas técnicas en los seres humanos (1).

La clonación reproductiva presentaría la posibilidad de crear a un ser humano que sea genéticamente idéntico a otra persona que haya existido anteriormente o que todavía exista. Esto pudiera estar en conflicto con antiguos valores sociales y religiosos acerca de la dignidad humana, infringiendo posiblemente en los principios de libertad, identidad y autonomía individual (1, 2). Sin embargo, algunos argumentos indican que la clonación

reproductiva podría ayudar a parejas estériles a lograr su sueño de convertirse en padres. Otras, consideran la clonación humana como una manera de evitar el pasar un gen nocivo hereditario en una familia sin tener que hacer pruebas de detección o selección embrionaria (1). Por otra parte, está permitida y en auge la utilización experimental de células madre para tratamiento de diabetes, Parkinson, Alzheimer, VIH, cáncer, entre otros (1, 2).

APLICACIONES CLÍNICAS

- Terapia génica.
- Reproducción humana.
- Terapia de regeneración de órganos y tejidos.
- Tratamiento de enfermedades neoplásicas.

PREGUNTAS DE EVALUACIÓN

- 1.- Definir clonación.
- 2.- Graficar el proceso de clonación de la oveja Dolly y coloque los nombres en las diversas etapas.
- 3.- Investigar en qué tipos de infertilidad se podría emplear la técnica de reprogramación celular.
- 4.- Con palabras sencillas explicar la diferencia entre clonación terapéutica y clonación genética.
- 5.- Indicar las fuentes de células madre.
- 6.- Investigar si en nuestro país se conservan las células madre.

7.- Investigar las limitaciones en el uso de células madre de cordón umbilical

CONCLUSIONES DEL ESTUDIANTE

Referencias Bibliográficas

1. Nabavizadeh SL, Mehrabani D, Vahedi Z, Manafi F. Cloning: A Review on Bioethics, Legal, Jurisprudence and Regenerative Issues in Iran. *World J Plast Surg.* septiembre de 2016;5(3):213-25.
2. Ayala FJ. Cloning humans? Biological, ethical, and social considerations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 21 de julio de 2015;112(29):8879-86.
3. Brem G, Kühholzer B. The Recent History of Somatic Cloning in Mammals. *Cloning Stem Cells.* 1 de marzo de 2002;4(1):57-63.
4. Enrique láñez Pareja. células madre y clonación terapéutica [Internet]. Universidad de granada; Disponible en: <http://delatandoalaciencia2.blogspot.com/p/definicion-y-ti>
5. CELVITAE. Celulas Madre.docx [Internet]. Disponible en: <http://www.celvitae.es/celulas-madre/>
6. Chagastelles PC, Nardi NB. Biology of stem cells: an overview. *Kidney Int Suppl.* septiembre de 2011;1(3):63-7.
7. Amiel-Pérez J, Casado F. Células madre: limitaciones y oportunidades en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 6 de diciembre de 2015;32(4):777.
8. Jill Jin, MD, MPH. Stem Cell Treatments. *Turn Knoepfler P Sell Stem Cells USA Assess.* enero de 2017;317(3):1.
9. EuroStemCell. CELULAS MADRE Y MEDICINA.docx [Internet]. Disponible en: <https://www.eurostemcell.org/es>
10. María D. Cuenca-López(1), José Becerra (2). cel madre terapia del futuro.docx [Internet]. Disponible en: <http://www.encuentros.uma.es/encuentros115/celulasmadre2.htm>
11. Kanherkar RR, Bhatia-Dey N, Makarev E, Csoka AB. Cellular reprogramming for understanding and treating human disease. *Front Cell Dev Biol* [Internet]. 12 de noviembre de 2014 [citado 22 de julio de 2020];2. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4228919/>

Índice de Tablas

Tabla 1. Niveles de bioseguridad	2
Tabla 2. Tipos de desechos.....	5
Tabla 3. Métodos de Fijación	21
Tabla 4. Tipificación sanguínea, sistema ABO	35
Tabla 5. Valores normales de los leucocitos – Hospital Vicente Corral Moscoso.....	43
Tabla 6. Terminología en alteraciones de leucocitos.....	43
Tabla 7. Clasificación de los cromosomas	60
Tabla 8. Técnicas empleadas para el estudio de los cromosomas.....	61
Tabla 9. Agrupación de los cromosomas en el cariotipo humano.....	62
Tabla 10. Valores de referencia del seminograma.....	75
Tabla 11. Clasificación de los Métodos Contraceptivos.....	88
Tabla 12. Porcentaje de embarazos durante el primer año de uso.....	89
Tabla 13. Clasificación de las Drogas.....	112
Tabla 14. Tipos de Alteraciones Cromosómicas Estructurales	130

Índice de Ilustraciones

Ilustración 1. Señalética de riesgos en laboratorios.	6
Ilustración 2. Partes del microscopio óptico compuesto	14
Ilustración 3. Correcta realización de un frotis de sangre.	20
Ilustración 4. Tinción de Gram.	22
Ilustración 5. Realización de la tinción de Gram.	22
Ilustración 6. Hematopoyesis.....	28
Ilustración 7. Eritropoyesis.....	29
Ilustración 8. Morfología del eritrocito	30
Ilustración 9. Estructura de la hemoglobina.	31
Ilustración 10. Factor RH	32
Ilustración 11. Sistema ABO	32
Ilustración 12. Donante – receptor: el grupo AB es receptor universal y el grupo O es el donante universal	32
Ilustración 13. Estructura química de los aglutinógenos o antígenos de superficie del eritrocito.....	34
Ilustración 14. Diferentes tipos de leucocitos (flechas) observados al microscopio: nótese la diferencia de tamaño respecto a los eritrocitos circundantes y plaquetas.	40
Ilustración 15. Leucocitos granulocitos.....	41
Ilustración 16. Leucocitos agranulocitos.....	41
Ilustración 17. Fagocitosis.	42
Ilustración 18. Megacariopoyesis.....	43
Ilustración 19. Plaquetas.	44
Ilustración 20. Estructura del ADN.....	50
Ilustración 21. Generación del corpúsculo de Barr	51
Ilustración 22. Diferenciación sexual	52
Ilustración 23. Mosaico y quimera.	53
Ilustración 24. Estructura de un cromosoma.	59
Ilustración 25. Localización cromosómica del gen CFTR.....	60
Ilustración 26. Cariotipo normal	63
Ilustración 27. Ciclo celular.	67
Ilustración 28. Ciclo celular (cantidad de ADN).....	68
Ilustración 29. Espermatogénesis.	74
Ilustración 30. Estructura del espermatozoide.....	74
Ilustración 31. Ovogénesis.	76
Ilustración 32. Ciclo sexual femenino	87

Ilustración 33. Método del ritmo	90
Ilustración 34. Método de Billings.	90
Ilustración 35. Método de la temperatura basal	90
Ilustración 36. Correcto uso del preservativo masculino.....	92
Ilustración 37. Preservativo femenino	93
Ilustración 38. Correcto uso del preservativo femenino	93
Ilustración 39. Implante subdérmico	94
Ilustración 40. Anticonceptivos hormonales.	95
Ilustración 41. T de Cobre.	95
Ilustración 42. DIU de levonorgestrel MIRENA®	95
Ilustración 43. Vasectomía.	96
Ilustración 44. Ligadura de trompas.....	96
Ilustración 45. Píldora anticonceptiva de emergencia (PAE).	97
Ilustración 46. Triploidía (69, XXX)	120
Ilustración 47. Cariotipo Síndrome de Down (47,XY,+21).....	121
Ilustración 48. Cariotipo Síndrome de Edwards (47,XY,+18).	122
Ilustración 49. Cariotipo Síndrome de Patau (47, XY+13).....	122
Ilustración 50. Cariotipo Síndrome de Klinefelter (47,XXY).	124
Ilustración 51. Cariotipo Síndrome de Turner.....	124
Ilustración 52. Deleción.....	131
Ilustración 53. Cromosomas en anillo.....	133
Ilustración 54. Duplicación	133

El libro “Manual de Prácticas de Biología”
de los autores Dra. Serrano Delgado Clara Yamilet,
Dra. Solíz Carrión Ana Denise,
Md. Méndez Cabrera Saúl Fabricio
y Md. Condo Cabrera Diego Paúl se terminó de imprimir
en agosto de 2022 en la imprenta de la Universidad de Cuenca.

ISBN: 978-9978-14-487-9



ISBN: 978-9978-14-488-6



UCUENCA