

**NIVELES DE ORGANIZACIÓN DE LOS TEJIDOS, CÉLULAS  
Y MOLÉCULAS  
CONSTITUCIÓN, CARACTERÍSTICAS Y REGULACIÓN**

**GUÍA DE ESTUDIOS 2009**

Universidad Nacional del Comahue

Vice-Rectora a/c

Prof. Teresa P. VEGA

Buenos Aires 1400 - (8300) Neuquén

Tel: (0299) 4490363 / Fax: (0299) 4490351

sprector@uncoma.edu.ar

Secretaría de Extensión Universitaria

Abog. Juan José PILOTTO

Tel: (0299) 4490328

secunc@uncoma.edu.ar

Editor responsable: Luis Alberto NARBONA

Tel: (0299) 4490300 - Int. 617

educ@uncoma.edu.ar

Prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio,  
sin el permiso expreso de **educ**.





Universidad Nacional del Comahue  
Escuela de Medicina  
Cátedra de Histología, Embriología, Biología Molecular y Genética

**NIVELES DE ORGANIZACIÓN DE LOS TEJIDOS, CÉLULAS  
Y MOLÉCULAS  
CONSTITUCIÓN, CARACTERÍSTICAS Y REGULACIÓN  
GUÍA DE ESTUDIOS 2009**

**Verónica L. Chafrat, Héctor H. Morello y Elena I. Barragán**

**educó**

Editorial de la Universidad Nacional del Comahue  
Neuquén - 2009

NIVELES DE ORGANIZACIÓN DE LOS TEJIDOS, CÉLULAS Y MOLÉCULAS  
HUMANAS. CONSTITUCIÓN, CARACTERÍSTICAS Y REGULACIÓN.  
GUÍA DE ESTUDIOS 2009  
VERÓNICA L. CHAFRAT, HÉCTOR H. MORELLO Y ELENA I. BARRAGÁN

CÁTEDRA DE HISTOLOGÍA, EMBRIOLOGÍA, BIOLOGÍA MOLECULAR Y GENÉTICA  
ESCUELA DE MEDICINA - UNIVERSIDAD NACIONAL DEL COMAHUE

Chafrat, Verónica

Niveles de organización de los tejidos, células y moléculas : guía de estudios 2009 / Verónica Chafrat ; Héctor Morello ; Elena Barragán. - 1a ed. - Neuquén : EDUCO - Universidad Nacional del Comahue, 2009.

86 p. ; 29x21 cm.

ISBN 978-987-604-172-0

1. Medicina. 2. Fisiología. 3. Enseñanza Superior. I. Morello, Héctor II. Barragán, Elena III. Título  
CDD 612.071 1

Diseño de tapa: *ENZO DANTE CANALE*

Impreso en Argentina - Printed in Argentina

©- 2009 – **Educo - Editorial de la Universidad Nacional del Comahue**  
Buenos Aires 1400 – (8300) Neuquén – Argentina

## ÍNDICE

### TRABAJO PRÁCTICO N° 1

**CLASIFICACIÓN Y DEFINICIÓN DE TEJIDOS.** Coloraciones. Técnicas histológicas. **CÉLULA- Generalidades- ALGUNOS MÉTODOS DE ESTUDIO EN BIOLOGÍA CELULAR:** Microscopía óptica: microscopio de campo oscuro, contraste de fase, interferencia, luz polarizada y fluorescencia. Microscopía electrónica de transmisión y de barrido. Preparación de tejidos para microscopía óptica y electrónica. Inmuno-histoquímica.

Pág. 9

### TRABAJO PRÁCTICO N° 2

**TEJIDO EPITELIAL.** Características generales de los epitelios. Histogénesis. Clasificación de epitelios. Epitelios de revestimiento: tipos. **SISTEMA TEGUMENTARIO.** Piel fina y gruesa. **Epitelios glandulares:** Clasificación. Glándulas de secreción externa. Clasificación según su estructura, tipos de secreción y formas de secretar. Glándulas anexas a la piel. Pelo. Uña. Histofisiología de los epitelios. Renovación celular.

Pág. 13

### TRABAJO PRÁCTICO N° 3

**TEJIDO EPITELIAL.** Sistemas de unión. Síntesis de proteínas del citoesqueleto epitelial. **UNIONES INTERCELULARES.** Uniones estrechas, adherentes, desmosomas, uniones en hendidura. Ultraestructura. Adhesión intercelular. Especializaciones de membrana, membranas basales, nutrición de los epitelios.

Pág. 15

### TRABAJO PRÁCTICO N° 4

**Cómo las células leen el Genoma: Desde el ADN a las Proteínas**

**NÚCLEO.** Envoltura nuclear. Lámina nuclear, proteínas que la integran, rol en el ciclo celular. Complejo del poro, ultraestructura, componentes. Intercambio núcleo-citoplasmático. Cromatina: heterocromatina y eucromatina. Niveles de organización de la cromatina. Nucleólo. **ESTRUCTURA Y CONFORMACIÓN DEL ADN.** Dogma central de la biología celular. Tipos de ADN, estructura, función y síntesis del ADN. Enzimas que participan. Transposones. **Concepto de gen.** Genes y proteínas. Código genético. Actividad de la telomerasa y envejecimiento.

Pág. 19

### TRABAJO PRÁCTICO N° 5

**TEJIDO CONECTIVO.** Clasificación. Funciones. Tejido conectivo laxo, denso, elástico y adiposo: Células. Estructura, ultraestructura y función. **SÍNTESIS PROTEICA** del colágeno y la matriz extracelular. **TRANSCRIPCIÓN: ARN:** tipos y estructura. Mecanismos de transcripción. Proceso pos-transcripcional. **TRADUCCIÓN.** Regulación y control de la expresión genética. Diferenciación celular. Mecanismos genéticos moleculares que crean tipos celulares específicos. Especialización Celular. Epigenética.

Pág. 23

### TRABAJO PRÁCTICO N° 6

**TEJIDO CONECTIVO. SÍNTESIS PROTEICA** del colágeno y la matriz extracelular. Composición química. Retículo endoplasmático liso y rugoso. Ribosomas. Uniones de las células con la matriz extracelular: contactos focales, hemidesmosomas. Fibras colágenas, reticulares y elásticas.

Pág. 27

### TRABAJO PRÁCTICO N° 7

**TEJIDO CONECTIVO.** Sistema mononuclear-fagocítico. Origen embriológico. Reconocimiento y adhesión celular, su mecanismo. **MEMBRANA CELULAR.** Modelo del mosaico fluido. Asimetría de la membrana. Fluidéz de la membrana. **COMUNICACIÓN INTERCELULAR.** Principios generales. Inductores y receptores. Inducciones celulares mediadas

por receptores citosólicos. Inducciones mediadas por receptores situados en la membrana plasmática: actividad enzimática, con cambios conformacionales, ligados a la proteína G.

**Pág. 30**

#### **TRABAJO PRÁCTICO N° 8**

**SISTEMA DE ENDOMEMBRANAS.** Compartimientos de las células. Transporte de moléculas entre las organelas citoplasmáticas. Retículo endoplasmático liso y rugoso. Estructura y función. Biosíntesis de membranas. Proteínas de exportación. **SECRECIÓN CELULAR.** Complejo de Golgi. Dictiosomas. Ciclo secretor. Lisosomas. Peroxisomas, Proteosomas. Ultraestructura y función Endocitosis: fagocitosis y pinocitosis, transcitosis. Endocitosis mediada por receptor.

**Pág. 35**

#### **TRABAJO PRÁCTICO N° 9**

**SISTEMA OSTEO-ARTICULAR. TEJIDO CARTILAGINOSO.** Desarrollo, estructura y función. Matriz cartilaginosa, síntesis proteica de la matriz cartilaginosa. Variedades de cartilago. Crecimiento y nutrición del cartilago. **TEJIDO OSEO.** Desarrollo, estructura y función. Matriz ósea. Síntesis proteica de la matriz ósea. Organoides involucrados. Hueso esponjoso y compacto. Osificación intramembranosa y endocondral. Crecimiento, nutrición y remodelación. Articulaciones: revestimiento sinovial.

**Pág. 37**

#### **TRABAJO PRÁCTICO N° 10**

**TEJIDO MUSCULAR.** Embriología. Clasificación. Tejido muscular esquelético, liso y cardíaco: morfología al microscopio óptico y electrónico. Bases estructurales de la contracción muscular. Transmisión del impulso nervioso. Unión mioneural. Histogénesis. **MITOCONDRIAS.** Morfología. Ultraestructura. Cámara interna y externa. Matriz. Compartimentalización de las enzimas. Funciones mitocondriales. ADN mitocondrial. Tamaño, forma y contenido codificante. Mitorribosomas. Interrelación entre núcleo celular y mitocondrias. Herencia mitocondrial.

**Pág. 41**

#### **TRABAJO PRÁCTICO N° 11**

**CITOPLASMA. CITOESQUELETO.** Microtúbulos: composición, ultraestructura, propiedades, tipos, funciones. Cilias y flagelos. Centriolos y cinetocoros. Su función. Filamentos intermedios: ultraestructura, propiedades y localización. Tipos y funciones. Filamentos de actina. Localización y propiedades. Cinturón adhesivo, fibras tensoras. Su rol en la migración y en la motilidad celular. Proteínas que se unen a la actina. Citoesqueleto en el tejido muscular.

**Pág. 45**

#### **TRABAJO PRÁCTICO N° 12**

**TEJIDO NERVIOSO.** Clasificación. Neuronas y células de la glia. Citoesqueleto neuronal. Biología celular de la neurona y de las células gliales. Morfología al microscopio óptico y electrónico. Tipos. Funciones. Sinapsis: Tipos y ultraestructura. Fibras nerviosas: Clasificación. Estructura y función de la vaina de mielina. Histogénesis. Sistema nervioso central. Nervios. Terminaciones nerviosas libres y encapsuladas.

**Pág. 50**

#### **TRABAJO PRÁCTICO N° 13**

**CROMOSOMAS HUMANOS:** Descripción. **TÉCNICAS DE CITOGENÉTICA:** Cariotipo e idiograma. Métodos de bandeado cromosómico. Bandas G, R, Q, C, NOR. Citogenética molecular. TP: Mostraciones de metafases humanas. Confección de cariotipos. Anomalías cromosómicas. Variaciones en el número: Poliplodía y aneuploidía. Variaciones en la estructura: deleciones, translocaciones, inversiones. Nomenclatura. Consecuencias. Sitios frágiles.

**Pág. 54**

#### **TRABAJO PRÁCTICO N° 14**

**GENEALOGÍA:** confección, importancia. Patrones genealógicos. Leyes de Mendel. **ANOMALÍAS MONOGÉNICAS** Herencia autosómica dominante. Herencia autosómica

recesiva. Cálculo de riesgo. Diagrama de Punnet. La ley de Hardy Weinberg. TP: Resolución de problemas.

**Pág. 60**

#### **TRABAJO PRÁCTICO N° 15**

**HERENCIA MULTIFACTORIAL. CONCEPTO DE EPIGENÉTICA.** Conceptos de genómica y proteómica. **OTROS TIPOS DE HERENCIA.** Herencia No Nuclear. Herencia poligénica, herencia mitocondrial, citoplasmática, mutaciones dinámicas, disomía uniparental, imprinting genómico.

**Pág. 65**

#### **TRABAJO PRÁCTICO N° 16**

**TECNOLOGÍA GENÉTICA.** Secuenciación del ADN y diagnóstico de desórdenes genéticos. Proyecto Genoma Humano. El ADN recombinante y la clonación. Endonucleasas de restricción. PCR. RFLP. STRs. Dactiloscopia del ADN. Farmacogenética/farmacogenómica.

**Pág. 70**

#### **TRABAJO PRÁCTICO N° 17**

**CICLO CELULAR.** Etapas y sus valores promedio en los distintos tipos celulares. Características de las fases. Regulación del ciclo celular. Proto-oncogenes. Genes de supresión tumoral. Oncogenes. **Mitosis** y citocinesis. Estrategia general. Mecanismos regulatorios. Descripción. **Apoptosis. MEIOSIS.** Estrategia general. Descripción. Sinapsis y complejos sinaptonémicos. Quiasmas y recombinación génica. Ventajas evolutivas.

**Pág. 78**

#### **TRABAJO PRÁCTICO N° 18**

**MUTACIÓN.** Mutágenos, carcinógenos, teratógenos. Mutaciones y reparación. Efectos ambientales. Actividad de la telomerasa y envejecimiento. **GENÉTICA BIOQUÍMICA.** Defectos en la reparación de nucleótidos y enfermedades hereditarias. Aberraciones genéticas del metabolismo. El papel de las proteínas. Aplicaciones en la práctica médica. Conceptos de: Malformaciones únicas o múltiples. Síndromes, secuencias, asociaciones, displasia, disrupción y deformación. **GENÉTICA Y CÁNCER.** Mutaciones y etiología del cáncer. Tumores. Formas hereditarias del cáncer. Cromosomas y cáncer. El cáncer y el ambiente. Importancia en procesos patológicos.

**Pág. 81**



## TP N° 1 - CLASIFICACIÓN DE TEJIDOS - MÉTODOS DE ESTUDIO EN BIOLOGÍA CELULAR

CLASIFICACIÓN Y DEFINICIÓN DE TEJIDOS. Coloraciones. Técnicas histológicas. CÉLULA- Generalidades- Algunos métodos de estudio en Biología Celular: Microscopía óptica: microscopio de campo oscuro, contraste de fase, interferencia, luz polarizada y fluorescencia. Microscopía electrónica de transmisión y de barrido. Preparación de tejidos para microscopía óptica y electrónica. Inmunohistoquímica.

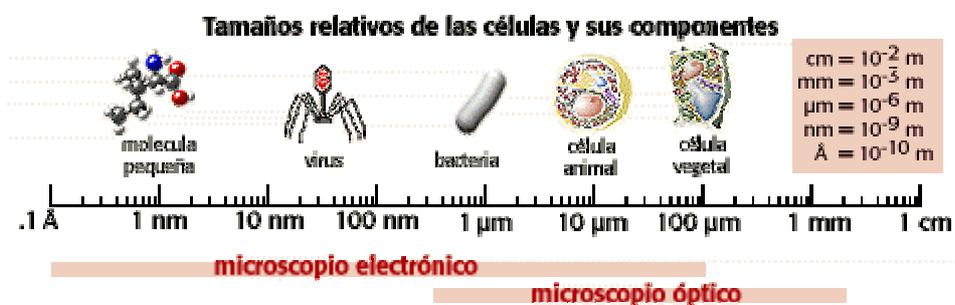
### OBJETIVOS

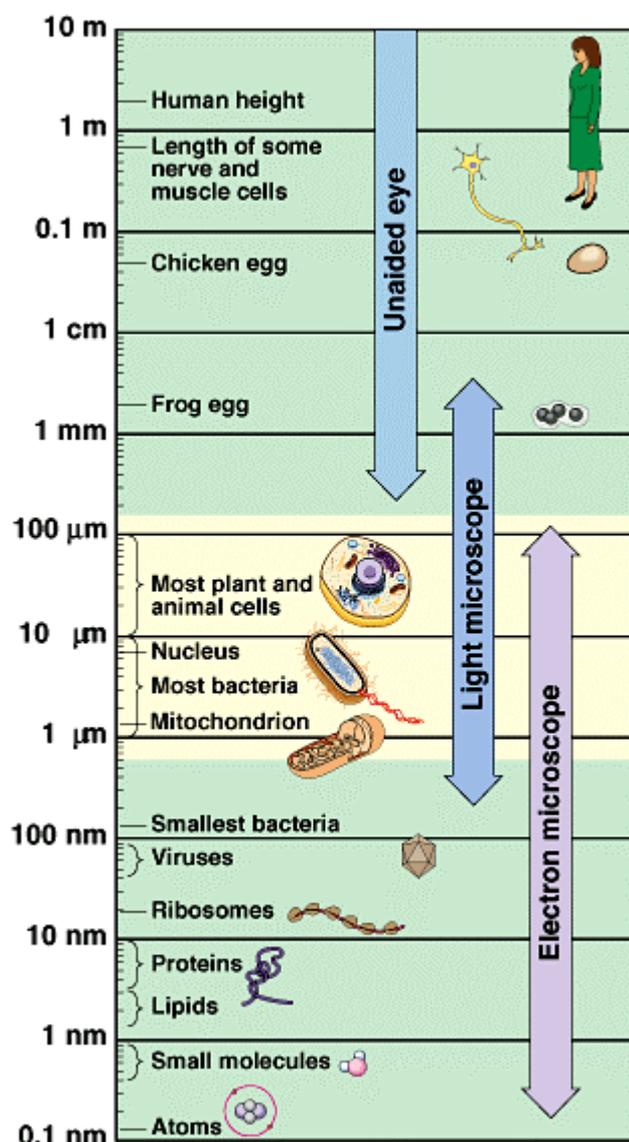
- Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:
- Identificar las partes del microscopio y explicar su función.
- Conocer escalas y límites de resolución en microscopía.
- Calcular el aumento que proporciona el microscopio óptico.
- Explicar los fundamentos y procedimientos de la técnica histológica de rutina.
- Conocer los fundamentos y aplicaciones de las principales técnicas y microscopios usados en biología.
- Definir y explicar las características de los tejidos principales y las principales diferencias entre los mismos.
- Analizar críticamente la literatura científica.

### PARTE A: MICROSCOPIA

- En relación con la figura 1:
  - Explique las escalas.
  - Consulte la bibliografía: ¿cuál es el límite de resolución del ojo humano? Compare la información obtenida con la figura, ¿qué estructuras pueden discriminarse a ojo desnudo?

FIGURA 1 (<http://www.biologia.arizona.edu/cell/tutor/cells/cells2.html>):





Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

FIGURA 2

**Comience a utilizar los preparados histológicos para completar los puntos del trabajo práctico, sea cuidadoso con los preparados, evite que se rompan, ya que los deberá utilizar durante el resto del año.**

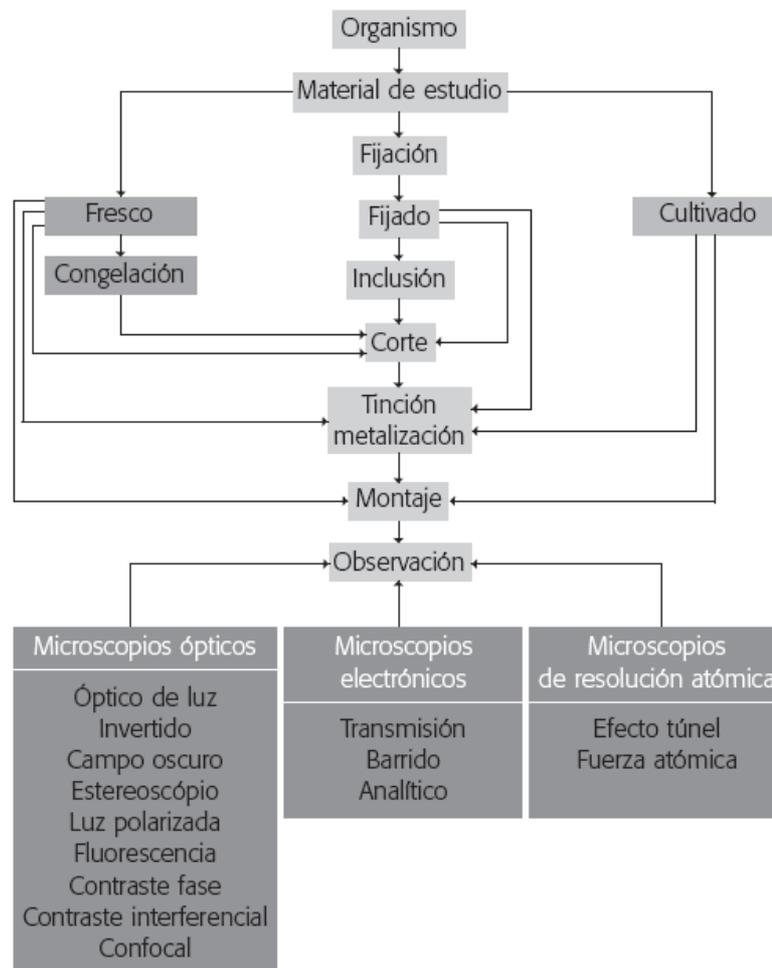
2. En relación con la información provista por las Figuras 1 y 2
  - a. Indique de qué tamaño vería una célula (al azar) que distingue en el preparado que está enfocando, usando cada uno de los objetivos, con la ayuda de los Jefes de Trabajos Prácticos.
  - b. ¿Qué estructuras celulares y subcelulares podrían discriminarse con ayuda del microscopio óptico?

CUADRO 1. El aumento total es el producto de los dos lentes usados. El lente ocular magnifica 10X. El lente objetivo con marca amarilla magnifica 10X; el lente objetivo con marca azul magnifica 40X y el lente objetivo con marca blanca magnifica 100X.

Lente ocular	X	Lente objetivo	=	Aumento total
10X	X	10X (amarillo)	=	100X
10X	X	40X (azul)	=	400X
10X	X	100X (blanco)	=	1000X

3. El cuadro 2 resume los distintos tipos de microscopios y técnicas de microscopía que figuran en la bibliografía. *Fundamente* cada una de las etapas de la técnica histológica que figuran en él. Explique la diferencia entre los tipos de microscopio que se detallan.

CUADRO 2 (tomado de Campos Muñoz, A. “Objetivos conceptuales y metodológicos de la investigación histológica”)



4. Describa la técnica histológica de rutina (hematoxilina-eosina) desde la toma de la muestra hasta el montaje.
5. ¿En qué consiste la coloración? Enumere los pasos implicados en la coloración de rutina de muestras fijadas en formalina y explique el objetivo de cada uno.
6. Explique los conceptos de: **acidofilia** y **basofilia**. Indique las características tintoriales de las estructuras y subestructuras que observó en los preparados.
7. Defina *metacromasia*.
8. Indique la utilidad de la tinción con PAS. Fundamente.
9. Explique los fundamentos de las técnicas inmunohistoquímicas. ¿Cuáles son sus aplicaciones?
10. Trabajando en grupo, reconozca en el microscopio sus componentes y explique su función:
  - a. Sistema de soporte: pie, vástago, tubo y platina
  - b. Sistema de lentes (magnificación): tubo, objetivos y pieza ocular
  - c. Sistema de iluminación: fuente de luz, condensador, diafragma, filtros.
  - d. Sistema de ajustes: macrométrico y micrométrico.

## PARTE B:

Lea y discuta para el próximo TP, el artículo “Procesamientos histológicos convencional y en microondas...”, Estay Freire, A.; Parra Lara, R. y Benítez Cáceres, H., *Int. J. Morphol.*, **26(2)**:317-324, 2008.

## PARTE C:

8. Elabore un cuadro de niveles de organización de la materia.
9. Consulte la bibliografía y defina *tejidos*, indicando sus principales características.
10. Elabore un cuadro comparativo con los cuatro tejidos básicos del ser humano: tejido epitelial, tejido muscular, tejido conectivo y tejido nervioso.
11. Discuta y elabore en grupo la definición de célula y su relación contextual con los tejidos.
12. ¿Qué características son propias de la materia viva? ¿Qué alcance tiene la definición de célula propuesta por su grupo en este contexto?

## BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, Bray, Hopkins y col. “Introducción a la Biología Celular”, 2° edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- Alberts, Bruce, Watson y col. “Molecular Biology of the cell”, 2° edición, 1989. Editorial Garland Publishing.
- Campos Muñoz, A. (2004) “Objetivos conceptuales y metodológicos de la investigación histológica” *Educ. méd.* v.7 supl.1
- Cooper, G. “The Cell. A molecular approach”, 1997. ASM Press. USA.
- Cox-Sinclair “Biología molecular en medicina”, 1998. Editorial Médica Panamericana.
- De Robertis EMF (h), Hib J, Ponzio R. O. “*Biología Celular y Molecular*”, 12ª edición, 2003, Editorial El Ateneo. Buenos Aires.
- Eynard, A.; Rovasio, R., Valentich, M. “*Histología y Embriología del Ser Humano. Bases Celulares y Moleculares*”. 4° edición 2008. Editorial Médica Panamericana.
- Fawcett, D. “Tratado de Histología”, 12° edición, 1995. Editorial Interamericana McGraw-Hill.
- Geneser, F. “Histología”, 3ª edición, 2000. Ed. Panamericana, Buenos Aires.
- Lodish, Berk, Matsudaira y col. “Biología Celular y Molecular”, 5° edición, 2005. Editorial Médica Panamericana.
- Ross, M., Kaye, G., Pawlina, W. “Histología, Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular” 4° edición, 2004. Editorial Médica Panamericana.

## **TP N° 2 - TEJIDO EPITELIAL**

TEJIDO EPITELIAL. Características generales de los epitelios. Histogénesis. Clasificación de los epitelios. Epitelios de revestimiento: tipos. Sistema tegumentario. Piel fina y gruesa. Epitelios glandulares: clasificación. Glándulas de secreción externa. Clasificación según su estructura, tipos de secreción y formas de secretar. Glándulas anexas a la piel. Pelo. Uña. Histofisiología de los epitelios. Renovación celular.

### **OBJETIVOS**

Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:

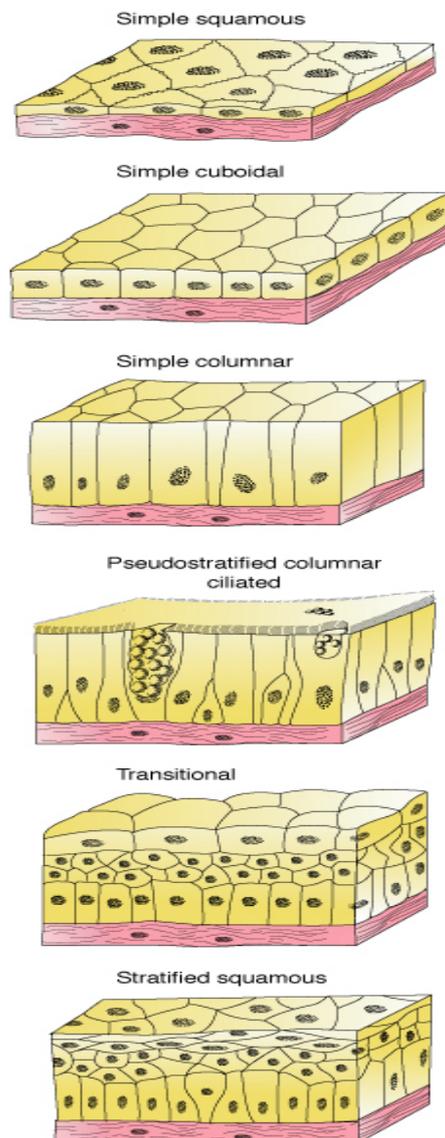
- Reconocer y describir las características estructurales y funcionales del tejido epitelial.
- Identificar los diferentes tipos de epitelio en preparaciones histológicas.
- Explicar los criterios de clasificación de los epitelios y glándulas exócrinas.
- Distinguir tipos de glándulas según su organización y función.
- Clasificar las glándulas de acuerdo a diferentes criterios, dando ejemplos.
- Identificar los diferentes tipos de glándulas exócrinas en preparaciones histológicas.

1. Explique las características estructurales y funcionales del tejido epitelial y sus diferencias con los otros tejidos básicos del organismo.
2. Explícite los distintos criterios de clasificación del tejido epitelial.
3. Describa la clasificación de los epitelios. En la figura que se adjunta (figura 1). Elaborar un cuadro indicando para cada tipo de epitelio: ubicación, número de capas y forma de las células, polaridad, complejos de unión, funciones, ejemplos.

**Utilice los preparados histológicos para completar los puntos del trabajo práctico, sea cuidadoso con los preparados, evite que se rompan, ya que los deberá utilizar durante el resto del año**

4. Elabore un dibujo o esquema de cada uno de los preparados de epitelio que observó en el microscopio. Indique las características que pueda reconocer en él.
5. Indique cómo se clasifican los epitelios glandulares en general.
6. Clasifique las glándulas exócrinas según:
  - a. Mecanismo de secreción celular y naturaleza de la sustancia secretada.
  - b. Estructura, morfología, número de células que la componen.
  - c. Función.Consulte la bibliografía e indique ejemplos para cada caso.
7. Dibuje distintos tipos de acinos glandulares. Observe glándulas exócrinas en el microscopio. Dibújelas y descríbalas según los criterios de clasificación de glándulas que estableció en el punto anterior.
8. Mencione el origen embriológico de los epitelios.

FIGURA 1. Tipos de epitelios.



Copyright © 2005 Lippincott Williams & Wilkins. Instructor's Resource CD-ROM to Accompany *Porth's Pathophysiology: Concepts of Altered Health States*, Seventh Edition.

9. ¿Cómo aplica sus conocimientos sobre epitelios de revestimiento y glandulares, en el preparado de piel? ¿Cuál es la diferencia con un epitelio de mucosa?
10. ¿Qué ventajas y desventajas tiene el uso del horno de microondas en el procesamiento histológico de tejidos de acuerdo al artículo que ha leído?

## BIBLIOGRAFÍA

- Eynard, A., Rovasio, R., Valentich, M. "Histología y Embriología del Ser Humano. Bases Celulares y Moleculares". 4° edición. 2008. Editorial Médica Panamericana.
- Fawcett, D. "Tratado de Histología", 12° edición, 1995. Editorial Interamericana McGraw-Hill.
- Gartner LP, Hiatt JL, "Texto y atlas de Histología", 3ª edición, 2003. Editorial Médica Panamericana.
- Geneser, F. "Histología", 3ª edición, 2000. Ed. Panamericana, Buenos Aires.
- Junqueira L, Carneiro J. "Histología Básica". Texto y Atlas, 5ª edición, 2000. Ed. Masson.
- Lodish, Berk, Matsudaira y col. "Biología Celular y Molecular", 5° edición, 2005. Editorial Médica Panamericana.
- Ross, M., Kaye, G., Pawlina, W. "Histología, Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular" 4° edición, 2004. Editorial Médica Panamericana.

### TP N° 3 - TEJIDO EPITELIAL. UNIONES INTERCELULARES

TEJIDO EPITELIAL. Sistemas de unión. Síntesis de proteínas del citoesqueleto epitelial. UNIONES INTERCELULARES. Uniones estrechas, adherentes, desmosomas, uniones en hendidura. Ultraestructura. Adhesión intercelular. Especializaciones de membrana, membranas basales, nutrición de los epitelios.

#### OBJETIVOS

Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:

Explicar la organización y funciones de los complejos de unión célula-célula y célula-matriz.

Describir la composición de la lámina basal.

Explicar la importancia de los complejos de unión en la arquitectura celular y tisular.

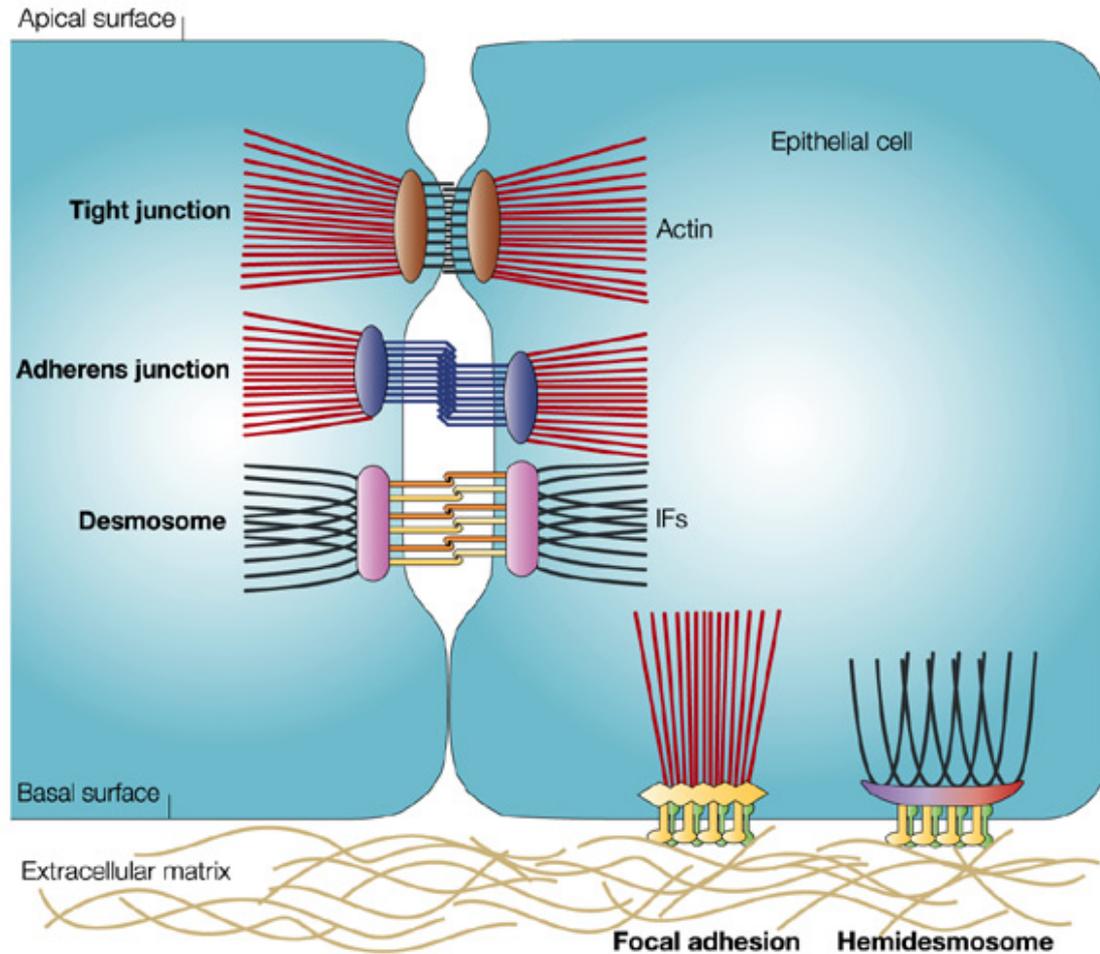
Describir los fenómenos de reconocimiento y adhesión celular y conocer las moléculas que los median.

Integrar sus conocimientos sobre células epiteliales con los de biología molecular (ADN, ARN, transcripción, traducción, síntesis proteica), aplicadas a proteínas de células epiteliales.

1. Los complejos de unión son especialmente abundantes en tejidos epiteliales. La superficie apical de los epitelios está expuesta al ambiente (por ejemplo, en la piel) o al lumen de los órganos que revisten, mientras que la superficie basal se apoya sobre la lámina basal (o membrana basal para algunos autores) en contacto con la matriz extracelular (MEC). En el centro de todas las uniones celulares existen proteínas transmembrana específicas o receptores de adhesión que interactúan con proteínas similares en células adyacentes o con componentes de la MEC a través de su dominio extracelular. El dominio citoplasmático, a su vez, está unido al citoesqueleto por un grupo diverso de proteínas adaptadoras. (Fuente: Jefferson, J.; Leung, C.; Liem, R. (2004) "Plakins: Goliaths that link cell junctions and the cytoskeleton" *Nature Rev Mol Cell Biol* **5**, 542-533.)

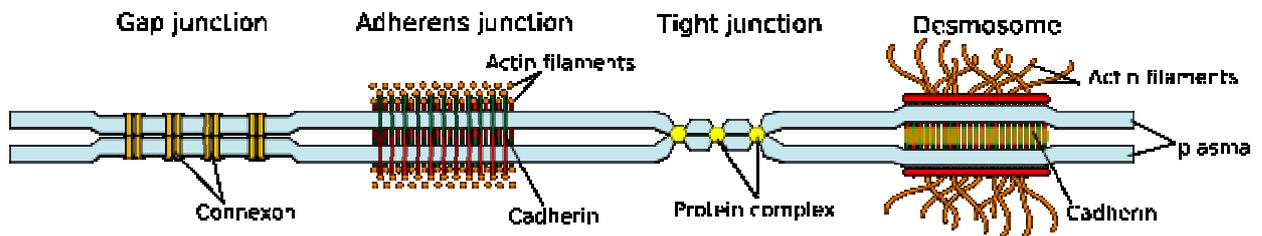
a) En el esquema 1, indique los distintos complejos de unión intercelular.

**ESQUEMA 1: COMPLEJOS DE UNIÓN CELULAR** (tomado de: Jefferson, J.; Leung, C.; Liem, R., 2004)



2. Lea en la bibliografía la organización ultraestructural de los diferentes complejos de unión célula-célula de los epitelios. En el esquema 2, resume las principales características moleculares y funcionales de cada uno.

**ESQUEMA 2: UNIONES INTERCELULARES** (Tomado de: Alberts, Bray, Hopkin y col., 2006)

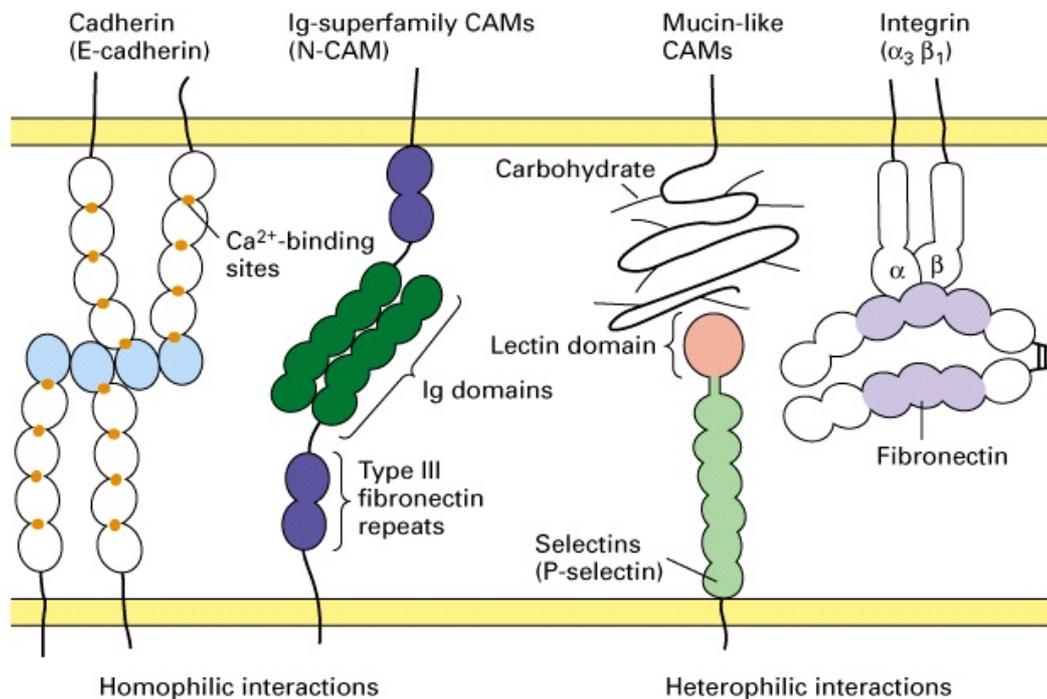


3. Explique qué son las citoqueratinas. ¿Cómo es su expresión en los epitelios y dentro de éstos?
4. Describa la composición y función de la lámina basal.
5. Describa los complejos de unión célula-matriz extracelular.
6. Las moléculas de adhesión celular median, entre otras cosas, el reconocimiento celular. La interacción entre moléculas de adhesión celular (CAMs, sigla en inglés) puede ser considerada como la unión de un ligando a su receptor. Este es un concepto importante ya que generalmente la unión de dos

células establece eventos intracelulares (transducción de señales) en las células adherentes. Existen principalmente dos modos de interacción entre CAMs: homofílicas y heterofílicas.

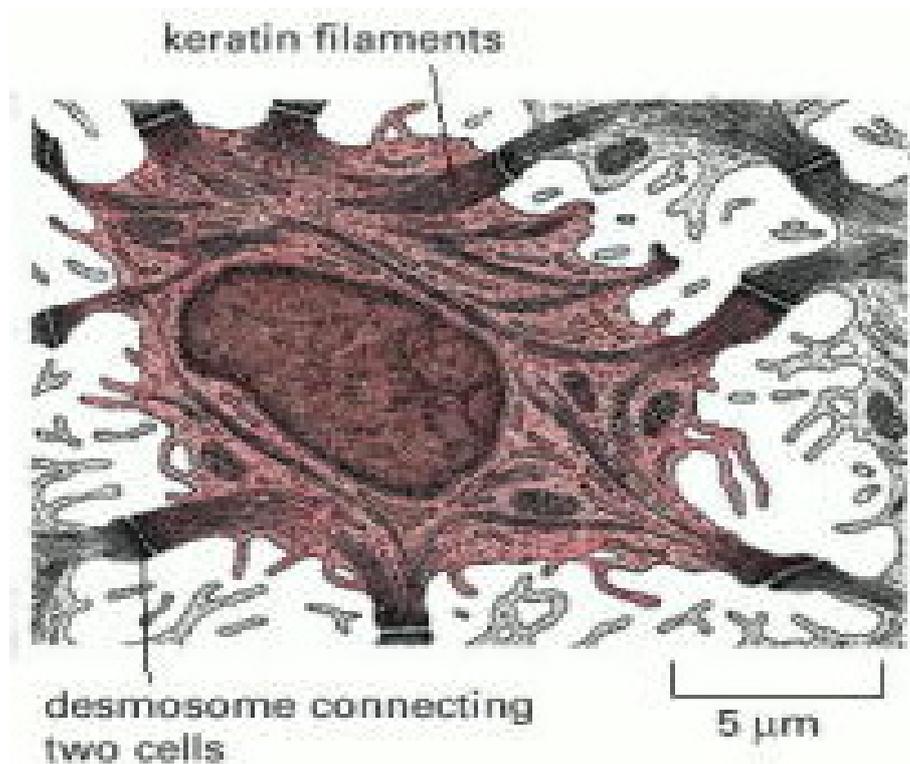
ESQUEMA 3: MOLÉCULAS DE ADHESIÓN CELULAR

(<http://bioweb.wku.edu/courses/Biol566/L21AdhesionSigTransdctn.html>)



7. En la epidermis como ejemplo del tejido epitelial, considere al queratinocito en las siguientes dimensiones, para el próximo práctico:

- Uniones intercelulares con células vecinas (desmosomas)
- Relación de proteínas del citoesqueleto con uniones intercelulares
- Síntesis de queratina, teniendo en cuenta los siguientes conceptos aplicados al caso de esta proteína: Genes homólogos, Splicing alternativo del ARN, transcripción, traducción, síntesis proteica, tipos de queratina. Regulación y control de la expresión genética. Mecanismos genéticos moleculares que crean tipos celulares específicos, diferenciación terminal, especialización celular, comunicación intercelular.



© 2002 by Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, Bray, Hopkin y col. "Introducción a la Biología Celular", 2° edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- De Robertis E, Hibb J, Ponzio R, "Biología Celular y Molecular", 2000. Editorial El Ateneo.
- De Robertis EMF (h), Hib J, Ponzio RO. "Biología Celular y Molecular". 12ª edición. 2003. El Ateneo. Buenos Aires.
- Eynard, A.; Rovasio, R., Valentich, M. "Histología y Embriología del Ser Humano. Bases Celulares y Moleculares". 4° edición. 2008. Editorial Médica Panamericana.
- Fawcett, D. "Tratado de Histología", 12° edición, 1995. Editorial Interamericana McGraw-Hill.
- Gartner LP, Hiatt JL. "Texto y atlas de Histología". 3ª edición. 2003. Editorial Médica Panamericana.
- Geneser, F. "Histología". 3ª edición. 2000. Ed. Panamericana, Buenos Aires.
- Jefferson, J.; Leung, C.; Liem, R. "Plakins: Goliaths that link cell junctions and the cytoskeleton" 2004. Nature Rev Mol Cell Biol **5**, 542-533.
- Junqueira L, Carneiro J. "Histología Básica". Texto y Atlas. 5ª edición. 2000. Ed. Masson.
- Lodish, Berk, Matsudaira y col. "Biología Celular y Molecular", 5° edición, 2005. Editorial Médica Panamericana.
- Ross, M., Kaye, G., Pawlina, W. "Histología, Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular" 4° edición, 2004, Editorial Médica Panamericana.

## TP N° 4 - CÓMO LAS CÉLULAS LEEN EL GENOMA: DESDE EL ADN A LAS PROTEÍNAS

NÚCLEO. Envoltura nuclear. Lámina nuclear, proteínas que la integran, rol en el ciclo celular. Complejo del poro, ultraestructura, componentes. Intercambio núcleo-citoplasmático. Cromatina: heterocromatina y eucromatina. Niveles de organización de la cromatina. Nucleólo. ESTRUCTURA Y CONFORMACION DEL ADN. Dogma central de la biología celular. Tipos de ADN, estructura, función y síntesis del ADN. Enzimas que participan. Transposones. Concepto de gen. Genes y proteínas. Código genético. Actividad de la telomerasa y envejecimiento.

### OBJETIVOS

Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:

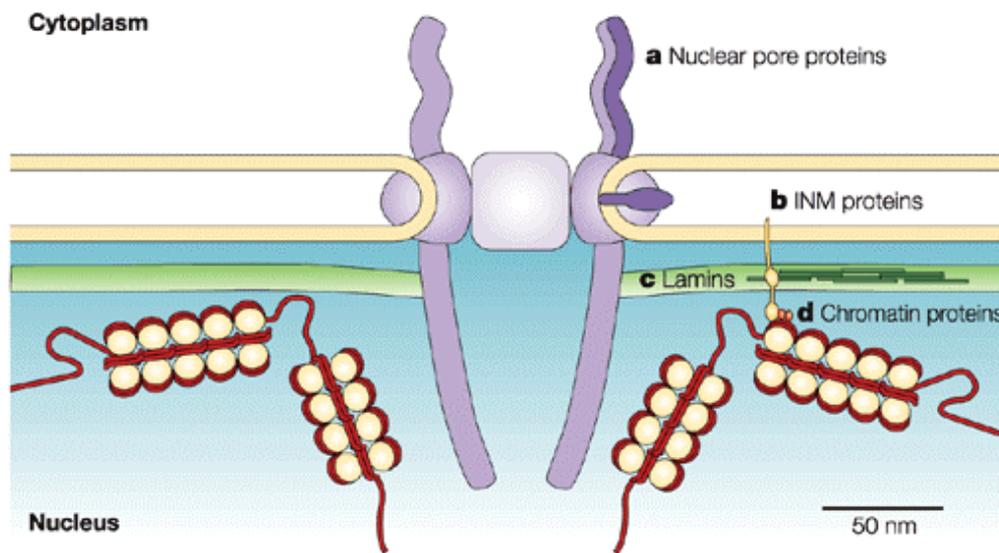
- Describir la composición y estructura de la envoltura nuclear, y explicar sus funciones.
- Describir la composición química del ADN y la cromatina.
- Explicar las variaciones estructurales y funcionales de la cromatina.
- Explicar los procesos relativos a la síntesis de ADN.
- Comparar los alcances de las definiciones del gen.

1. La envoltura nuclear encierra el ADN y define el compartimiento nuclear. Está formada por dos membranas concéntricas. La **membrana nuclear interna** contiene proteínas específicas que actúan como sitios de unión de la *lámina nuclear* que la sostiene y que contacta los cromosomas y los ARNs nucleares. Esta membrana está rodeada por la **membrana nuclear externa**, similar a la membrana del retículo endoplásmico (RE), con el que se continúa. De hecho, la membrana nuclear externa puede ser considerada como una región especializada de la membrana del RE. Al igual que la membrana del RE rugoso, su superficie externa está generalmente tachonada con ribosomas comprometidos en la síntesis de proteínas. Las proteínas sintetizadas en esos ribosomas son transportadas al espacio entre las membranas nucleares interna y externa (el *espacio perinuclear*), el cual a su vez es continuo con el lumen del RE. El núcleo contiene muchas proteínas que ayudan a mediar sus funciones específicas. Esas proteínas, que incluyen histonas, ADN y ARN polimerasas, reguladores génicos y proteínas procesadoras de ARN, son importadas desde el citosol, donde son sintetizadas. Deben pasar a través de las membranas nucleares externa e interna para llegar al interior del núcleo (el lumen nuclear). Este proceso de transporte es selectivo: muchas proteínas sintetizadas en el citosol son excluidas del núcleo. (Alberts, Bruce, Watson y col., 2007, "Molecular Biology of the cell", 5ª edición, Editorial Garland Publishing)

Discuta con su grupo y conteste las siguientes cuestiones en relación al párrafo del punto anterior.

- a. ¿Por qué las células eucariotas presentan un núcleo? ¿Cuál es el sentido de una membrana nuclear?
- b. A partir de la Figura 1, explique la organización de la envoltura nuclear y del complejo del poro.

FIGURA 1: LA ENVOLTURA NUCLEAR. (Burke, B.; Ellenberg, J. (2002) "Remodeling the walls of the nucleus" *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 3, 487-497 )



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

- c. ¿Cómo se ejerce la selectividad del pasaje de moléculas a nivel del complejo del poro?  
¿Qué importancia tiene esta selectividad?
- d. ¿Por qué la **membrana nuclear externa** y la **membrana del RE** son continuas, pero no la misma membrana?
- e. ¿Cómo se mantiene la integridad estructural del núcleo?

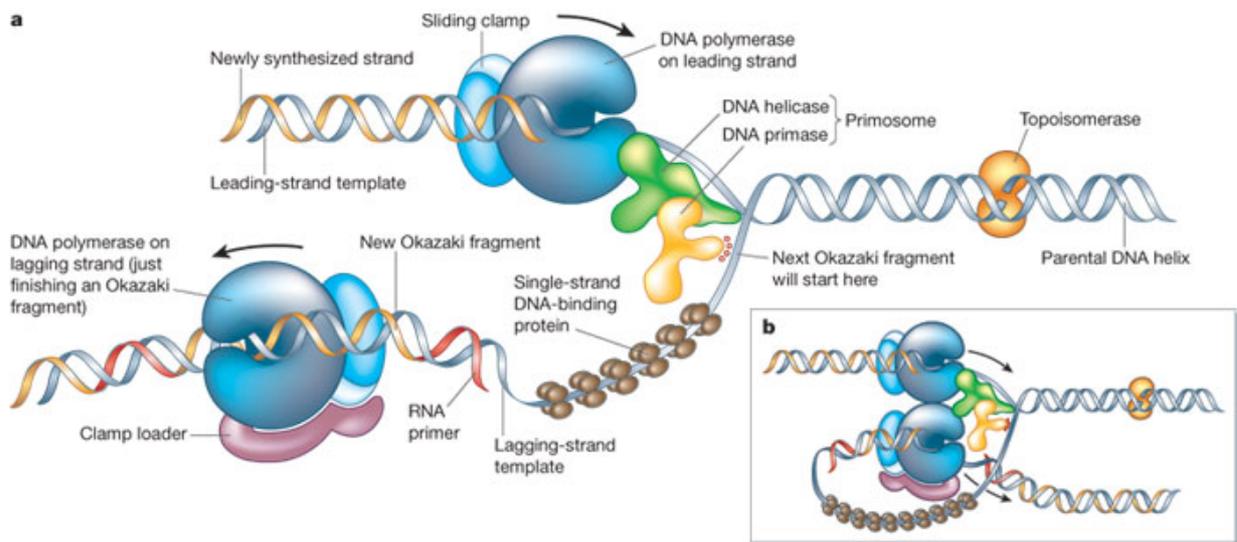
2. Un objetivo fundamental de los actuales estudios para entender la influencia potencial de la arquitectura nuclear sobre las funciones nucleares, es identificar los principios que gobiernan la organización espacial del genoma. Un ejemplo clásico de organización dentro del núcleo es la distinción entre la eucromatina transcripcionalmente activa y la heterocromatina generalmente inactiva. También es conocido que los cromosomas individuales ocupan diferentes posiciones dentro del núcleo, conocidas como territorios cromosomales. Además, como resultado de los diferentes niveles de compactación de la cromatina, los diferentes segmentos de cromosomas adoptan una organización y topografía complejas dentro de su territorio cromosomal. Así, se ha demostrado que un principio conservado de organización nuclear es la distribución intranuclear polarizada de segmentos cromosómicos ricos y pobres en genes. Las regiones ricas en genes tienden a estar orientadas hacia el interior nuclear, mientras que las regiones pobres en genes tienden a orientarse hacia la periferia.

Aún cuando se hallan organizados en estos territorios en el núcleo interfásico, se ha demostrado que los cromosomas son estructuras dinámicas que pueden ser re posicionadas con respecto a estructuras nucleares y otras regiones cromosomales. También existe creciente evidencia de que el reposicionamiento de regiones genómicas en el espacio nuclear es importante para la regulación de la expresión génica. (Lanctôt, C.; Cheutin, T.; Cremer, M.; Cavalli, G.; Cremer, T. (2007) "Dynamic genome architecture in the nuclear space: regulation of gene expression in three dimensions". *Nature Reviews Genetics* vol. 8, no. 2, pp. 104-115.)

- f. ¿A qué se denomina cromatina?

- g. Revise en la bibliografía la constitución de la cromatina, y los distintos niveles de organización. Establezca diferencias estructurales y funcionales entre eucromatina y heterocromatina ¿Cuál es la organización más frecuente durante la interfase? ¿Por qué?
- h. ¿Por qué los cromosomas se unen al armazón interno del núcleo? ¿Cómo tiene este fenómeno relación con la expresión génica?
3. Distinga entre núcleo y nucleólo.
4. Explique qué son los NOR.
5. Las funciones adscritas al material genético son replicación, expresión, almacenaje y mutación. ¿Qué cree Ud. que significa cada uno de estos términos? Explique cómo el modelo de doble hélice de Watson y Crick se ajusta a esas cuatro funciones.
6. Describa las características del modelo de doble hélice de Watson y Crick. ¿Qué tipos de interacciones estabilizan la doble hélice?
7. Elabore un texto que explique el proceso y los detalles que se representan en la figura.

**FIGURA 2:** PROTEÍNAS CENTRALES DEL TENEDOR REPLICATIVO. (Alberts, B. (2003) “DNA Replication and Recombination” *Nature* **421**, 431-435.)



8. Explique por qué en la replicación hay una hebra líder y una rezagada. Explique la energética de la duplicación del ADN.
9. Elabore un cuadro que resuma los diferentes tipos de ADN Polimerasas, considere función, actividad exonucleasa, pertenencia a células eucariotas o bacterias, etc.
10. ¿Qué significa que la replicación es semiconservativa? ¿Puede explicar el experimento que permitió demostrar esta característica de la replicación?
11. Los transposones son secuencias o elementos genéticos móviles que pueden moverse de un lado a otro del genoma.  
a. ¿Cuáles son los mecanismos que permiten la transposición?

- b. ¿Qué relación tienen con las secuencias repetitivas del genoma? Elabore un cuadro que resuma los diferentes tipos de secuencias del genoma humano.
- c. ¿Cuál es su importancia?
12. Consulte la bibliografía y transcriba un concepto de gen. Discuta en grupo y analice su alcance.
13. ¿Cuáles son las dos principales funciones de los telómeros en los cromosomas?
14. Discuta con su grupo y elabore un texto que explique por qué sin la telomerasa se acortan los extremos de los cromosomas.

## EJERCICIOS

- Si una molécula de una doble hélice de DNA tiene un contenido G + C del 56%, ¿cuáles son los porcentajes de las cuatro bases (A, T, G y C) de esta molécula?
- Discuta si la siguiente proposición es verdadera o falsa: “Si una molécula de ADN contiene 45% de guanina, debe contener 55% de timina”. Fundamente su respuesta.
- Cuando la molécula de ADN es sometida a la acción del calor, las dos hebras se separan (desnaturalización del ADN) y la temperatura a la cual la separación ocurre es dependiente del contenido de bases. Específicamente, al ADN con mayor proporción de pares G-C se desnaturaliza a mayor temperatura que las moléculas con contenido más alto en A-T. Explique por qué.
- El Internacional Human Genome Sequencing Consortium publicó en el año 2001 que el número de megabases secuenciadas en el cromosoma 1 es 212,2. Teniendo en cuenta que la distancia entre dos nucleótidos adyacentes es de 0,34 nm, ¿cuál es la longitud, en número de pares de bases y en unidades métricas?

## BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B. “DNA Replication and Recombination” 2003. *Nature* **421**, 431-435.
- Alberts, Bray, Hopkin y col. “Introducción a la Biología Celular”, 2° edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts, Walter. “Molecular Biology of the cell” 5<sup>th</sup> edition, 2007. Garland Publishing.
- Burke, B.; Ellenberg, J. “Remodeling the walls of the nucleus” 2002. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **3**, 487-497.
- Brown, T. “Genomes” 3<sup>rd</sup> ed. 2006. Garland Science.
- Cooper, G. “The Cell. A molecular approach” 2nd Ed., 2000. ASM Press/Sinauer Associates.
- De Robertis, Hibb, Ponzio, “Biología Celular y Molecular”, 2000. Editorial El Ateneo.
- Eynard, A.; Rovasio, R., Valentich, M. “Histología y Embriología del Ser Humano. Bases Celulares y Moleculares”. 4° ed. 2008. Editorial Médica Panamericana.
- Lanctôt, C.; Cheutin, T.; Cremer, M.; Cavalli, G.; Cremer, T. 2007. “Dynamic genome architecture in the nuclear space: regulation of gene expression in three dimensions”. *Nature Reviews Genetics* vol. 8, no. 2, pp. 104-115.
- Lodish, Berk, Matsudaira y col. “Biología Celular y Molecular”, 5° edición, 2005. Editorial Médica Panamericana.
- Passarge, E. “Genética, Texto y atlas”, 2° edición, 2004. Editorial Médica Panamericana.
- Watson, J.D.; Baker, T.A.; Bell, S.P.; Gann, A.; Levine, M. y Losick, R. “Biología Molecular del Gen” 5° ed. 2006. Editorial Médica Panamericana.

## TP N° 5 - TEJIDO CONECTIVO

TEJIDO CONECTIVO. Clasificación. Funciones. Tejido conectivo laxo, denso, elástico y adiposo: Células. Estructura, ultraestructura y función. SÍNTESIS PROTEICA del colágeno y la matriz extracelular. TRANSCRIPCIÓN: ARN: tipos y estructura. Mecanismos de transcripción. Proceso post-transcripcional. TRADUCCIÓN. Regulación y control de la expresión genética. Diferenciación celular. Mecanismos genéticos moleculares que crean tipos celulares específicos. Especialización Celular. Epigenética.

### OBJETIVOS

Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:

- Identificar y describir los componentes del tejido conectivo.
- Reconocer los distintos tipos de tejido conectivo, sus características y funciones.
- Describir los mecanismos bioquímicos de la expresión génica en la síntesis del colágeno.
- Explicar los procesos que permiten la regulación de la síntesis de proteínas en sus diversos niveles.

1. Defina y caracterice el tejido conectivo (TC). Explique su distribución y funciones. Debajo de la mayoría de los epitelios se dispone el tejido conectivo. ¿Cuál es la función del tejido conectivo en el mantenimiento del tejido epitelial?

2. Describa los tipos de TC e indique en qué criterio se basa esa clasificación.

3. Los elementos constituyentes del tejido conectivo son: células, fibras y sustancia fundamental. Describa cada uno.

4. ¿Conoce alguna técnica histológica que ponga de manifiesto específicamente algún componente del TC? Explique su fundamento.

5. Elabore un dibujo o esquema de los preparados de tejido conectivo que observó al microscopio. **Describa** las características que pueda reconocer en él. Indique cuáles de esas características, a su juicio, le podrían permitir hacer un diagnóstico inequívoco del tejido.

6. *Existen aproximadamente unos 20 tipos diferentes de colágeno en el cuerpo humano. La forma predominante de colágeno es el Tipo I; esta proteína fibrilar representa cerca del 90 % del colágeno total y está compuesta por tres cadenas proteicas largas, dos idénticas llamadas Alfa-1 y una tercera llamada Alfa-2.*

*La vía biosintética responsable de la producción del colágeno es compleja, e incluye eventos intracelulares y extracelulares. Cada tipo específico de colágeno está codificado por un gen particular; mientras que los genes para todos los tipos de colágeno se encuentran en varios cromosomas. Conforme el ARNm de cada tipo de colágeno es transcrito, es sometido a una serie de procesos para producir el mensajero final para ese tipo específico de colágeno. (Diegelmann, R. (2001) "Collagen Metabolism", Wounds 13(5):177-182.)*

a. En una tabla, resuma las características y distribución de los principales tipos de colágeno.

b. Describa los fenómenos básicos implicados en la transcripción y modificaciones post-transcripcionales del ARNm del procolágeno.

- c. Diferentes genes son transcritos por distintas ARN polimerasas. ¿En qué difieren tales genes? ¿Cuáles son las enzimas implicadas en su expresión?
- d. Los ARNm eucariotas no son colineales con los genes que los codifican. Explique esta afirmación. Indique en detalle qué procesos moleculares ocurren durante la maduración del ARN. ¿Cuál es el papel de las ribonucleoproteínas pequeñas nucleares (snuRNPs)?

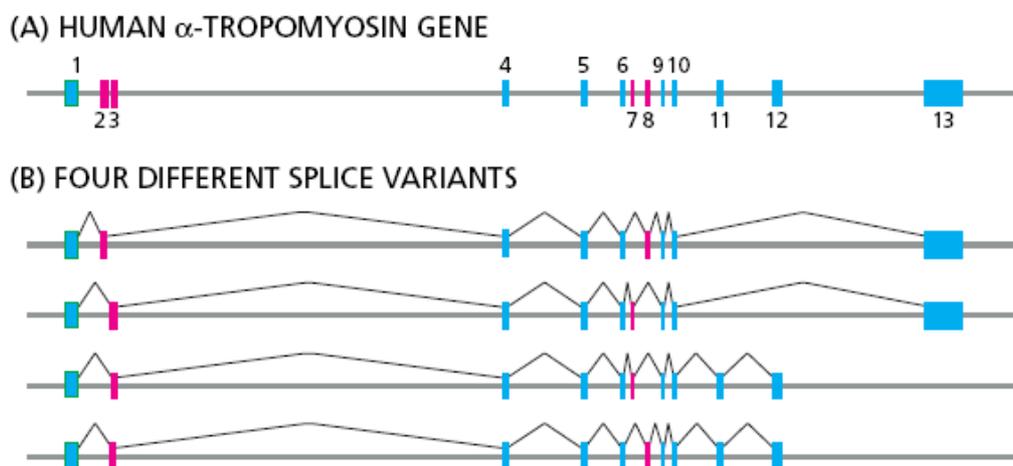
7. *La síntesis de todas las proteínas comienza en ribosomas en el citosol, con excepción de aquellas que son sintetizadas en los ribosomas de las mitocondrias. Su destino subsiguiente depende de su secuencia de aminoácidos, la cual puede contener señales que dirigen su entrega a ubicaciones fuera del citosol. Muchas proteínas no presentan señales y, en consecuencia, quedan en el citosol como residentes permanentes. Muchas otras tienen señales específicas que dirigen su transporte desde el citosol al núcleo, al RE, mitocondria o peroxisomas; las señales también pueden dirigir el transporte de las proteínas desde el RE a otros destinos en la célula.* (Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts, Walter. "Molecular Biology of the cell" 5<sup>th</sup> edition, 2007. Garland Publishing.)

- a. Indique dónde ocurre la síntesis del procolágeno y cómo se direcciona el ARNm.
- b. En las células de mamíferos, la importación de la mayoría de las proteínas al RER es co-traduccional. ¿Qué significa esta afirmación?
- c. Al RER son direccionadas proteínas específicas que pueden ser de dos tipos: proteínas transmembrana, que son sólo parcialmente translocadas a través de la membrana del RER, y proteínas solubles, que son totalmente translocadas. ¿En qué difieren los mecanismos de síntesis para cada uno de estos tipos? ¿A cuál de estos dos tipos corresponde el procolágeno?
- d. Describa las modificaciones postraduccionales que sufre el procolágeno en el RER y el aparato de Golgi, y su posterior exocitosis.
- e. Explique cómo se forma el colágeno a partir del procolágeno.
- f. Usando la bibliografía, dibuje un esquema de la síntesis completa del colágeno en un fibroblasto.

8. De acuerdo al punto 7 del Trabajo Práctico N° 3, donde tratábamos la síntesis de queratina en un queratinocito, analice la siguiente afirmación:

*"...hay muchos tipos de moléculas de queratina, codificadas por una gran familia de genes homólogos, cuya variedad se incrementa aún más a través del splicing alternativo de ARN"* ( 2002 by Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter).

Y teniendo en cuenta el siguiente ejemplo de splicing alternativo de la tropomiosina:



**(A) Exones en el gen humano de la  $\alpha$ -Tropomiosina; se muestran como rectángulos numerados las posiciones y tamaño relativo de los exones.**

**(B) Variantes en el splicing de cuatro ARNm del gen de  $\alpha$ -Tropomiosina. El splicing es indicado por líneas que conectan los exones incluidos en el ARNm maduro.**

Conteste:

- a) El genoma humano contiene unos 50.000 genes menos de lo que inicialmente se calculó. ¿Por qué esas predicciones iniciales fueron tan altas?
- b) ¿Qué relación tiene el mecanismo de splicing representado en la figura con su respuesta en el punto anterior?
- c) ¿Puede describir algún otro proceso que le permita a la célula generar una gran diversidad proteica?

9. *Las propiedades biológicas de cada tipo celular eucariota están principalmente determinadas por las proteínas expresadas en ellas. Esta constelación de proteínas expresadas determina gran parte de la arquitectura de la célula, su actividad enzimática, sus interacciones con el entorno, y muchas otras propiedades fisiológicas. Aún así, en cualquier momento dado de la historia de vida de una célula, sólo una fracción de los ARNs y proteínas codificadas por su genoma son expresadas. En distintos momentos, el perfil de productos génicos expresados puede diferir dramáticamente, tanto en relación a qué proteínas son expresadas como a en qué proporción. (...) Más aún: los patrones de expresión génica eucariota pueden ser extraordinariamente complejos. Es decir que existe una gran variación entre los genes en cuanto a cuándo un gen se expresa (transcripcionalmente activo) o no (transcripcionalmente inactivo), y en qué tanto debe transcribirse. Por ejemplo, un gen puede ser transcripto sólo durante el desarrollo temprano y otro sólo en presencia de una infección viral. (Griffiths, Wessler, Lewontin, Carrol. "Introduction to genetic analysis" 9<sup>th</sup> ed. 2008. W. H. Freeman.)*

¿Puede explicar en un texto cuáles son los **mecanismos regulatorios generales** que permiten que las diferentes células expresen distintos genes a partir de un mismo repertorio génico? ¿A qué niveles pueden operar estos mecanismos?

10. *Los espacios extracelulares en los tejidos están ocupados por la matriz extracelular, la cual está compuesta por proteoglicanos como decorina y fibromodulina; proteínas fibrosas como colágeno, elastina y fibrilina; moléculas de adhesión como fibronectina y laminina; y diferentes tipos de metaloproteinasas, que juegan importantes roles en la señalización y las actividades celulares. Los colágenos son las principales proteínas fibrosas en la matriz extracelular. Diferentes combinaciones de distintas cadenas forman la estructura helicoidal de las triples hélices de los diversos colágenos. Se han identificado unos 20 tipos de colágeno diferentes. El colágeno tipo I, está compuesto por tres cadenas ricas en glicina y prolina: dos cadenas 1(I) y una cadena 2 (II) producto de dos genes distintos. Las cadenas polipeptídicas pro-COL1A1 y COL1A2 son sintetizadas por fibroblastos, osteoblastos u odontoblastos y entran en el retículo endoplasmático donde son hidroxilados residuos prolina y lisina específicos, los cuales ayudan a las cadenas a combinarse con otras por puentes hidrógeno para formar la estructura de triple hélice del procolágeno. Los procolágenos son secretados por los fibroblastos a través del aparato de Golgi al espacio extracelular donde péptidos N- terminal y C-terminal son clivados por proteasas específicas. Las moléculas de colágeno maduras procesadas se agregan para formar grandes fibras de colágeno y ayudan a formar la matriz extracelular con otros componentes.*

*En consecuencia, la producción normal funcional y estructural de colágeno tipo I y su deposición en la matriz extracelular para formar tejido conectivo normal fisiológico requiere de regulación en varios niveles. La anormalidad en alguno de esos niveles puede causar hiposíntesis, hipersíntesis o síntesis defectuosa y acumulación de colágeno en la matriz extracelular, lo cual a su vez provoca diferentes enfermedades en el ser humano como osteogénesis imperfecta, esclerodermia o esclerosis sistémica, queloides, fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, etc. (Ghosh, A. (2002) "Factors Involved in the Regulation of Type I Collagen Gene Expression: Implication in Fibrosis" Exp Biol Med Vol. 227(5):301–314.)*

¿Cuáles son los niveles en los que se ejerce la regulación de la expresión génica?

11. *La cicatrización de heridas se ha definido como una secuencia altamente regulada de eventos celulares que conducen a la reconstitución de la integridad celular luego de la injuria. Los fibroblastos juegan un importante rol en esta secuencia produciendo componentes de la matriz extracelular tales como los diferentes tipos de colágeno y fibronectina.*

*El metabolismo del colágeno es cuidadosamente controlado durante el proceso de reparación de la herida. La regulación probablemente se lleva a cabo por la interacción de los fibroblastos con la matriz extracelular circundante y por citoquinas y factores de crecimiento conocidos que regulan específicamente la expresión génica y el metabolismo del colágeno. (Martens, M.; Huyben, C.; Hendriks,*

T.(1992) “Collagen synthesis in fibroblasts from human colon: regulatory aspects and differences with skin fibroblasts” Gut; 33:1664-1670.)

Consulte la bibliografía y defina: factor de transcripción, factor de transcripción basal, factor de transcripción específico, regulador, activador, represor, amplificador.

12. Los factores de transcripción tienen dominios de unión al ADN que permiten clasificarlos en familias. Indique cuáles son esas familias y qué caracteriza a cada una.

13. “*Otros cambios en la actividad del genoma son permanentes o al menos semipermanentes; éstos resultan en una alteración de la identidad bioquímica de la célula que no es fácilmente reversible. Estos cambios, fundamentales para la diferenciación celular, deben persistir por largos períodos, e idealmente deberían mantenerse aún cuando el estímulo que originalmente los indujo haya desaparecido. Los mecanismos regulatorios que dan lugar a estos cambios más duraderos implican sistemas adicionales a la modulación de activadores y represores de la transcripción. Estos mecanismos incluyen cambios debidos a la estructura de la cromatina y cambios que resultan de rearrreglos físicos del genoma(\*)*” (Brown, T. “Genomes” 3<sup>rd</sup> ed. 2006. Garland Science)

(\*) Este último no es un mecanismo regulatorio común, pero es importante en la expresión de genes de inmunoglobulinas, como se verá en el TP N° 36.

a. ¿Qué cambios en la estructura de la cromatina se relacionan con la regulación de la expresión génica? (Vea el TP N° 4)

b. La acetilación y desacetilación de histonas provocan cambios en los nucleosomas. ¿Cómo afectan estos cambios a la expresión génica?

c. Describa los procesos y enzimas implicados en la **metilación del ADN**. ¿Qué consecuencias tiene sobre la expresión génica?

d. La metilación del ADN es un cambio (o una marca o sello) que puede heredarse de forma estable de una generación celular a la siguiente. Explique de qué forma esto es posible.

e. ¿Qué son las *marcas epigenéticas*? ¿Cómo influyen en la expresión génica?

14. ¿Qué significa el término “*herencia epigenética*”?

## BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, Bray, Hopkin y col. “*Introducción a la Biología Celular*”, 2° edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts, Walter. “*Molecular Biology of the cell*” 5<sup>th</sup> edition, 2007. Garland Publishing.
- Brown, T. “*Genomes*” 3<sup>rd</sup> ed. 2006. Garland Science.
- Cooper, G. “*The Cell. A molecular approach*” 2nd Ed., 2000. ASM Press/Sinauer Associates.
- De Robertis, Hibb, Ponzio, “*Biología Celular y Molecular*”, 2000. Editorial El Ateneo.
- Diegelmann, R. “*Collagen Metabolism*”, 2001. Wounds 13(5):177-182.
- Eynard, A.; Rovasio, R., Valentich, M. “*Histología y Embriología del Ser Humano. Bases Celulares y Moleculares*”. 4° ed. 2008. Editorial Médica Panamericana.
- Fawcett, D. “*Tratado de Histología*”, 12° edición, 1995. Editorial Interamericana McGraw-Hill.
- Gartner LP, Hiatt JL. “*Texto y atlas de Histología*” 3ª edición. 2003. Editorial Médica Panamericana.
- Geneser, F. “*Histología*” . 3ª edición. 2000. Ed. Panamericana, Buenos Aires.
- Griffiths, Wessler, Lewontin, Carrol. “*Introduction to genetic analysis*” 9<sup>th</sup> ed. 2008. W. H. Freeman
- Ghosh, A. “*Factors Involved in the Regulation of Type I Collagen Gene Expression: Implication in Fibrosis*” 2002. Exp Biol Med Vol. 227(5):301–314.
- Junqueira L, Carneiro J. “*Histología Básica*”. *Texto y Atlas*. 5ª edición. 2000. Ed. Masson.
- Lodish, Berk, Matsudaira y col. “*Biología Celular y Molecular*”, 5° edición, 2005. Editorial Médica Panamericana.
- Martens, M.; Huyben, C.; Hendriks, T. “Collagen synthesis in fibroblasts from human colon: regulatory aspects and differences with skin fibroblasts” 1992. Gut; 33:1664-1670.
- Passarge, E. “*Genética, Texto y atlas*”, 2° edición, 2004. Editorial Médica Panamericana.
- Ross, M., Kaye, G., Pawlina, W. “*Histología, Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular*” 4° edición, 2004, Editorial Médica Panamericana.
- Watson, J.D.; Baker, T.A.; Bell, S.P.; Gann, A.; Levine, M. y Losick, R. “*Biología Molecular del Gen*” 5° ed. 2006. Editorial Médica Panamericana.

## TP N°6 - TEJIDO CONECTIVO. SÍNTESIS PROTEICA

TEJIDO CONECTIVO. SÍNTESIS PROTEICA del colágeno y la matriz extracelular. Composición química. Retículo endoplasmático liso y rugoso. Ribosomas. Uniones de las células con la matriz extracelular: contactos focales, hemidesmosomas. Fibras colágenas, reticulares y elásticas.

### OBJETIVOS

Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:

- Describir los principales componentes de la matriz extracelular.
- Describir la organización del retículo endoplasmático rugoso y liso y explicar sus funciones generales.
- Explicar la síntesis, organización y funciones de los ribosomas.
- Describir el proceso de traducción.
- Explicar y describir los mecanismos de unión célula matriz.

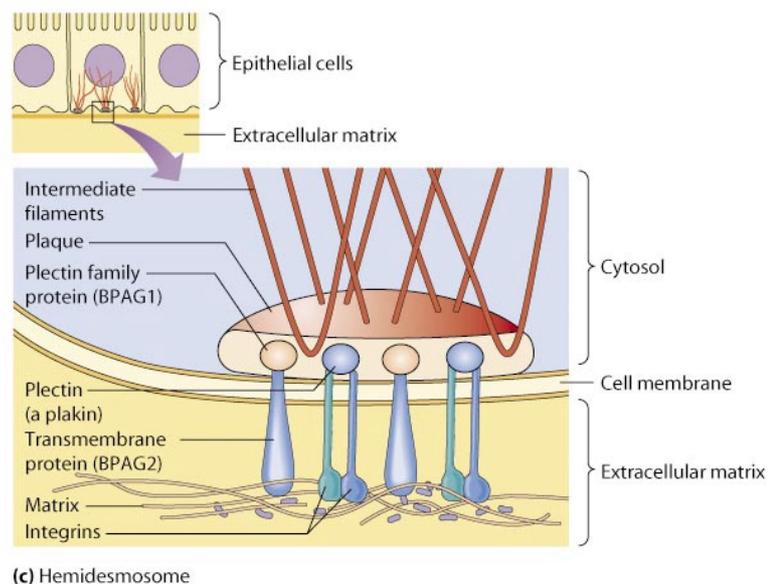
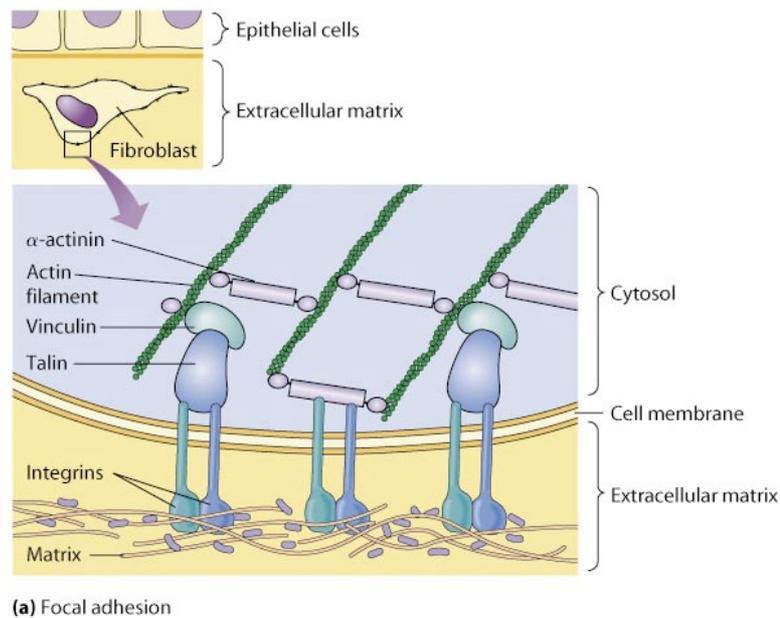
1. Las interacciones celulares con la matriz extracelular (MEC) y con células vecinas disparan numerosas respuestas que tienen roles esenciales en la regulación de su comportamiento y destino. La organización y adhesión a la matriz extracelular afecta a las células en muchas formas. Además de proveer el microambiente físico en el que las células viven, la matriz extracelular proporciona un sustrato para el anclaje celular y el andamiaje tisular, guía la migración celular durante el desarrollo embrionario y la reparación de heridas, y tiene funciones claves en la morfogénesis de los tejidos. Aún así, además de estas funciones estructurantes obvias, la matriz extracelular también es responsable de transmitir señales ambientales a las células, lo cual afecta esencialmente todos los aspectos de la vida de la célula, incluyendo su proliferación, diferenciación y muerte (...). De este modo, la vida de la célula parece implicar una interacción intensa y compleja con la matriz extracelular. (Geiger B, Bershadsky A, Pankov R, Yamada KM. (2001) "*Transmembrane crosstalk between the extracellular matrix--cytoskeleton crosstalk*". Nat Rev Mol Cell Biol. 11:793-805.)

- a. Describa la composición de la MEC. Asigne a cada tipo de componente de la MEC alguna de las funciones mencionadas en el párrafo. (Puede describir estos componentes dentro de tres grandes grupos: Fibras, Proteoglicanos y Glicoproteínas de Adhesión)
- b. En el TP N° 5, describió los principales tipos de colágeno y sus funciones. Describa aquí las características y funciones de la elastina.

- 2. Describa las principales características estructurales y funcionales de RER y REL.
- 3. Explique la organización y funciones del nucleolo. Describa los genes de ARN ribosomal.
- 4. Describa la transcripción y procesado de los ARNr y la organización estructural de los ribosomas.
- 5. Explique cuál es el rol de los ribosomas en el inicio de la traducción. Describa el proceso de la traducción y las etapas en que ocurre la síntesis proteica.
- 6. Como se vio en el TP N° 5, la asociación de los ribosomas al RER define el destino de la proteína. Explique cómo se produce la unión del ribosoma a la membrana del RER.

7. La unión de las células a la MEC requiere proteínas transmembrana que unan los componentes del citoesqueleto a las proteínas de la MEC. Los **contactos focales** proveen el vínculo estructural entre las células y la MEC. Los **hemidesmosomas** conectan la superficie basal de las células epiteliales a la lámina basal subyacente. En relación a la figura 1, describa cada uno de estos complejos de unión. (Incluya en su descripción algunos de los componentes de la MEC que caracterizó en el punto 1, y las CAMs que estudió en el punto 6 del TP N° 3)

**FIGURA 1** (Becker, Kleinsmith, Hardin, Bertoni. “The World of the Cell”, 7° ed. 2009, Benjamin Cummings.)



8. Dibuje y compare las características de las diferentes fibras: colágenas, elásticas y reticulares.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, Bray, Hopkin y col. *“Introducción a la Biología Celular”*, 2º edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts, Walter. *“Molecular Biology of the cell”* 5<sup>th</sup> edition, 2007. Garland Publishing.
- Becker, Kleinsmith, Hardin, Bertoni. *“The World of the Cell”*, 7º ed. 2009, Benjamin Cummings.
- Cooper, G. *“The Cell. A molecular approach”* 2nd Ed., 2000. ASM Press/Sinauer Associates.
- De Robertis, Hibb, Ponzio, *“Biología Celular y Molecular”*, 2000. Editorial El Ateneo.
- Eynard, A.; Rovasio, R., Valentich, M. *“Histología y Embriología del Ser Humano. Bases Celulares y Moleculares”*. 4º ed. 2008. Editorial Médica Panamericana.
- Fawcett, D. *“Tratado de Histología”*, 12º edición, 1995. Editorial Interamericana McGraw-Hill.
- Gartner LP, Hiatt JL. *“Texto y atlas de Histología”*. 3ª edición 2003. Editorial Médica Panamericana
- Geiger B, Bershadsky A, Pankov R, Yamada KM. *“Transmembrane crosstalk between the extracellular matrix--cytoskeleton crosstalk”*. 2001. Nat Rev Mol Cell Biol. 11:793-805.
- Geneser, F. *“Histología”*. 3ª edición. 2000. Ed. Panamericana, Buenos Aires.
- Lodish, Berk, Matsudaira y col. *“Biología Celular y Molecular”*, 5º edición, 2005. Editorial Médica Panamericana.
- Ross, M., Kaye, G., Pawlina, W. *“Histología, Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular”* 4º edición, 2004, Editorial Médica Panamericana.

## TP N° 7 – TEJIDO CONECTIVO, MEMBRANA CELULAR COMUNICACIÓN INTERCELULAR

TEJIDO CONECTIVO. Sistema mononuclear-fagocítico. Origen embriológico. Reconocimiento y adhesión celular, su mecanismo. MEMBRANA CELULAR. Modelo del mosaico fluido. Asimetría de la membrana. Fluidéz de la membrana. COMUNICACIÓN INTERCELULAR. Principios generales. Inductores y receptores. Inducciones celulares mediadas por receptores citosólicos. Inducciones mediadas por receptores situados en la membrana plasmática: actividad enzimática, con cambios conformacionales, ligados a la proteína G.

### OBJETIVOS

Al finalizar el Trabajo Práctico, el alumno deberá ser capaz de:

- Explicar el origen y funciones del sistema mononuclear-fagocítico.
  - Definir la función y propiedades de las CAMs.
  - Detallar la composición química y estructural de las membranas biológicas.
  - Describir las propiedades de las membranas y su importancia biológica
  - Describir los fenómenos generales que median la comunicación entre células y su importancia.
  - Diferenciar receptores que median la señalización y describir las vías de transducción de señales.
1. Defina *sistema mononuclear-fagocítico*. Explique qué células del tejido conectivo incluye, y cuál es su función y origen.
  2. Como se vió en el TP N°3, las moléculas de adhesión celular son proteínas implicadas en la interacción célula-célula o célula-matriz. Explique sus principales funciones en el reconocimiento y la adhesión celular. Mencione las principales familias de CAMs.
  3. Indique la composición de las membranas biológicas. Explique por qué su organización estructural responde al modelo del *mosaico fluido*.
  4. Explique los factores que afectan la fluidez de las membranas.
  5. ¿Qué es la *asimetría* de la membrana?
  6. Indique cuáles son los principales fosfolípidos que se encuentran en las membranas biológicas.
  7. ¿Cómo se denominan las principales clases de proteínas de membrana? ¿Qué las diferencia? Dé ejemplos.
  8. Describa, mediante el ejemplo de los tipos sanguíneos eritrocitarios, la importancia de los oligosacáridos de membrana.
  9. Las membranas biológicas tienen un espesor de 5-10 nm. En relación con este dato, y con la composición química que describió en el punto 1, indique:
    - a. ¿Qué tipo de microscopía puede resolver la membrana plasmática? ¿Por qué?
    - b. Dada la composición química de la membrana, la preparación histológica de rutina ¿permite preservar la integridad de la membrana? ¿Por qué?

- c. Los hidratos de carbono de las membranas, en general representan menos de un 10% del total de la masa de la membrana. ¿Qué técnica le permitiría ponerlos de manifiesto?
10. Las membranas biológicas llevan a cabo una gran diversidad de funciones. Explique a qué se refiere y cómo se lleva a cabo cada una de las siguientes:
- Compartimentalización
  - Permeabilidad selectiva
  - Transporte de solutos
  - Respuesta a señales externas
  - Interacciones intercelulares
  - Transducción de energía
11. Muchos tipos celulares tienen receptores que se unen a hormonas esteroides. En la célula, ¿dónde piensa Ud. que se encuentran tales receptores? ¿Por qué?
12. Indique qué acciones promueve en una célula la comunicación intercelular.
13. Caracterice los elementos que participan en la activación de una célula por otra.
14. En referencia a la distancia entre célula inductora y célula blanco, ¿cómo puede clasificar a las señales inductoras? Indique ejemplos en cada caso.
15. ¿Cómo podría clasificar los diferentes tipos de receptor que actúan en la comunicación celular?
16. Elabore una clasificación de las moléculas señalizadoras. ¿En qué categoría incluye al óxido nítrico (NO)? ¿Por qué?
17. Defina “segundo mensajero”. Dé ejemplos.
18. Describa en detalle los receptores ligados a proteínas G y las proteínas G.
19. Describa las vías de la fosfolipasa C y del AMPc en base a las **figuras 1 y 2**. ¿Cuál es el “segundo mensajero” en cada vía? ¿Cuál es la principal función del DAG?

**FIGURA 1:** VÍA DE LA FOSFOLIPASA C (Kierszenbaum, A. “Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology” 2° ed)

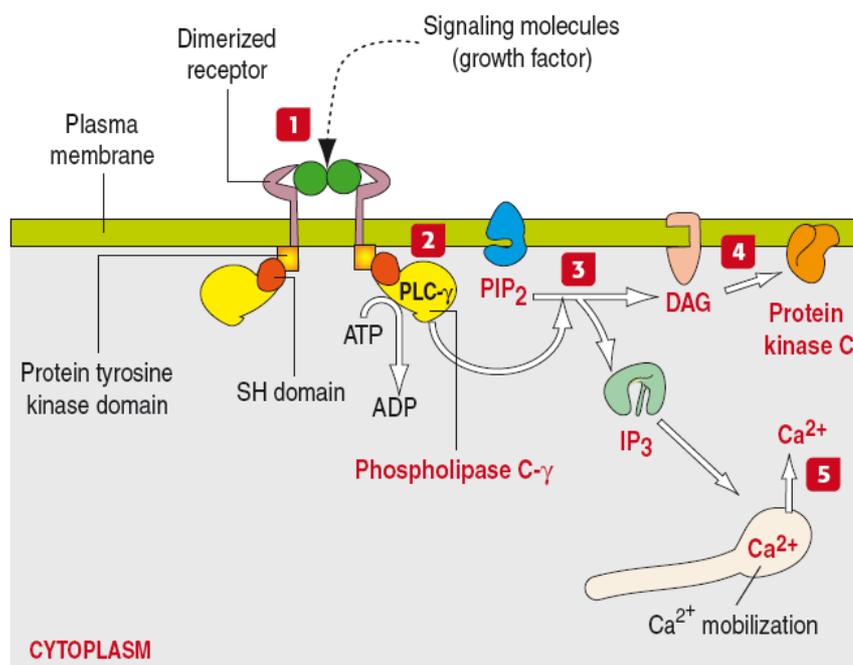
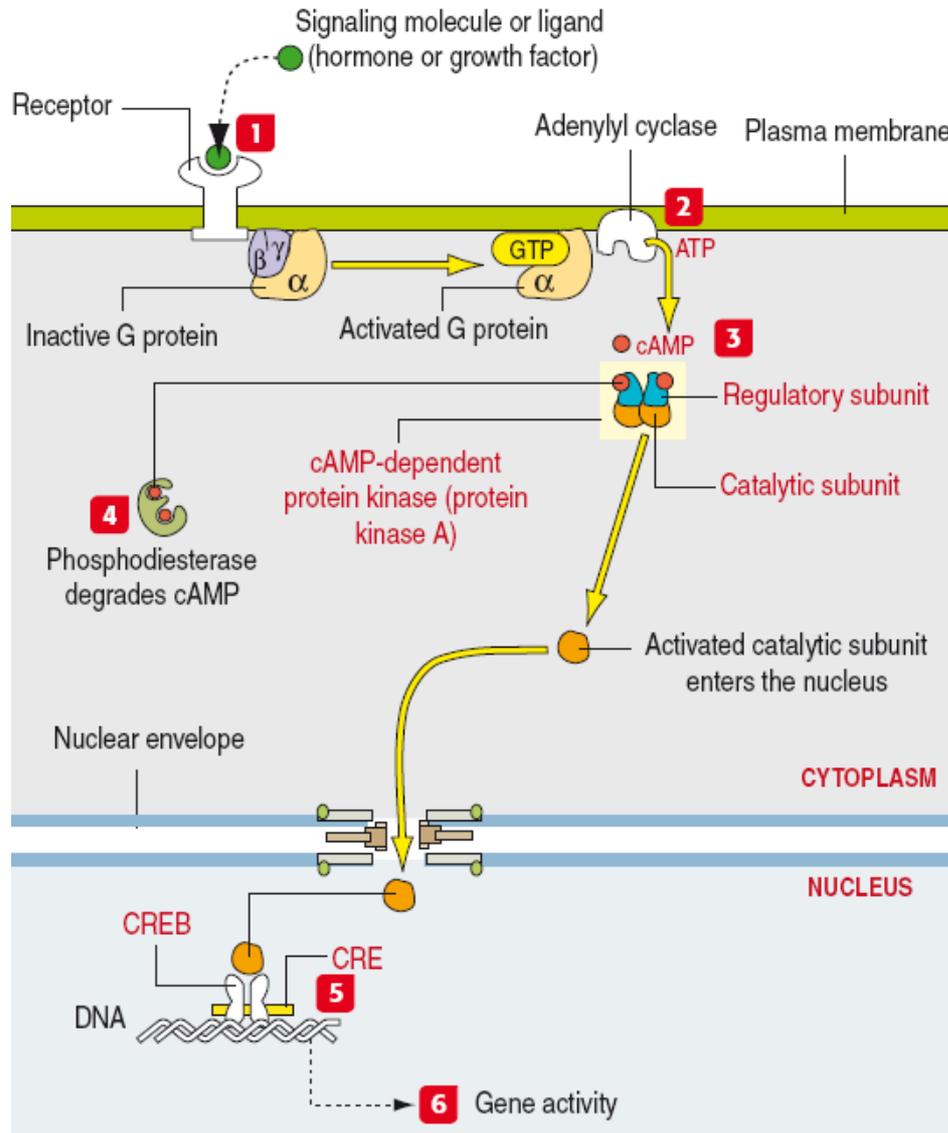


FIGURA 2: VÍA DEL AMPC (Kierszenbaum, A. "Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology" 2° ed)



20. Algunas toxinas bacterianas pueden modificar de forma irreversible la proteína G. Explique cómo actúa la toxina colérica.

21. La concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  libre en el citosol de una célula no estimulada es extremadamente baja comparada con su concentración en el fluido extracelular. ¿Cómo mantiene la célula esta diferencia de gradiente?

22. El aumento de la concentración citosólica de  $\text{Ca}^{++}$  media fenómenos biológicos importantes. Dé ejemplos.

23. Describa la activación del receptor tirosin quinasa (RTK). ¿Qué fenómenos desencadena? Dé ejemplos de señalización por esta vía.

24. Lea el siguiente párrafo (Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts, Walter. "Molecular Biology of the cell" 5<sup>th</sup> edition, 2007. Garland Publishing):

*“Los receptores tirosin quinasa reclutan muchos tipos de proteínas señalizadoras intracelulares. Algunas de esas proteínas actúan sólo como adaptadores; ayudan a construir un gran agregado de señalización acoplado el receptor a otras proteínas, las que a su vez pueden unir y activar a otras proteínas a lo largo de las cuales pasa el mensaje. Una de las moléculas clave de estos complejos es Ras,*

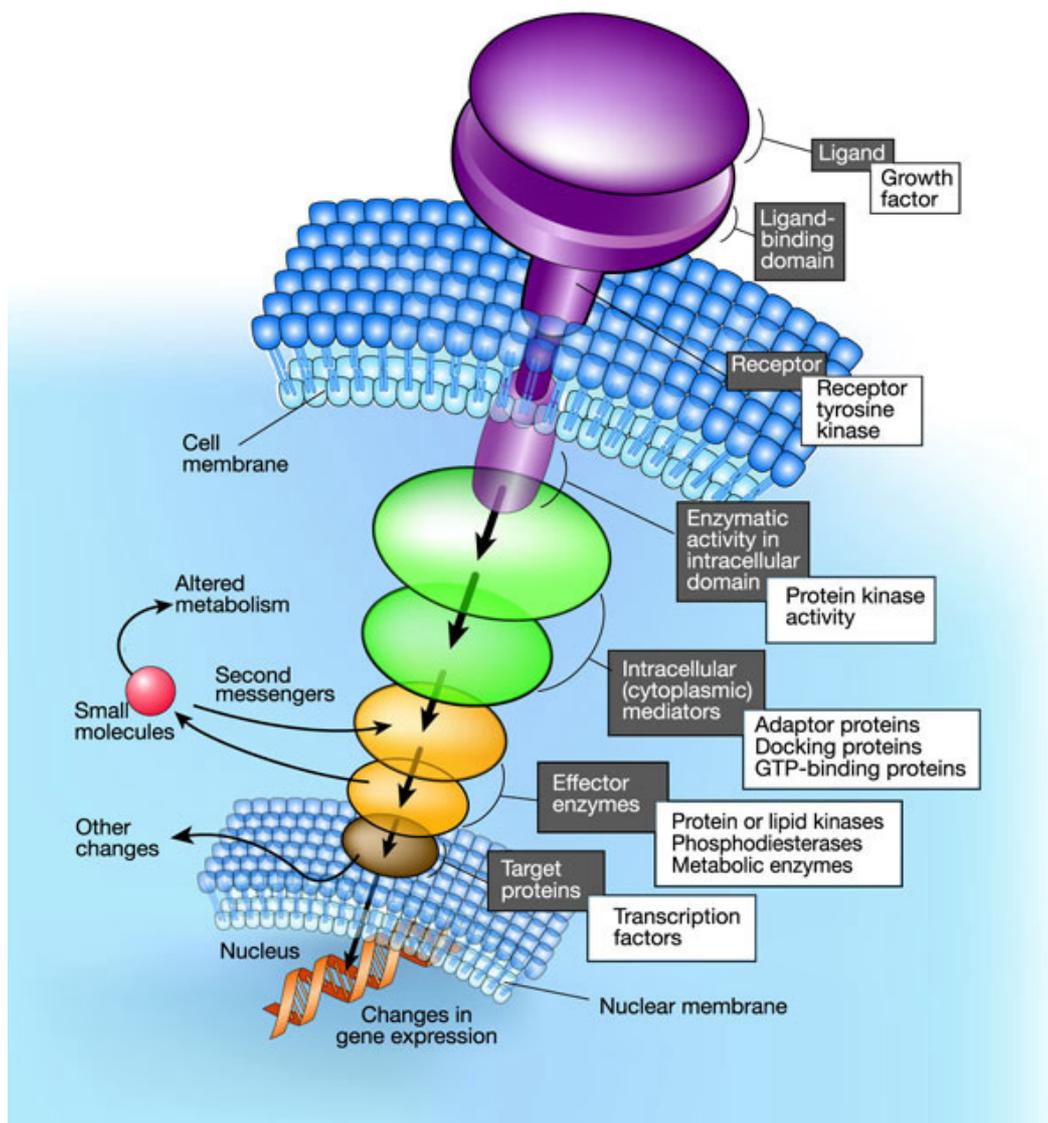
una proteína pequeña unida por una cola lipídica a la cara citoplasmática de la membrana plasmática. Virtualmente todos los receptores tirosin quinasa activan Ras, desde los receptores del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) que median la proliferación celular en la reparación de las heridas a los receptores del factor de crecimiento del nervio (NGF) que previenen la muerte de ciertas neuronas durante el desarrollo del sistema nervioso.”

- a. Explique la vía de activación de Ras.
- b. Explique la siguiente afirmación: “ras es un protooncogen”

25. En base a la **figura 3**, ¿qué características comunes son compartidas por la mayoría de los diferentes sistemas de señalización? Discuta en grupo e indique qué significan los siguientes términos y trate de ubicar ejemplos para estas vías:

- Proteínas de relevo (relay proteins)
- Proteínas mensajeras (messenger proteins)
- Proteínas adaptadoras (adaptor proteins)
- Proteínas amplificadoras (Amplifier proteins)
- Proteínas transductoras (Transducer proteins)
- Proteínas bifurcadoras (bifurcation proteins)
- Proteínas integradoras (Integrator proteins)
- Proteínas reguladoras latentes de genes (latent gene regulatory proteins)

**FIGURA 3:** ESQUEMA GENERAL DE LAS VÍAS SEÑALIZADORAS  
(Downward, J. (2001) “The ins and outs of signaling” *Nature* **411**, 759-762)



## BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, Bray, Hopkin y col. *“Introducción a la Biología Celular”*, 2º edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- De Robertis E, Hibb J, Ponzio R, *“Biología Celular y Molecular”*, 2000. Editorial El Ateneo.
- De Robertis EMF (h), Hib J, Ponzio RO. *“Biología Celular y Molecular”*. 12ª edición. 2003. El Ateneo. Buenos Aires.
- Downward, J. *“The ins and outs of signaling”* 200. *Nature* **411**, 759-762.
- Eynard, A.; Rovasio, R., Valentich, M. *“Histología y Embriología del Ser Humano. Bases Celulares y Moleculares”*. 4º ed. 2008. Editorial Médica Panamericana.
- Fawcett, D. *“Tratado de Histología”*, 12º edición, 1995. Editorial Interamericana McGraw-Hill.
- Gartner LP, Hiatt JL. *“Texto y atlas de Histología”*. 3ª edición. 2003. Editorial Médica Panamericana.
- Geneser, F. *“Histología”*. 3ª edición. 2000. Ed. Panamericana, Buenos Aires.
- Junqueira L, Carneiro J. *“Histología Básica”*. *Texto y Atlas*. 5ª edición 2000. Ed. Masson.
- Karp, G. *“Cell and molecular biology: Concepts and experiments”* 4<sup>th</sup> ed. 2005. Wiley Interscience.
- Kierszenbaum, A. *“Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology”* 2º edición, 2007, Elsevier Science.
- Lodish, Berk, Matsudaira y col. *“Biología Celular y Molecular”*, 5º edición, 2005. Editorial Médica Panamericana.
- Ross, M., Kaye, G., Pawlina, W. *“Histología, Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular”* 4º edición, 2004, Editorial Médica Panamericana.

## TP N° 8 – SISTEMA DE ENDOMEMBRANAS, SECRECIÓN CELULAR

SISTEMA DE ENDOMEMBRANAS. Compartimientos de las células. Transporte de moléculas entre las organelas citoplasmáticas. Retículo endoplasmático liso y rugoso. Estructura y función. Biosíntesis de membranas. Proteínas de exportación. SECRECIÓN CELULAR. Complejo de Golgi. Dictiosomas. Ciclo secretor. Lisosomas. Peroxisomas, Proteosomas. Ultraestructura y función Endocitosis: fagocitosis y pinocitosis, transcitosis. Endocitosis mediada por receptor.

### OBJETIVOS

Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:

Describir la organización y funciones del sistema de endomembranas y la secreción celular.

Describir la traslocación y modificación de proteínas en el RE y el aparato de Golgi.

Explicar cómo se destinan las proteínas a lo largo del sistema de endomembranas y vesículas asociadas.

Explicar las funciones de los endosomas.

1. Explique cómo está constituido el sistema de endomembranas
2. Mencione las principales características estructurales y funcionales del retículo endoplasmático (RE).
3. Describa cómo ocurre la glicosilación de proteínas sintetizadas en el RE.
4. Describa las funciones del RE Liso.
5. Describa la organización estructural del Aparato de Golgi. ¿Qué relación tiene con sus funciones?
6. Explique la compartimentación del *dictiosoma*.

7. Analice el siguiente texto:

*Las proteínas pueden ser secretadas por exocitosis en forma constitutiva o facultativa (regulatoria). En la vía facultativa, las moléculas son almacenadas en vesículas secretorias, las cuales no se fusionan con la membrana plasmática para liberar sus contenidos hasta que una señal extracelular es recibida. Una condensación selectiva de las proteínas destinadas a vesículas secretorias acompaña su empaquetamiento dentro de esas vesículas en la cara trans del complejo de Golgi. La vía facultativa opera sólo en células secretoras especializadas, pero una vía secretoria constitutiva opera en todas las células, mediada por un continuo proceso de transporte vesicular desde la cara trans del complejo de Golgi a la membrana plasmática. En células no polarizadas hay evidencia de que las proteínas hechas en el RE son automáticamente enviadas al complejo de Golgi y de ahí a la membrana por esta vía constitutiva a menos que sean desviadas o retenidas por señales de distribución específicas. En las células polarizadas, en cambio, las vías de transporte desde la cara trans del Golgi hacia la membrana plasmática deben operar selectivamente para asegurar que diferentes sets de proteínas de membrana, proteínas secretadas y lípidos sean distribuidos a los dominios apicales y basolaterales.*

(Alberts, Bruce, Watson y col. "Molecular Biology of the cell", 2° edición, 1989. Editorial Garland Publishing.)

- a. Subraye en el texto los términos que remitan a conceptos fundamentales (ej: *exocitosis* y el concepto de secreción). Consulte la bibliografía y explíquelos.
  - b. Explique en qué consiste el ciclo secretor y describa sus fases.
  - c. Diferencie secreción constitutiva y regulatoria. Dé ejemplos de cada una.
8. Como se vio en los TPs 4, 5 y 6, luego de la síntesis, los proteoglucanos (PGs) son transportados desde el aparato de Golgi a sus destinos finales: la matriz extracelular, la superficie celular o las organelas intracelulares. Tal transporte vectorial requiere mecanismos de reconocimiento, selección y reparto.
- a. Explique dónde son sintetizados y glicosilados los PGs. Mencione las modificaciones generales que sufren las proteínas durante el tráfico intracelular (en RE y aparato de Golgi).
  - b. Explique cómo se señala este transporte vectorial.
9. Explique la endocitosis mediada por receptor; diferencie este proceso de fagocitosis y pinocitosis.
10. Describa, mediante ejemplos, el proceso de *transcitosis*.
11. Diferencie los distintos tipos de vesículas transportadoras.
12. Explique las vías de degradación en lisosomas.
13. Describa la organización y funciones de los endosomas.
14. Explique cómo se originan los lisosomas y peroxisomas y describa brevemente sus funciones. Explique cómo se destinan a estas organelas las proteínas que contienen (Ej: M6P)
15. Dibuje un esquema del sistema de endomembranas en una célula idealizada.
16. ¿Qué son los proteosomas? ¿Cuál es su función?

## BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, Bray, Hopkin y col. *“Introducción a la Biología Celular”*, 2º edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- De Robertis E, Hibb J, Ponzio R, *“Biología Celular y Molecular”*, 2000. Editorial El Ateneo.
- De Robertis EMF (h), Hib J, Ponzio RO. *“Biología Celular y Molecular”*. 12ª edición. 2003. El Ateneo. Buenos Aires.
- Eynard, A.; Rovasio, R., Valentich, M. *“Histología y Embriología del Ser Humano. Bases Celulares y Moleculares”*. 4º ed. 2008. Editorial Médica Panamericana.
- Geneser, F. *“Histología”*. 3ª edición. Ed. Panamericana, Buenos Aires, 2000.
- Karp, G. *“Cell and molecular biology: Concepts and experiments”* 4<sup>th</sup> ed. 2005. Wiley Interscience.
- Kierszenbaum, A. *“Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology”* 2º ed, 2007, Elsevier Science.
- Lodish, Berk, Matsudaira y col. *“Biología Celular y Molecular”*, 5º edición, 2005. Editorial Médica Panamericana.
- Prydz, K.; Dalen, K. *“Synthesis and sorting of proteoglycans”* 2000. Journal of Cell Science 113, 193-205.
- Ross, M., Kaye, G., Pawlina, W. *“Histología, Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular”* 4º edición, 2004, Editorial Médica Panamericana.

## TP N° 9 – SISTEMA OSTEO-ARTICULAR, TEJIDO ÓSEO Y CARTILAGINOSO

SISTEMA OSTEO-ARTICULAR. TEJIDO CARTILAGINOSO. Desarrollo, estructura y función. Matriz cartilaginosa, síntesis proteica de la matriz cartilaginosa. Variedades de cartílago. Crecimiento y nutrición del cartílago. TEJIDO ÓSEO. Desarrollo, estructura y función. Matriz ósea. Síntesis proteica de la matriz ósea. Organoides involucrados. Hueso esponjoso y compacto. Osificación intramembranosa y endocondral. Crecimiento, nutrición y remodelación. Articulaciones: revestimiento sinovial.

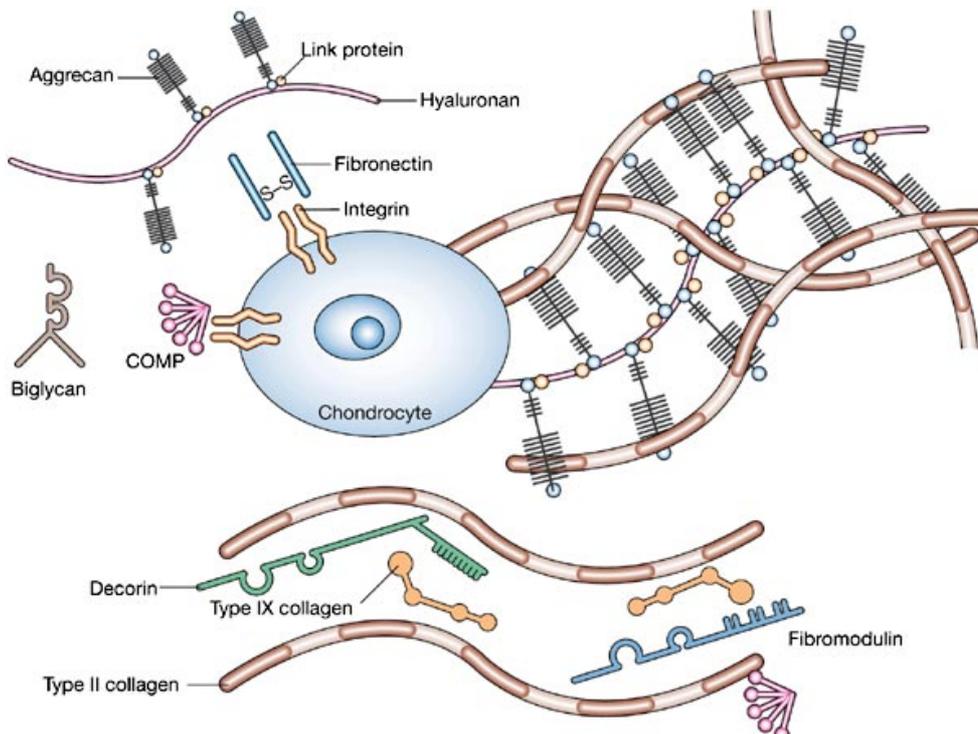
### OBJETIVOS

Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:

- Describir y reconocer las características histológicas de los tejidos cartilaginoso y óseo y las estructuras que estos tejidos forman.
- Reconocer y describir los tipos de cartílago y sus propiedades funcionales.
- Reconocer la organización estructural del tejido óseo.
- Describir los componentes celulares y acelulares de ambos tejidos.
- Describir procesos de osificación.

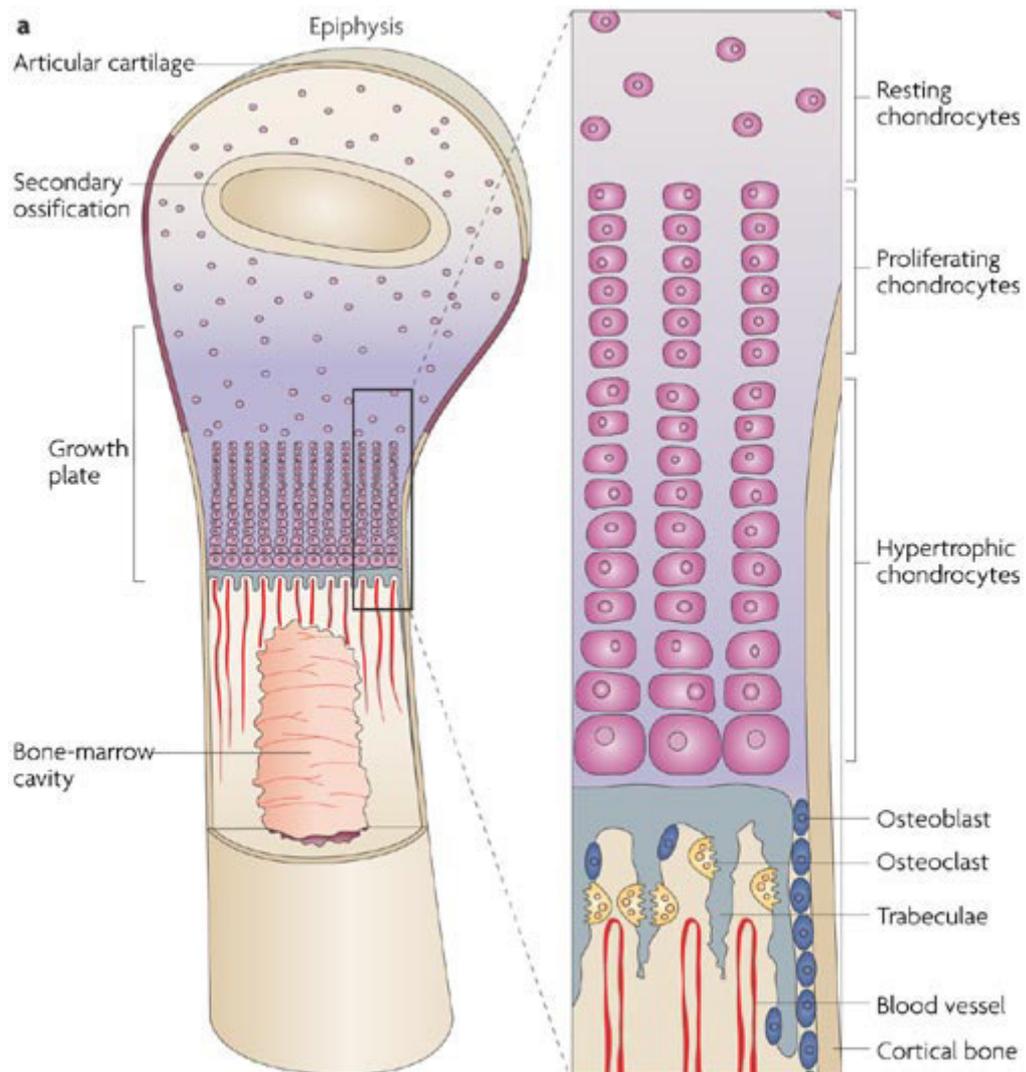
1. El cartílago es un tipo de tejido conectivo denso. Explique esta afirmación. Describa los componentes y organización del tejido cartilaginoso.
2. La figura 1 muestra la composición básica de la matriz extracelular del cartílago articular. Identifique los principales grupos de proteínas que se muestran y que ya ha estudiado en los trabajos prácticos anteriores.

**FIGURA 1:** MATRIZ EXTRACELULAR DEL CARTÍLAGO ARTICULAR. (Chen, F.; Rousche, K.; Tuan, R. (2006) “Technology Insight: adult stem cells in cartilage regeneration and tissue engineering”)



3. El tejido cartilaginoso se clasifica en tres tipos: hialino, elástico y fibroso. Resuma las características de los diferentes tipos de cartílago en el cuadro 1 (incluya conceptos como metacromasia, grupos isógenos, capas del pericondrio, matriz territorial). Dibuje cómo los ve al microscopio óptico.
4. Diferencie, según las características tintoriales, las zonas del cartílago.
5. El tejido cartilaginoso es avascular. ¿Cómo se nutren las células de este tejido?
6. Explique el origen embriológico del cartílago.
7. Explique cómo ocurre el crecimiento y mantenimiento del cartílago.
8. Describa la composición y organización de la matriz ósea.
9. Describa los tipos celulares del tejido óseo, sus características y su función.
10. El tejido óseo se clasifica en compacto y esponjoso; diferencie estos dos tipos de hueso.
11. El tejido óseo es un tejido vascular. ¿Cómo se organiza en él la circulación?
12. ¿Cuál es la composición y organización del periostio? ¿Cuál es su función? ¿Puede reconocerlo en el microscopio óptico?
13. Describa la estructura del *sistema Haversiano* (osteona). ¿Puede reconocer sus componentes en el microscopio óptico?
14. ¿Qué son las *laminillas intersticiales* y cómo se relacionan con la organización y remodelación del tejido?
15. Describa la función de las células *osteoprogenitoras*.
16. Observe en el microscopio cortes de tejido óseo y dibújelos. Reconozca en estos cortes la organización histológica y las características de los componentes del tejido óseo y cartilaginoso que describió en los puntos anteriores.
17. Describa la formación del tejido óseo y distinga los procesos de osificación. La figura 2 muestra un esquema de la osificación endocondral, elabore un texto que explique este proceso.
18. Haga un dibujo o esquema general de la arquitectura ósea adulta compacta nombrando sus componentes.

**FIGURA 2:** OSIFICACIÓN ENDOCONDRAL (Page-McCaw, A.; Ewald, A.; Werb, Z. (2007) “Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling” *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 8, 221-233)



**CUADRO 1:** TEJIDO CARTILAGINOSO

	<b>Cartílago hialino</b>	<b>Cartílago elástico</b>	<b>Cartílago fibroso</b>
<b>Componentes de la Matriz</b>			
<b>Células y organización histológica</b>			

<b>Propiedades funcionales</b>			
<b>Ejemplos y localización</b>			
<b>Descripción (visto al microscopio óptico)</b>			
<b>Dibujo</b>			

## BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, Bray, Hopkin y col. "Introducción a la Biología Celular", 2° edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- Chen, F.; Rousche, K.; Tuan, R. "Technology Insight: adult stem cells in cartilage regeneration and tissue engineering" 2006. Nature Clinical Practice Rheumatology 2, 373-382.
- De Robertis E, Hibb J, Ponzio R, "Biología Celular y Molecular", 2000. Editorial El Ateneo.
- De Robertis EMF (h), Hib J, Ponzio RO. "Biología Celular y Molecular".12ª edición. 2003. El Ateneo. Buenos Aires.
- Eynard, A.; Rovasio, R., Valentich, M. "Histología y Embriología del Ser Humano. Bases Celulares y Moleculares". 4° ed. 2008. Editorial Médica Panamericana.
- Fawcett, D. "Tratado de Histología", 12° edición, 1995. Editorial Interamericana McGraw-Hill.
- Gartner LP, Hiatt JL. "Texto y atlas de Histología". 3ª edición. 2003. Editorial Médica Panamericana.
- Geneser, F. "Histología". 3ª edición. 2000. Ed. Panamericana, Buenos Aires.
- Junqueira L, Carneiro J. "Histología Básica". Texto y Atlas. 5ª edición. 2000. Ed. Masson.
- Lodish, Berk, Matsudaira y col. "Biología Celular y Molecular", 5° edición, 2005. Editorial Médica Panamericana.
- Page-McCaw, A.; Ewald, A.; Werb, Z. "Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling" 2007. Nature Reviews Molecular Cell Biology 8, 221-233
- Ross, M., Kaye, G., Pawlina, W. "Histología, Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular" 4° edición, 2004, Editorial Médica Panamericana.

## TP N° 10 – TEJIDO MUSCULAR. MITOCONDRIAS

TEJIDO MUSCULAR. Embriología. Clasificación. Tejido muscular esquelético, liso y cardíaco: morfología al microscopio óptico y electrónico. Bases estructurales de la contracción muscular. Transmisión del impulso nervioso. Unión mioneural. Histogénesis. MITOCONDRIAS. Morfología. Ultraestructura. Cámara interna y externa. Matriz. Compartimentalización de las enzimas. Funciones mitocondriales. ADN mitocondrial. Tamaño, forma y contenido codificante. Mitorribosomas. Interrelación entre núcleo celular y mitocondrias. Herencia mitocondrial.

### OBJETIVOS

Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:

- Describir y reconocer histológicamente los tres tipos de tejido muscular.
- Describir la organización del sarcómero, miofilamentos y proteínas de fijación.
- Explicar la estimulación nerviosa y el ciclo de contracción muscular.
- Explicar el papel del calcio en la función del músculo estriado.
- Describir la función y estructura de las mitocondrias y su genoma.
- Explicar los fundamentos de la herencia mitocondrial.

1. El músculo es el tejido contráctil del cuerpo que funciona en la producción de movimientos voluntarios e involuntarios. Describa las características y tipos de tejido muscular.
2. Mencione el origen embriológico del tejido muscular.
3. Observe en el microscopio y dibuje cortes de músculo estriado esquelético, estriado cardíaco y liso. En base a sus observaciones, complete el cuadro 1.

CUADRO 1. HISTOLOGÍA DEL TEJIDO MUSCULAR.

Tipo de músculo	Distribución y funciones	Afinidad tintorial	Características diagnósticas	Núcleos			
				Cantidad	Posición	Forma	Cromatina

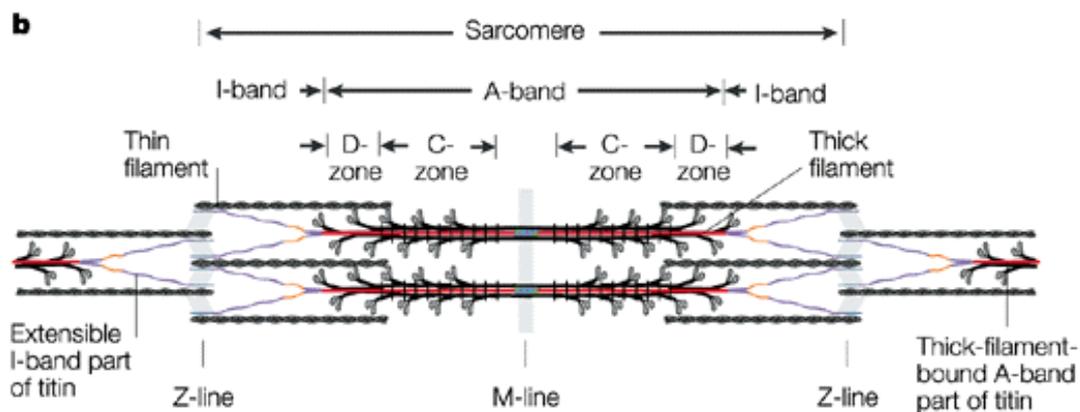
4. Indique los complejos de unión célula-célula que se encuentran en los discos intercalares de las células musculares cardíacas y relaciónelos con su función. Identifique los discos intercalares en el preparado histológico.
5. Defina los siguientes términos: fibra, fibrilla, miofibrilla, miofilamento, sarcoplasma, retículo sarcoplásmico, sarcómero, mioglobina.
6. Explique la organización del tejido conectivo en el músculo estriado.
7. Defina y describa histológica y funcionalmente aponeurosis y tendones.

8. Analice la figura 1.

*En el sarcómero, los miofilamentos se ensamblan en haces paralelos con extremos alineados. El haz de **filamentos gruesos** está ubicado en el centro del sarcómero y aparece como una banda oscura, la **banda A (anisotrópica)**. A ambos lados, los filamentos gruesos se superponen con los filamentos finos que se extienden desde las **líneas Z** en los extremos del sarcómero. La porción de los **filamentos finos** que no está superpuesta con los filamentos gruesos es llamada la **banda clara I, isotrópica**. Una línea Z delgada muy densa divide la banda I. Una región central, menos densa de la banda A, llamada **banda H**, es dividida por una **línea M** oscura. La organización de los filamentos gruesos y finos en haces es mediada por un grupo de proteínas de fijación accesorias que se ubican en el centro del sarcómero en la línea M y dentro de la línea Z. (Tskhovrebova, L.; Trinick, J. 2003, Nature Reviews Molecular Cell Biology 4, 679-689)*

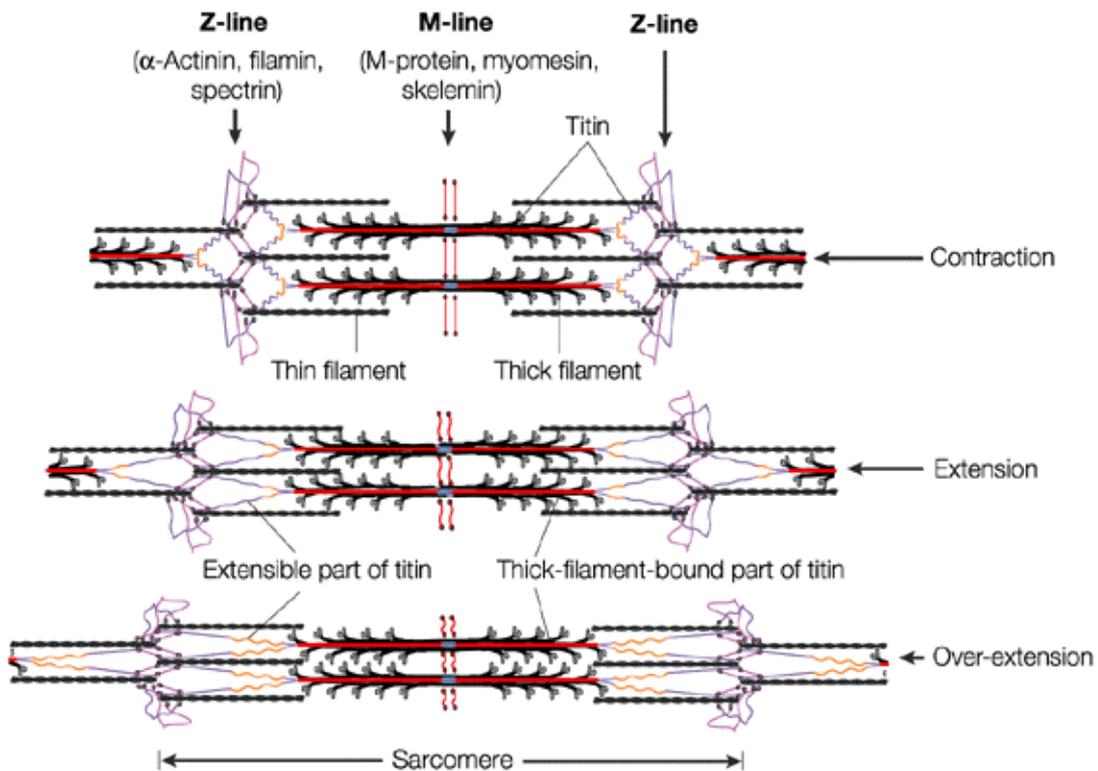
- a. Describa la composición de los filamentos gruesos y finos.
- b. Consulte la bibliografía y defina los términos marcados en negrita en el párrafo de Tskhovrebova y col.
- c. Indique cuáles son y qué función cumplen las proteínas de fijación que se mencionan en el párrafo.

**FIGURA 1** (Tskhovrebova, L.; Trinick, J. (2003) “*Titin: properties and family relationships*” Nature Reviews Molecular Cell Biology 4, 679-689).



9. En relación con la figura 2, explique el ciclo de la contracción. Incluya en su explicación la participación del ATP, el papel del calcio y la troponina.

**FIGURA 2** (Tskhovrebova, L.; Trinick, J. (2003) "*Titin: properties and family relationships*" Nature Reviews Molecular Cell Biology 4, 679-689)



10. Describa la estructura de la placa motora y túbulos T. Explique la liberación y acción de la acetilcolina (ACh) en la propagación del potencial de acción en la fibra muscular y el ciclo de contracción del sarcómero.
11. Las mitocondrias están compuestas por dos membranas. Explique las características particulares de cada una y de los espacios que definen.
12. Las funciones básicas de las mitocondrias se asocian con el metabolismo energético, señalización celular, apoptosis y homeostasis celular. Describa los aspectos fundamentales del metabolismo oxidativo mitocondrial en la producción de ATP.
13. Comparado con el genoma nuclear, el tamaño del genoma mitocondrial es pequeño (16.5 kb) y no contiene intrones. Describa los aspectos generales del genoma mitocondrial. En su descripción, incluya las diferencias con el código genético (Cuadro 2)

**CUADRO 2** COMPARACIÓN ENTRE EL CÓDIGO GENÉTICO UNIVERSAL Y MITOCONDRIAL. (Alberts, Bray, Hopkin y col., 2002. "*Molecular Biology of the Cell*" 4<sup>o</sup>ed., Garland Science)

Codon	"Universal" Code	Mitochondrial Codes			
		Mammals	<i>Drosophila</i>	Yeasts	Plants
UGA	STOP	<i>Trp</i>	<i>Trp</i>	<i>Trp</i>	STOP
AUA	Ile	<i>Met</i>	<i>Met</i>	<i>Met</i>	Ile
CUA	Leu	Leu	Leu	<i>Thr</i>	Leu
AGA } AGG }	Arg	<i>STOP</i>	<i>Ser</i>	Arg	Arg

\*Italics and color shading indicate that the code differs from the "universal" code.

14. Indique el origen de las proteínas mitocondriales y las características de los mitorribosomas.
15. Explique la biogénesis (reproducción) de las mitocondrias.
16. Las mutaciones en genes del ADN mitocondrial muestran un patrón de herencia materna (uniparental). Explique por qué.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Alberts, Bray, Hopkin y col. *“Introducción a la Biología Celular”*, 2º edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- Alberts, Bray, Hopkin y col. *“Molecular Biology of the Cell”*, 4º ed., 2002. Editorial Garland Science.
- De Robertis E, Hibb J, Ponzio R, *“Biología Celular y Molecular”*, 2000. Editorial El Ateneo.
- De Robertis EMF (h), Hib J, Ponzio RO. *“Biología Celular y Molecular”*. 12ª edición. 2003. El Ateneo. Buenos Aires.
- Eynard, A.; Rovasio, R., Valentich, M. *“Histología y Embriología del Ser Humano. Bases Celulares y Moleculares”*. 4º ed. 2008. Editorial Médica Panamericana.
- Fawcett, D. *“Tratado de Histología”*, 12º edición, 1995. Editorial Interamericana McGraw-Hill.
- Gartner LP, Hiatt JL. *“Texto y atlas de Histología”*. 3ª edición. 2003. Editorial Médica Panamericana.
- Geneser, F. *“Histología”*. 3ª edición. 2000. Ed. Panamericana, Buenos Aires.
- Junqueira L, Carneiro J. *“Histología Básica”*. Texto y Atlas. 5ª edición. 2000. Ed. Masson.
- Lodish, Berk, Matsudaira y col. *“Biología Celular y Molecular”*, 5º edición, 2005. Editorial Médica Panamericana.
- Ross, M., Kaye, G., Pawlina, W. *“Histología, Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular”* 4º edición, 2004, Editorial Médica Panamericana.
- Tskhovrebova, L.; Trinick, J. *“Titin: properties and family relationships”* 2003. Nature Reviews Molecular Cell Biology 4, 679-689.

## TP N° 11 – CITOPLASMA. CITOESQUELETO

CITOPLASMA. CITOESQUELETO. Microtúbulos: composición, ultraestructura, propiedades, tipos, funciones. Cilias y flagelos. Centríolos y cinetocoros. Su función. Filamentos intermedios: ultraestructura, propiedades y localización. Tipos y funciones. Filamentos de actina. Localización y propiedades. Cinturón adhesivo, fibras tensoras. Su rol en la migración y en la motilidad celular. Proteínas que se unen a la actina. Citoesqueleto en el tejido muscular.

### OBJETIVOS

Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:

Describir y diferenciar los componentes del citoesqueleto y su organización.

Explicar la relación entre la organización de los microtúbulos y sus funciones.

Describir los procesos vinculados a la motilidad ciliar y flagelar.

Explicar la participación de los microfilamentos y proteínas asociadas en el fenómeno de la contracción muscular.

Describir la organización de los filamentos intermedios y su importancia.

Analizar críticamente la literatura científica.

1. El citoesqueleto es un entramado tridimensional dinámico de proteínas filamentosas poliméricas que proporciona el marco para la organización celular. Está implicado en funciones celulares como:

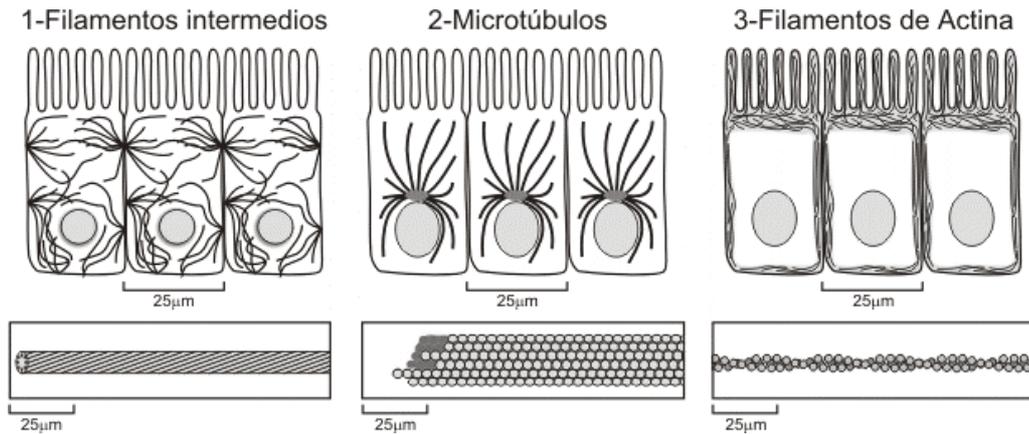
- movimiento y transporte interno de organelas, vesículas y cromosomas,
- organización y soporte estructural que define la forma de la célula,
- organización de la estructura y distribución interna de la célula y definición de la polaridad celular,
- generación e impulso de los movimientos en las células móviles.

Explique cada una de estas funciones y dé ejemplos.

1. Describa los componentes del citoesqueleto: microtúbulos, microfilamentos y filamentos intermedios. Elabore un cuadro que resuma las características estructurales y químicas de cada uno. Incluya: organización, composición química, ejemplos, estructuras celulares asociadas.

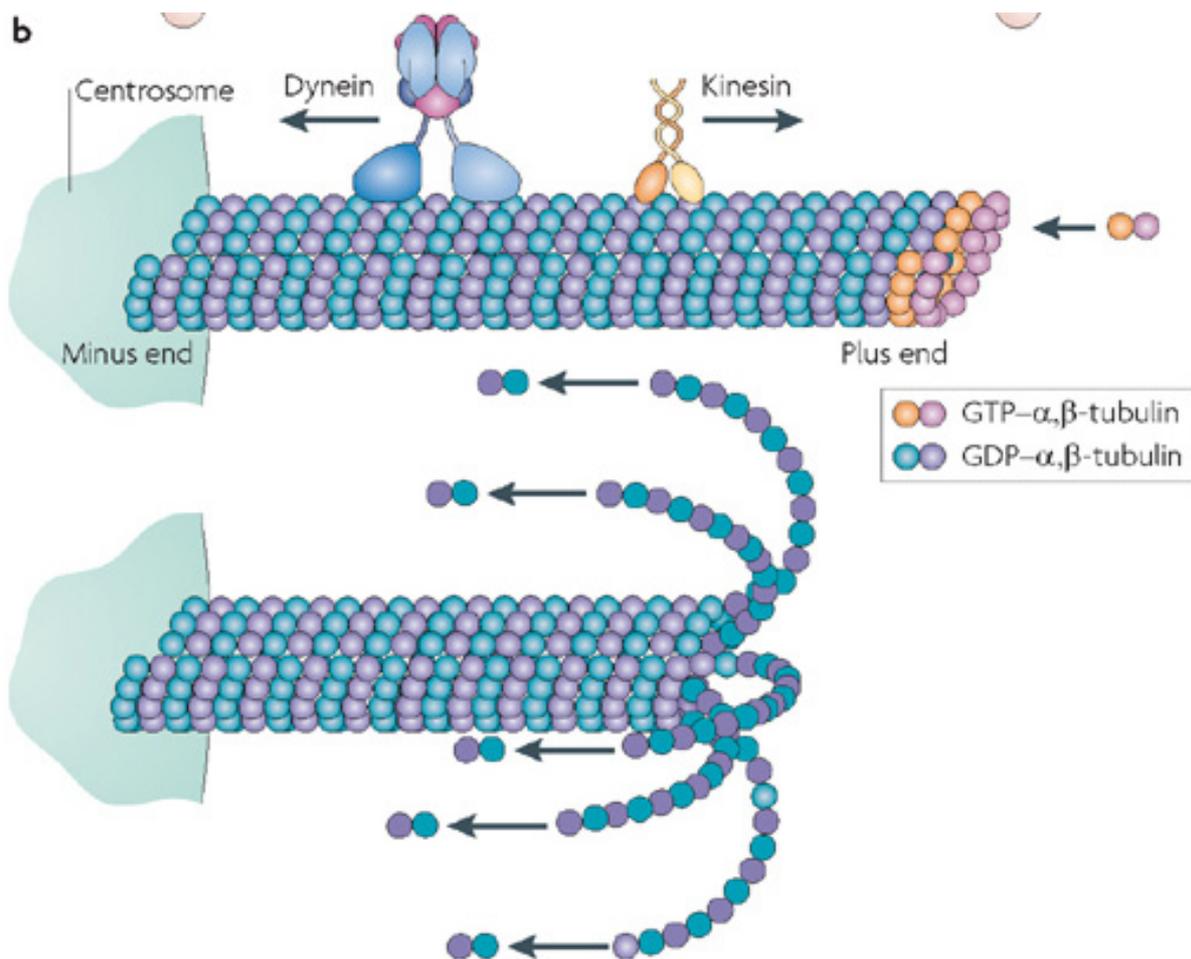
2. Examine la figura 1. ¿Qué características funcionales generales de los elementos que componen el citoesqueleto podría postular? (Revise los conceptos relativos a los complejos de unión intercelular trabajados en el TP N° 3)

**FIGURA 1** (Alberts, y col. “*Biología Molecular de La Célula*”. 4ª edición, 2003, Ediciones Omega)



3. A partir de la figura 2, describa la formación de los microtúbulos a partir de la tubulina. ¿Qué significa “inestabilidad dinámica”? ¿Cuál es la energética de la organización microtubular? ¿Qué son los centros organizadores?

**FIGURA 2** (Li, Gundersen, 2008, “*Nature Reviews Molecular Cell Biology* 9, 860-873)



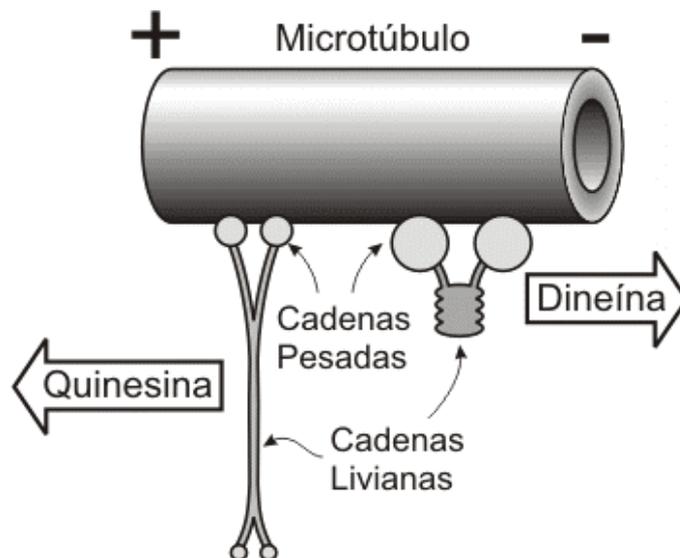
4. Los microtúbulos forman estructuras específicas y se relacionan con funciones celulares particulares.  
 a. Dé ejemplos de cada una.

b. “El paclitaxel (Taxol™) es una droga que se une a los microtúbulos y los hace más estables impidiendo la disociación de las subunidades de tubulina. La Colchicina es un compuesto con el efecto opuesto, haciendo que los microtúbulos se despolimericen. La primera es una droga que se usa en el tratamiento de ciertos cánceres, mientras que la colchicina se usa en el tratamiento de la artritis gotosa o gota, ya que bloquea la migración de glóbulos blancos responsables de la inflamación en esta enfermedad”. (Lewin, Cassimeris, Lingappa, Plopper. “Cells” 2007, Jones and Bartlett)

Fundamente la utilidad de estas drogas en relación a qué funciones de los microtúbulos se ven interrumpidas por su uso.

5. ¿Cuál es la función de las proteínas motoras? Describa cada una. ¿Cómo se establece la direccionalidad al transporte por los microtúbulos? Explique la figura 3 en un texto.

**FIGURA 3** (Alberts, y col. “Biología Molecular de La Célula”. 4ª edición, 2003, Ediciones Omega)

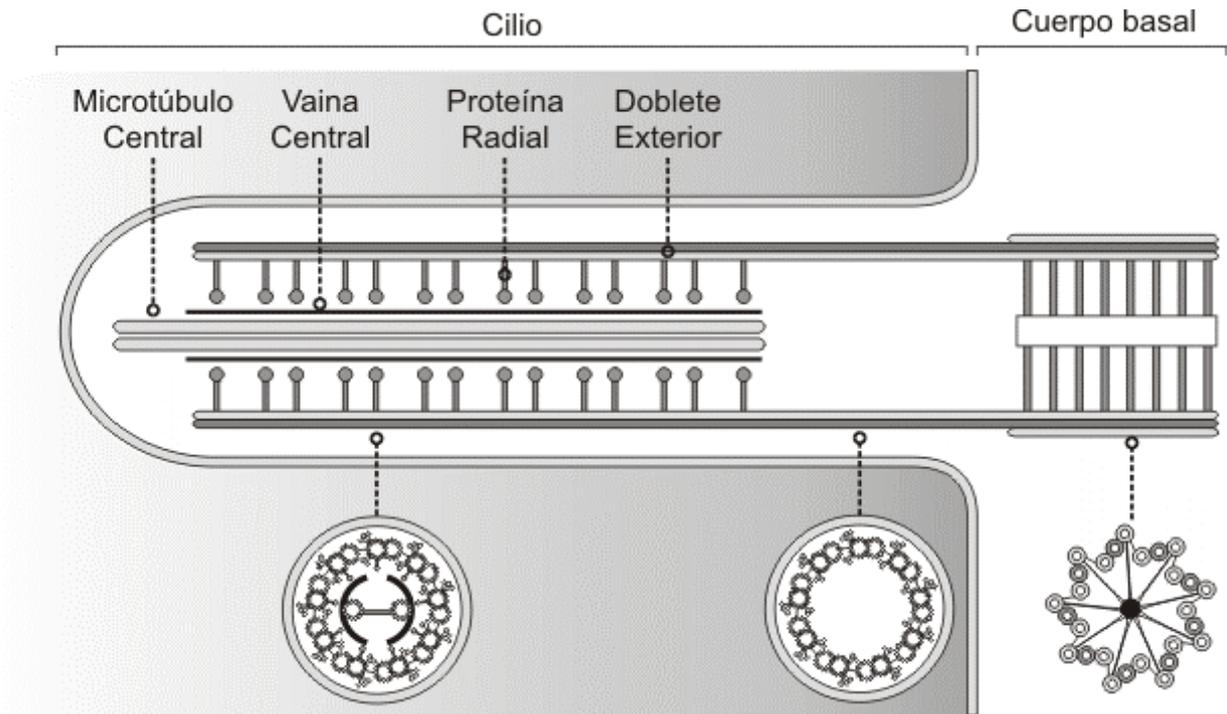


6. Diferencie los siguientes términos: centrosoma, centro organizador, centriolo, cinetosoma, cuerpos basales.

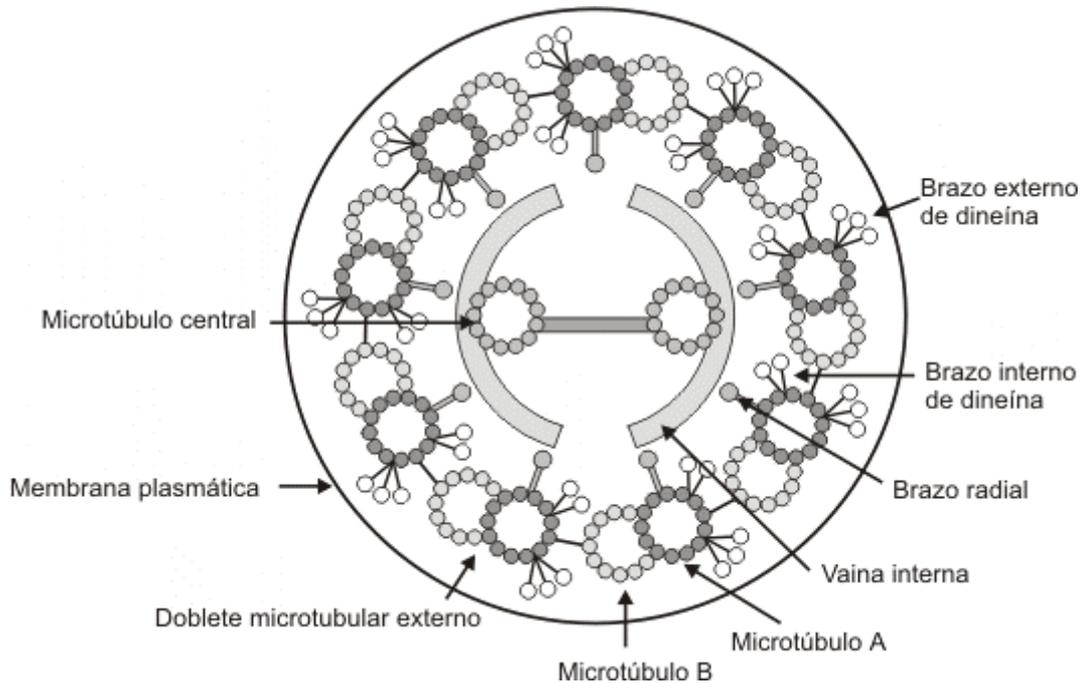
7. Explique la organización y la replicación de los centriolos.

8. Los cilios y flagelos tienen una estructura altamente organizada llamada axonema. Observe las figuras 4 y 5. Describa los componentes del aparato ciliar: cilio y cuerpo basal.

**FIGURA 4** (Alberts, y col. “*Biología Molecular de La Célula*”. 4ª edición, 2003, Ediciones Omega)



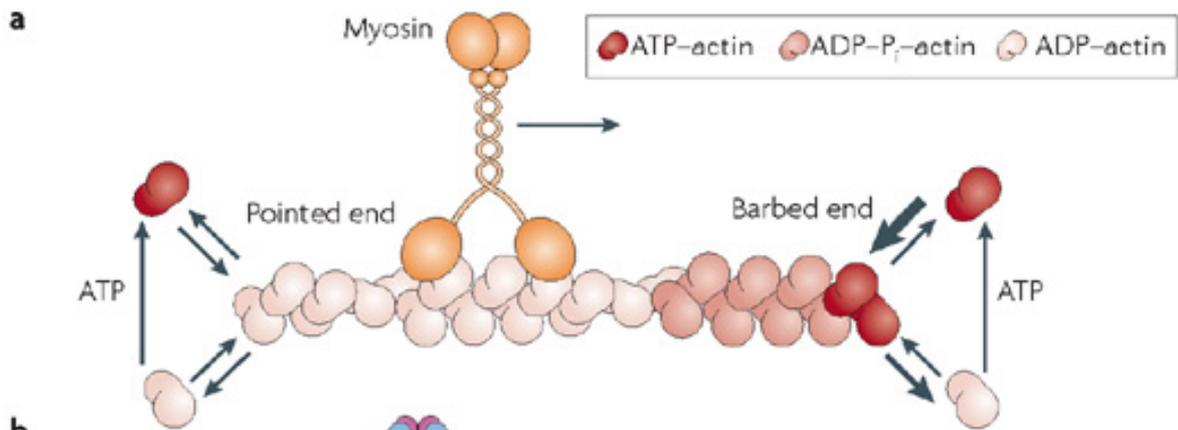
**FIGURA 5** (Alberts, y col. “*Biología Molecular de La Célula*”. 4ª edición, 2003, Ediciones Omega)



9. ¿Cómo se produce el movimiento ciliar?

10. Los microfilamentos pueden ensamblarse para dar lugar a diversas estructuras, muchas asociadas a la membrana plasmática. En base a la figura 6, describa la estructura y formación de los polímeros de actina. Explique la importancia de las proteínas fijadoras de actina.

**FIGURA 6** (Li, Gundersen, 2008, "Nature Reviews Molecular Cell Biology 9, 860-873)



11. Revise el TP N° 10. ¿Qué función tiene la actina en la contracción muscular? ¿Cuáles son los mecanismos por los cuales las proteínas que unen actina participan en la contracción de los músculos liso y esquelético?

12. Enumere las características de los filamentos intermedios. Describa ejemplos de algunos de ellos (incluya en su descripción las proteínas de la lámina nuclear, ver TP N° 4). Indique la importancia de la *desmina* en la contracción muscular.

13. Explique la importancia diagnóstica de la identificación de citoqueratinas a partir de la lectura del siguiente artículo: Aquino PCG, Jurado SCF. "Citoqueratinas en dermatología". *Dermatol Rev Mex* 2008;52(6):254-62.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, Bray, Hopkin y col. "Introducción a la Biología Celular", 2° edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- Alberts, Bray, Hopkin y col. "Molecular Biology of the Cell", 4° ed., 2002. Editorial Garland Science.
- Alberts, Bray, Hopkin y col. "Molecular Biology of the Cell", 5° ed., 2007. Editorial Garland Science.
- Alberts RW, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. "Biología Molecular de La Célula". 4ª edición. 2003. Ediciones Omega. Barcelona.
- Aquino PCG, Jurado SCF. Citoqueratinas en dermatología. *Dermatol Rev Mex* 2008;52(6):254-62.
- De Robertis E, Hibb J, Ponzio R, "Biología Celular y Molecular", 2000. Editorial El Ateneo.
- De Robertis EMF (h), Hib J, Ponzio RO. "Biología Celular y Molecular". 12ª edición. 2003. El Ateneo. Buenos Aires.
- Eynard, A.; Rovasio, R., Valentich, M. "Histología y Embriología del Ser Humano. Bases Celulares y Moleculares". 4° ed. 2008. Editorial Médica Panamericana.
- Lewin, B. ; Cassimeris, L.; Lingappa, V. ; Plopper, G. "Cells" 2007. Editorial Jones and Bartlett.
- Li, R.; Gundersen, G. "Beyond polymer polarity: how the cytoskeleton builds a polarized cell" 2008. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 9, 860-873.
- Lodish, Berk, Matsudaira y col. "Biología Celular y Molecular", 5° edición, 2005. Editorial Médica Panamericana.
- Ross, M., Kaye, G., Pawlina, W. "Histología, Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular" 4° edición, 2004, Editorial Médica Panamericana.

## TP N° 12 – TEJIDO NERVIOSO

TEJIDO NERVIOSO. Clasificación. Neuronas y células de la glia. Citoesqueleto neuronal. Biología celular de la neurona y de las células gliales. Morfología al microscopio óptico y electrónico. Tipos. Funciones. Sinapsis: tipos y ultraestructura. Fibras nerviosas: clasificación. Estructura y función de la vaina de mielina. Histogénesis. Sistema nervioso central. Nervios. Terminaciones nerviosas libres y encapsuladas.

### OBJETIVOS

Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:

- Describir la organización y componentes del tejido nervioso.
- Reconocer los aspectos celulares e histológicos del tejido nervioso.
- Describir y explicar la estructura y función de las neuronas.
- Describir y explicar la estructura y función de las células gliales.
- Describir la composición del citoesqueleto neural, sus funciones específicas y su vinculación con algunos procesos patológicos.
- Describir e identificar la organización histológica del sistema nervioso central y periférico.
- Comprender los fenómenos particulares del desarrollo neuronal.
- Analizar críticamente la literatura científica.

1. “El sistema nervioso está formado por una enorme variedad de diferentes tipos celulares, cuya propiedad más destacada es la comunicación, en su sentido más amplio. La modulación de su estructura, las funciones de integración y sus conexiones, así como las moléculas-señales que sintetizan, liberan y receptan, responden a la existencia de células neurales o neuronas, especializadas para cumplir con esos fines, y de células gliales que participan como elementos esenciales de sostén, trofismo y defensa” (Eynard, Rovasio, Valentich, 2008 *"Histología y Embriología del Ser Humano. Bases Celulares y Moleculares"*. 4° ed. Editorial Médica Panamericana.)

- a. Explique cuál es la especialización funcional de la neurona.
- b. Describa la organización básica de una neurona e identifique: soma, pericarion, cuerpos de Nissl, dendritas, axones, botones sinápticos.
- c. Clasifique las neuronas según su estructura.
- d. Describa los principales tipos de células gliales y su función: astrocitos protoplasmáticos, astrocitos fibrosos, oligodendrocitos, microglia, células ependimarias, células de Schwann y células satélite del SNP.

2. “Las células del tejido nervioso exhiben un grado notable de diferenciación regional en su forma externa. Por ejemplo, las dendritas y axones de una neurona particular usualmente tienen morfologías completamente diferentes. Esas diferencias en morfología aparentemente reflejan diferencias regionales en la composición de elementos del citoesqueleto que proveen la base de la arquitectura de la neurona”. (Drake, Lasek, 1984, *J Neurosci*, vol.4, 5: 1173-1186)

“El citoesqueleto neuronal es esencial para establecer la forma de la célula y el **transporte axonal** de vesículas. Los microtúbulos del citoesqueleto neuronal son química y estructuralmente similares a aquellos que se encuentran en todos los tipos celulares. En cuanto a los filamentos intermedios (FI), el sistema nervioso contiene un set inusualmente diverso (ver tabla 8-2) con distribuciones celulares y expresión en el desarrollo distintas. Los Neurofilamentos son los FI encontrados específicamente en las

neuronas. Más allá de su heterogeneidad molecular, todos los FI forman estructuras filamentosas de 8 a 12 nm de diámetro. En la mayoría de las neuronas maduras, particularmente en las neuronas que dan lugar a axones mielínicos largos, los sistemas de filamentos intermedios están compuestos casi exclusivamente por neurofilamentos. En esos axones, los neurofilamentos son el elemento del citoesqueleto más abundante “(Siegel y col. 1999, “*Basic Neurochemistry. Molecular, Cellular and Medical Aspects*” Lippincott Williams and Wilkins)

“Una vez que un filamento del citoesqueleto se ha formado por **nucleación** y se ha **elongado** (elongación) a partir del pool de subunidades, su estabilidad y propiedades mecánicas con frecuencia son alteradas por un grupo de proteínas que se unen a lo largo de los lados del polímero. Diferentes proteínas asociadas a filamentos usan su energía de unión tanto para bajar como para aumentar la energía libre del polímero, y en consecuencia estabilizar o desestabilizar el polímero, respectivamente.

Las proteínas que se unen a los microtúbulos son llamadas colectivamente **proteínas asociadas a microtúbulos** o **MAPs**. Al igual que el taxol (ver TP N° 11), las MAPs pueden estabilizar microtúbulos impidiendo su despolimerización. Un subset de MAPs también puede mediar la interacción de microtúbulos con otros componentes celulares. Este subset es prominente en las neuronas, donde los haces de microtúbulos estabilizados forman el eje central de axones y dendritas que se extienden desde el cuerpo celular”. (Alberts y col. 2002, “*Molecular Biology of the Cell*”, Garland Science). Ver figura 1.

“Cuando las MAPs recubren la pared externa de un microtúbulo, la subunidades de tubulina son incapaces de disociarse. Algunas MAPs, como **Tau** y MAP4 estabilizan los microtúbulos, mientras que otras no.

Dado el efecto de las MAPs en la dinámica de los microtúbulos, su longitud puede ser controlada modulando la unión de MAPs. En la mayoría de los casos, esto se logra por la fosforilación reversible de dominios de la MAP. Las MAPs fosforiladas son incapaces de unirse a microtúbulos, promoviendo así la disgregación de los microtúbulos. La *MAP quinasa*, una enzima que fosforila MAPs, participa en muchas vías de transducción intracelular de señales, lo que indica que las MAPs son blancos para muchas señales extracelulares (ver TP N°7). Las MAPs, especialmente la MAP4, también son fosforiladas por una segunda quinasa, la *quinasa cdc*, quien juega un importante rol en el control de las actividades de varias proteínas durante el ciclo celular (ver TP N°17)”. (Lodish y col. 2000, “*Molecular Cell Biology*”, W H Freeman)

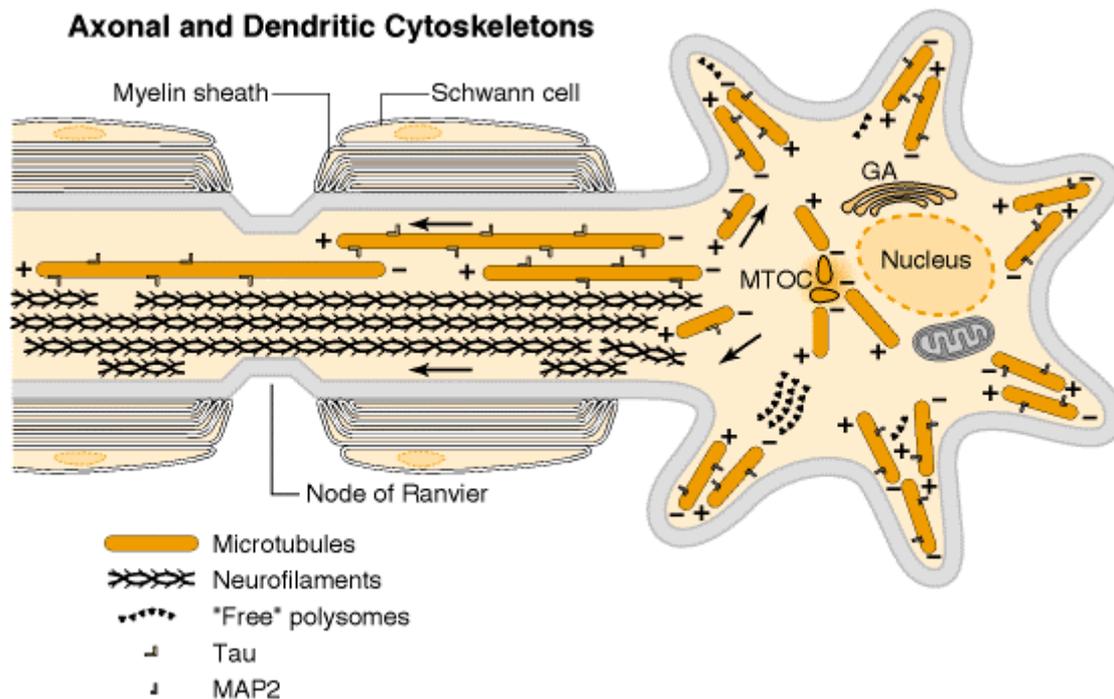
- Describa las características y componentes particulares del citoesqueleto neuronal.
- Explique los términos de los párrafos anteriores que están marcados con **negrita**.
- Explique las funciones específicas del transporte axonal. Distinga transporte anterógrado y retrógrado.
- Indique algún ejemplo de relación entre el citoesqueleto neuronal y enfermedades conocidas.
- Mencione alguna técnica histológica que permita poner de manifiesto los elementos del citoesqueleto de las células del tejido nervioso y su utilidad.

TABLA 1. FILAMENTOS INTERMEDIOS DEL SISTEMA NERVIOSO. “(Siegel y col. 1999, “*Basic Neurochemistry. Molecular, Cellular and Medical Aspects*” Lippincott Williams and Wilkins)

IF type	Subunit	Cell type
Type III	Vimentin	Neural and glial precursors
	GFAP	Astrocytes, some Schwann cells
	Peripherin	Subset of neurons, particularly in PNS, may coassemble with NFH/NFM/NFL
	Desmin	Smooth muscle cells in vasculature
Type IV	NFH	Most neurons, most abundant in large neurons
	NFM	
	NFL	
	$\alpha$ -Internexin	Subset of neurons, particularly parallel fibers in cerebellum, may also coassemble with NFH/NFM/NFL
Type IV?	Nestin	Neuroectodermal precursors in developing brain

GFAP, glial fibrillary acidic protein; NFH, NFM and NFL, neurofilaments of high, medium and low molecular weight, respectively.

FIGURA 1. (Siegel y col. 1999, "BasicNeurochemistry. Molecular, Cellular and Medical Aspects" Lippincott Williams and Wilkins)



3. Defina y describa la sinapsis. Explique los mecanismos de comunicación sináptica.
4. Clasifique funcionalmente las neuronas en aferentes, eferentes e interneuronas.
5. Defina el término *fibra nerviosa*.
6. Describa la organización histológica de los nervios periféricos.
7. Describa la arquitectura histológica del tejido del sistema nervioso central.
8. "Los mecanismos por los que las neuronas establecen conexiones sinápticas apropiadas es materia de gran interés. Los primeros estadios de este proceso implican la elongación y dirección de la **neurita**. A medida que el extremo creciente del cono de crecimiento avanza a través del sustrato, debe interpretar señales extracelulares que guíen la neurita en la dirección correcta. Los **conos de crecimiento** reciben señales atractivas y repulsivas y responden a éstas desestabilizando o reorganizando selectivamente el citoesqueleto para permitir el crecimiento direccionado. Los conos de crecimiento pueden ser básicamente divididos en tres dominios: **filopodios**, **lamelipodios** y el cuerpo del cono de crecimiento propiamente dicho." (Siegel y col. 1999, "BasicNeurochemistry. Molecular, Cellular and Medical Aspects" Lippincott Williams and Wilkins)
  - a. Describa brevemente la histogénesis del tejido nervioso.
  - b. Explique los términos marcados con **negrita** en el texto.
  - c. En relación a las señales que guían el crecimiento de la neurita, repase las interacciones célula matriz que estudió en el TP N° 6.
  - d. Lea el siguiente artículo: García, T. y Jay, D. Fosforilación de tau y enfermedad de Alzheimer. Gaceta Médica de México. Vol. 140. # 3. 2004. Pp. 329-334, e infiera sobre la importancia de conocer la conformación normal de las proteínas del citoesqueleto en el tejido nervioso.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, Bray, Hopkin y col. *“Introducción a la Biología Celular”*, 2º edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- Alberts, Bray, Hopkin y col. *“Molecular Biology of the Cell”*, 4º ed., 2002. Editorial Garland Science.
- Alberts, Bray, Hopkin y col. *“Molecular Biology of the Cell”*, 5º ed., 2007. Editorial Garland Science.
- Alberts RW, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *“Biología Molecular de La Célula”*. 4ª edición. 2003. Ediciones Omega. Barcelona.
- De Robertis E, Hibb J, Ponzio R, *“Biología Celular y Molecular”*, 2000. Editorial El Ateneo.
- De Robertis EMF (h), Hib J, Ponzio RO. *“Biología Celular y Molecular”*. 12ª edición. 2003. El Ateneo. Buenos Aires.
- Drake, P.; Lasek, R. *“Regional differences in the neuronal cytoskeleton”* 1984. The Journal of Neuroscience, vol.4, 5: 1173-1186.
- Eynard, A.; Rovasio, R., Valentich, M. *“Histología y Embriología del Ser Humano. Bases Celulares y Moleculares”*. 4º ed. 2008. Editorial Médica Panamericana.
- Fawcett, D. *“Tratado de Histología”*, 12º edición, 1995. Editorial Interamericana McGraw-Hill.
- Gartner LP, Hiatt JL. *“Texto y atlas de Histología”*. 3ª edición. 2003. Editorial Médica Panamericana.
- Geneser, F. *“Histología”*. 3ª edición. 2000. Ed. Panamericana, Buenos Aires.
- Junqueira L, Carneiro J. *“Histología Básica”*. Texto y Atlas. 5ª edición. 2000. Ed. Masson.
- Lodish, Berk, Matsudaira y col. *“Molecular Cell Biology”*, 5º edición, 2000. Editorial W H Freeman.
- Ross, M., Kaye, G., Pawlina, W. *“Histología, Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular”* 4º edición, 2004, Editorial Médica Panamericana.
- Siegel, G.; Agranoff, B.; Albers, W.; Fisher, S.; Uhle, M. *“Basic Neurochemistry. Molecular, Cellular and Medical Aspects”* 6º Ed. 1999. Lippincott Williams and Wilkins.

## TP N° 13 – CROMOSOMAS HUMANOS

CROMOSOMAS HUMANOS: Descripción. TÉCNICAS DE CITOGENÉTICA: cariotipo e idiograma. Métodos de bandeo cromosómico. Bandas G, R, Q, C, NOR. Citogenética molecular. TP: mostraciones de metafases humanas. Confección de cariotipos. Anomalías cromosómicas. Variaciones en el número: poliploidía y aneuploidía. Variaciones en la estructura: deleciones, translocaciones, inversiones. Nomenclatura. Consecuencias. Sitios frágiles.

### OBJETIVOS

Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:

- Describir la organización molecular y tipos de cromosomas humanos.
- Caracterizar e identificar el cariotipo humano normal.
- Describir los fundamentos y aplicaciones de las técnicas de diagnóstico citogenético.
- Identificar, describir y conocer ejemplos de anomalías cromosómicas estructurales y numéricas.

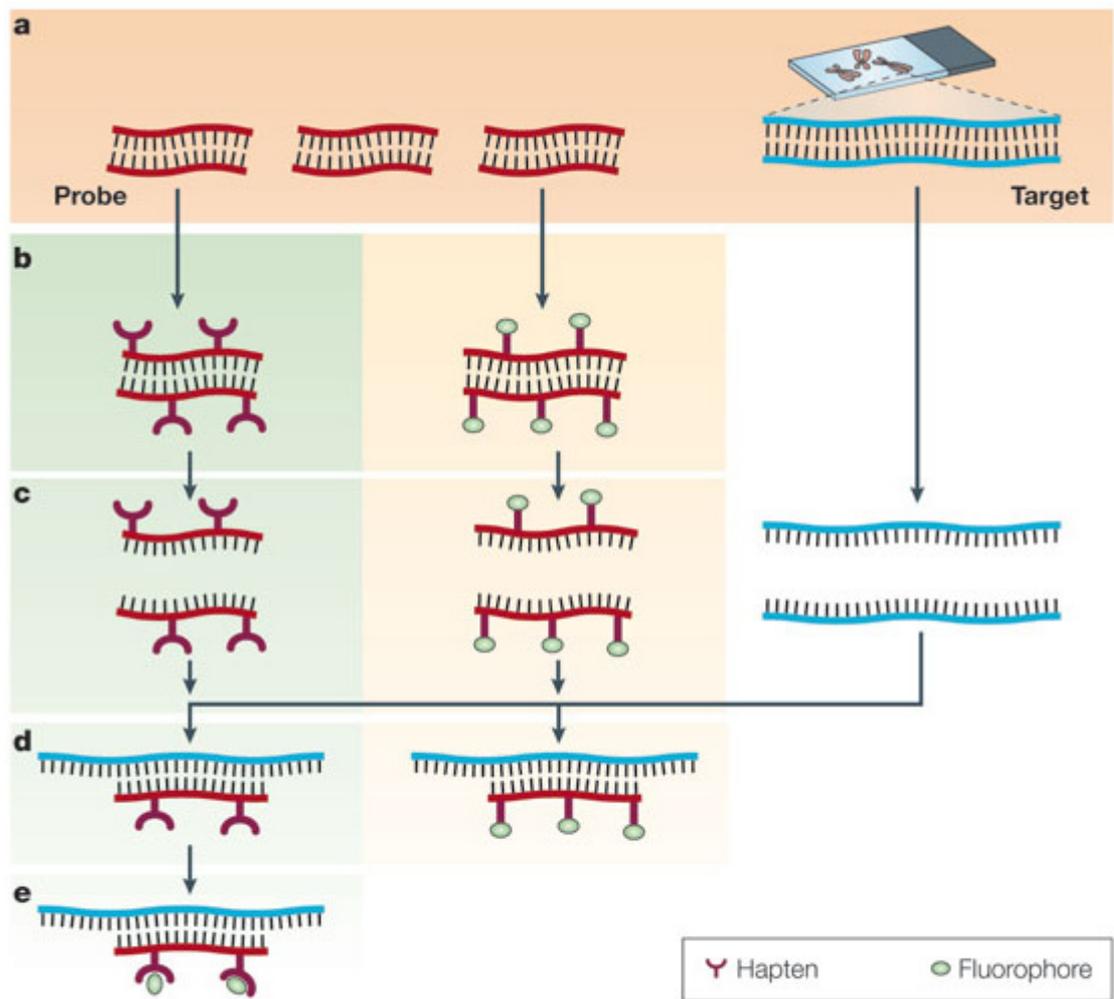
1. Explique los niveles sucesivos de compactación de la cromatina. Describa las características estructurales de los cromosomas y su clasificación. Indique el cariotipo humano normal. Explique los pasos que deben seguirse para elaborar un cariotipo.

2. “Tradicionalmente, el término citogenética se ha referido a estudios de los aspectos celulares de la herencia, especialmente la descripción de la estructura de los cromosomas y la identificación de aberraciones genómicas que causan enfermedades. La citogenética ha sido usada durante años en variadas aplicaciones, desde el diagnóstico clínico a la investigación básica en genómica. El análisis cromosómico convencional, que está basado en el bandeo y fue desarrollado en los 1970s, todavía es ampliamente usado. Aún así, durante los pasados 25 años se han desarrollado técnicas citogenéticas moleculares de resolución cada vez mayor (...)

La primera aplicación de las técnicas moleculares a la citología cromosómica se basó en la observación de que secuencias complementarias de nucleótidos podían alinearse o hibridizar unas con otras para formar complejos más estables que secuencias no complementarias. La citogenética molecular usualmente consiste en la hibridización in situ y fluorescencia (FISH). En esta técnica, una sonda de ADN es hibridizada con blancos citológicos tales como cromosomas metafásicos, núcleos interfásicos y fibras extendidas de cromatina”. (Speicher, M.; Carter, N. 2005, Nat Rev Genet **6**, 782-792.)

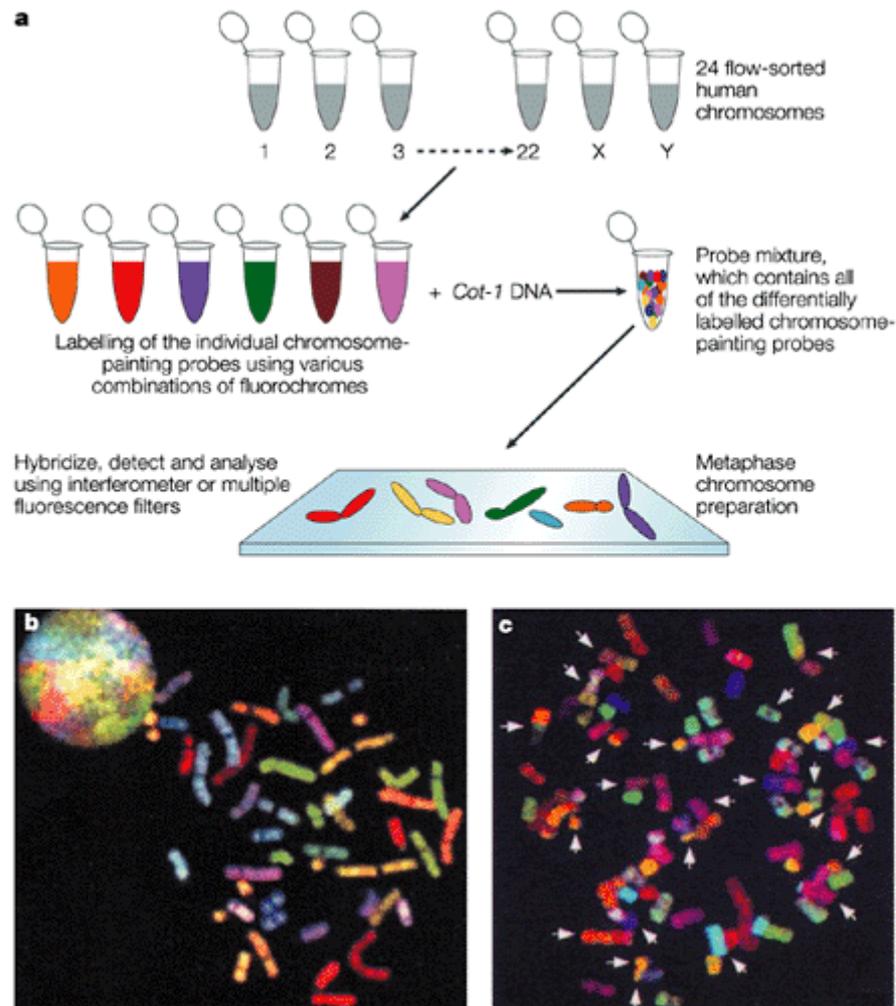
- a. Explique los fundamentos de las técnicas de bandeo cromosómico. Elabore un cuadro comparativo que resuma las principales características de cada uno.
- b. En base a la figura 1, explique los fundamentos de la técnica FISH.
- c. En base a la figura 2, explique los fundamentos de la técnica de cariotipado espectral (SKY)

**FIGURA 1** PRINCIPIOS DE LA HIBRIDIZACIÓN IN SITU Y FLUORESCENCIA (Speicher, M.; Carter, N. 2005, Nat Rev Genet 6, 782-792.)



Copyright © 2005 Nature Publishing Group  
Nature Reviews | Genetics

**FIGURA 2** CARIOTIPO ESPECTRAL Y FISH MULTICOLOR. (Trask, 2002, Nat Rev Gen 3, 769-778)



Nature Reviews | Genetics

3. Elabore esquemas representativos de:
  - a. Dos cromátidas hermanas.
  - b. Dos cromosomas homólogos.
  - c. Dos pares de cromosomas homólogos.
  - d. Un núcleo diploide perteneciente a un individuo con  $2n=6$ .
  - e. Un núcleo haploide del individuo anterior.
4. Describa los tipos de variación anormal en número de los cromosomas y sus consecuencias. Describa brevemente los síndromes más comunes.
5. Describa los tipos de anomalías estructurales y las consecuencias en cada caso. Consulte la bibliografía e indique su nomenclatura. Dé ejemplos y descríbalos brevemente.
6. Explique qué son los *sitios frágiles*.
7. Analice la figura 3 e indique la utilidad diagnóstica de las técnicas citogenéticas más comunes que describió en el punto 2.

## EJERCICIOS

1. Si dos cromosomas de una especie tienen la misma longitud y el centrómero se sitúa aproximadamente en el mismo sitio, pero *no* son homólogos, ¿qué es lo que los diferencia?
2. ¿Cuáles de los siguientes individuos tienen un cariotipo aneuploide?
  - a) Una mujer con una traslocación balanceada entre 11q y 22q
  - b) Una mujer con síndrome de Down por trisomía del 21
  - c) Una mujer con una traslocación Robertsoniana entre los cromosomas 13 y 21.
3. Al analizar el cariotipo de un bebé con fenotipo de síndrome de Down, se comprobó que tenía 46 cromosomas. Investigando la familia, se encontró que otro de los hijos de la mujer, un hermano de ésta y dos de sus sobrinos, hijos de dos hermanas, padecían el síndrome de Down.
  - a) ¿Cuántos cromosomas suelen tener los afectados por el síndrome de Down?
  - b) ¿A qué se debe que el bebé tuviera 46 cromosomas?
  - c) ¿Cuál sería la constitución cromosómica de la madre?
4. En una mujer con el cariotipo 47, XXX,
  - a) ¿qué tipos de gametas se formarían y en qué proporciones?
  - b) ¿cuáles son, en teoría, los cariotipos y fenotipos esperados de su prole?
5. En una niña recién nacida con síndrome de Down se encontró que presentaba dos líneas celulares: el 70% de sus células mostraba el cariotipo típico 47, XX +21, y el 30% restante mostraba el cariotipo normal 46,XX
  - a) ¿Cuándo probablemente ocurrió la no disyunción?
  - b) Explique el término no disyunción y sus consecuencias.
6. Elabore un cuadro que resuma las características de las anomalías estructurales. Incluya: translocaciones desbalanceadas y balanceadas (recíprocas y robertsonianas), deleciones, duplicaciones, cromosomas anulares, isocromosomas, cromosomas dicéntricos, inversiones pericéntricas y paracéntricas, inserciones.
7. Se han estudiado los cromosomas de un recién nacido y se encontró que tiene 47 cromosomas. ¿Cuáles son los cariotipos más probables? Justifique su respuesta.
8. Se han estudiado los cromosomas de un recién nacido y se encontró que tiene 45 cromosomas. ¿Cuáles son los cariotipos más probables? Justifique su respuesta.
9. Se encontró que el cariotipo de un feto abortado espontáneamente es 92,XXYY. Si el cigoto resultó de la fusión de dos gametas normales con complemento sexual X e Y respectivamente, ¿cómo resultó este cariotipo?
10. Un feto humano producto de un aborto espontáneo tenía un cariotipo de 45 cromosomas. ¿Cuál es el cariotipo más probable? Si el feto hubiera sobrevivido, ¿qué desorden genético hubiera sufrido?

## BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, Bray, Hopkin y col. *“Introducción a la Biología Celular”*, 2º edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- Alberts, Bruce, Watson y col. *“Molecular Biology of the cell”*, 2º edición, 1989. Editorial Garland Publishing.
- Brown, T. A. *“Genomes”*, 3º ed. 2003. Garland Science.
- Collins, F; Gelehrter, T; Ginsburg, D. *“Principles of Medical Genetics”*, 2º edición. 1998. Editorial Williams & Wilkins. USA.
- Cox-Sinclair, *“Biología molecular en medicina”*, 1998. Editorial Médica Panamericana.
- Cummings, M; Klug, W. *“Conceptos de Genética”*, 5º edición. 1999. Editorial Prentice Hall, España.

- De Robertis EMF (h), Hib J, Ponzio R. “*Biología Celular y Molecular*”.12ª edición. 2003. El Ateneo. Buenos Aires.
- Jorde L, Carey J Bamshad, M.J. y White R. “*Genética médica*”, 3º Edición. 2005. Ed. Elsevier.
- Luque, J. “*Texto Ilustrado de Biología Molecular e Ingeniería Genética*” 2001. Ediciones Harcourt.
- Nussbaum, McInnes, Willard, “*Thompson & Thompson Genetics in Medicine*”, 6º ed. 2001. W.B. Saunders Co.
- Passarge, E. “*Genética, Texto y atlas*”, 2º edición, 2004. Editorial Médica Panamericana.
- Pierce, B. “*Genética, un enfoque conceptual*”, 2º edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- Solari, A. J. “*Genética humana. Fundamentos y aplicaciones en medicina*”, 3º edición, 2004. Editorial Médica Panamericana.
- Speicher, M.; Carter, N. “*The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology*” 2005. Nature Reviews Genetics 6, 782-792.
- Tamarin, R. “*Principles of Genetics*” 7º edición, 2001, Editorial McGraw-Hill.
- Trask, B. “*Human cytogenetics: 46 chromosomes, 46 years and counting*” 2002. Nature Reviews Genetics 3, 769-778.

**FIGURA 3.** Comparación de técnicas citogenéticas para identificar anomalías cromosómicas. (Speicher, M.; Carter, N. 2005, Nat Rev Genet 6, 782-792.)

Technique	Detection							
	Polyploidy	Aneuploidy	Reciprocal translocation	Unbalanced translocation	Amplification (DM or HSR)	Amplification (distributed insertions)	Heterogeneity (cell-to-cell variability)	LOH
Banding	+	+	+	+	+	-	+	-
M-FISH/SKY	+	+	+	+	+	+	+	-
(Array) CGH	-	+	-	+	+	+	(+)*	-
SNP-array	-	+	-	+	+	+	(+)*	+
Digital karyotyping	-	+	-	+	+	+	-	+
Interphase†	+	+	+	+	+	+	+	-

DM: Double Minute; HSR: Homologous Recombination Site; LOH: Loss of Heterozygosity. \* indicates detection of both paternal and maternal alleles.

Copyright © 2005 Nature Publishing Group  
**Nature Reviews | Genetics**

## TP N° 14 – GENEALOGÍA. ANOMALÍAS MONOGÉNICAS

GENEALOGÍA: confección, importancia. Patrones genealógicos. Leyes de Mendel. ANOMALÍAS MONOGÉNICAS. Herencia autosómica dominante. Herencia autosómica recesiva. Cálculo de riesgo. Diagrama de Punnett. La ley de Hardy Weinberg. TP: resolución de problemas.

### OBJETIVOS

Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:

- Calcular el riesgo de ocurrencia de trastornos monogénicos.
- Construir un árbol genealógico o pedigrée.
- Identificar patrones de herencia.
- Calcular las frecuencias genotípicas y alélicas de una población.
- Aplicar la ley de Hardy-Weinberg
- Explicar los mecanismos moleculares que subyacen a la herencia mendeliana.

1. Repase los conceptos básicos relativos a la herencia mendeliana (fenotipo, genotipo, segregación, segregación independiente, dominante, recesivo, alelo, homocigota, heterocigota, cromosoma, locus, híbrido, polimorfismo).
2. Los rasgos monogénicos se identifican por su patrón de transmisión familiar, para lo cual debe construirse una representación gráfica de la familia llamada árbol genealógico o pedigrée. Indique cuáles son y qué indican los símbolos estándar que se utilizan para construir los pedigrées. Elabore una lista de la terminología básica utilizada y su significado.
3. Defina *herencia autosómica*. Enumere las características que permiten identificar a la herencia autosómica dominante y a la herencia autosómica recesiva. Dé ejemplos de cada una. Explique cómo lleva a cabo el cálculo de riesgo.
4. Existen diversos fenómenos que pueden afectar la manifestación de un rasgo monogénico y, como consecuencia, alterar el patrón de herencia en el pedigrée. Explique esta afirmación. Explique los siguientes términos: expresividad, penetrancia, pleiotropía, manifestación tardía, anticipación, heterogeneidad génica y alélica, mosaicismo. Consulte la bibliografía y cite ejemplos.
5. Explique los mecanismos moleculares de la dominancia y recesividad.

### EJERCICIOS

1. Confeccione un diagrama de Punnett e indique el emparejamiento de un portador afectado (AD) y uno sano. ¿Cuál será el porcentaje sano y cuál el afectado?
2. Confeccione un diagrama de Punnett e indique el emparejamiento de un portador afectado (AR) y uno sano. ¿Cuál será el porcentaje sano y cuál el afectado?
3. Confeccione un diagrama de Punnett e indique la probable descendencia (en porcentaje) de dos heterocigotas (AR): A) sanos y B) afectados.

4. Construya árboles genealógicos que **no puedan** indicar un patrón de herencia:
  - a. Autosómico recesivo
  - b. Autosómico dominante
  - c. Ligado al X recesivo
  - d. Ligado al X dominante.
  
5. Cathy está embarazada por segunda vez. Su primer hijo, Donald, padece fibrosis quística. Cathy tiene dos hermanos, Charles y Colin, y una hermana, Cindy. Colin y Cindy son solteros. Charles está casado con Carolyn y tiene una hija de 2 años, Debbie. Los padres de Cathy son Bob y Betty. La hermana de Betty, Barbara, es la madre del marido de Cathy, Calvin, quien tiene 25 años. No hay historia previa de fibrosis quística en la familia.
  - a. Dibuje el árbol o pedigrée.
  - b. ¿Cuál es el patrón de herencia de la fibrosis quística, y cuál es el riesgo de padecerla para el segundo hijo de Carina?
  - c. ¿Cuáles individuos en este pedigrée son portadores obligados?
  
6. David y su abuelo materno Blas padecen hemofilia tipo A. La pareja de David, Diana, es la hija de la tía materna de David. David y Diana tienen un hijo, Eduardo, y dos hijas, Emilia y Elisa, todos ellos sufren también de hemofilia A. También tienen una hija no afectada, Ema.
  - a. Dibuje el pedigrée.
  - b. ¿Por qué Emilia y Elisa están afectadas?
  - c. ¿Cuál es la probabilidad de que un hijo de Elisa sea afectado? ¿Y para una hija?
  - d. ¿Cuál es la probabilidad de que un hijo de Ema sea afectado? ¿Y para una hija?
  
7. Una pareja tiene un hijo con neurofibromatosis tipo 1 (NF1). Ambos progenitores son clínicamente normales y ninguna de sus familias muestra historia previa de la enfermedad.
  - a. ¿Cuál es la explicación más probable para este caso?
  - b. ¿Cuál es el riesgo de recurrencia para otros hijos de esta pareja?
  - c. ¿Cuál es el riesgo de que un hijo del niño afectado sufra también NF1?
  
8. Indique el patrón de herencia más probable para cada una de los pedigrées adjuntos. Fundamente.

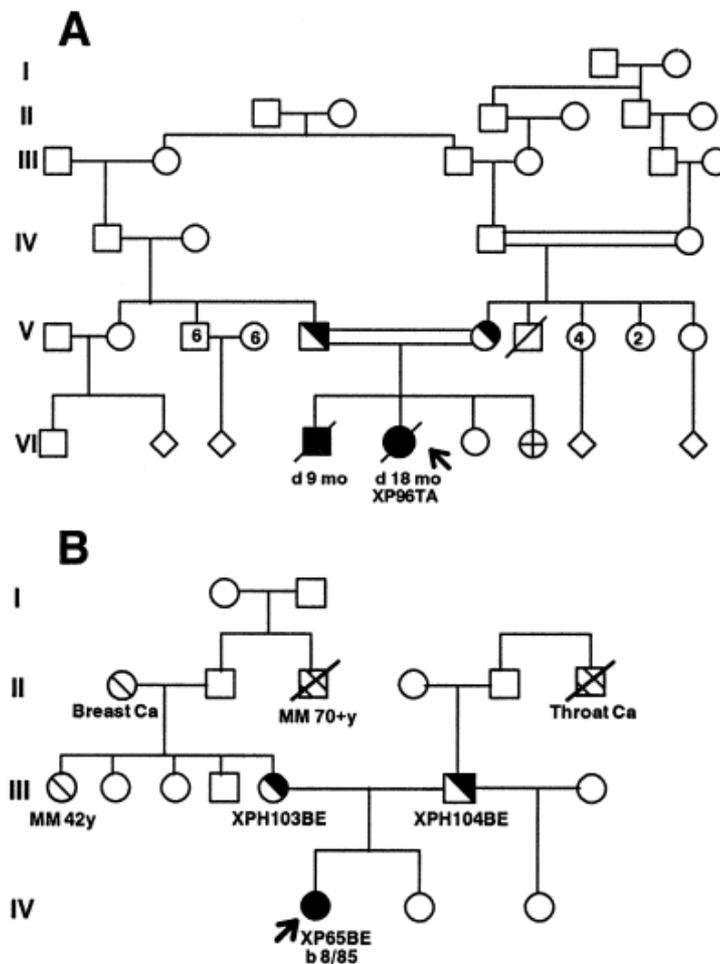
## BIBLIOGRAFÍA

- Adkinson, L.; Brown, M. "Elsevier's Integrated Genetics", 2007. Editorial Mosby.
- Collins, F; Gelehrter, T; Ginsburg, D. "Principles of Medical Genetics", 2º edición. 1998. Editorial Williams & Wilkins. USA.
- Cummings, M; Klug, W. "Conceptos de Genética", 5º edición. 1999. Editorial Prentice Hall, España.
- De Robertis EMF (h), Hib J, Ponzio RO. "Biología Celular y Molecular". 12ª edición 2003. El Ateneo. Buenos Aires.
- Emmert, S.; Slor, H.; Busch, D. y col. "Relationship of Neurologic Degeneration to Genotype in Three Xeroderma Pigmentosum Group G Patient" 2002. Journal of Investigative Dermatology 118, 972-982.
- Hartl, D.; Jones, E. "Genetics: Analysis of Genes and Genomes", 6º ed. 2005. Jones and Bartlett
- Hartwell, "Genetics: from Genes to Genomes", 2001. McGraw-Hill.
- Lewis, R. "Human Genetics: Concepts and Applications" 5º ed. 2003. McGraw-Hill.
- Luque, J. "Texto Ilustrado de Biología Molecular e Ingeniería Genética" 2001. Ediciones Harcourt.
- Ménsua, JL. "Genética: Problemas y Ejercicios Resueltos" 2003. Editorial Pearson Prentice Hall.
- Michaelides, M.; Johnson, S.; Simunovic, M.; y col. "Blue cone monochromatism: a phenotype and genotype assessment with evidence of progressive loss of cone function in older individuals" 2004. Eye 19: 2-10.
- Muller RF, Young ID. "Emery's Genética Médica". 10ª edición. 2001. Marbán Libros. Madrid,
- Nussbaum, R.; McInnes, R.; Willard, H. "Thompson & Thompson Genetics in Medicine", 7º ed. 2007. W.B. Saunders Co.
- Padiath, Q.; Saigoh, K.; Schiffmann, R. y col. "Lamin B1 duplications cause autosomal dominant leukodystrophy" 2006. Nature Genetics - 38, 1114 - 1123
- Passarge, E. "Genética, Texto y altas", 2º edición, 2004. Editorial Médica Panamericana.
- Pierce, B. "Genética, un enfoque conceptual", 2º edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.

- Solari, A. J. “*Genética humana. Fundamentos y aplicaciones en medicina*”, 3° edición, 2004. Editorial Médica Panamericana.
- Stibůrková, B.; Majewski, J. y col. “*Familial juvenile hyperuricaemic nephropathy (FJHN): linkage analysis in 15 families, physical and transcriptional characterisation of the FJHN critical region on chromosome 16p11.2 and the analysis of seven candidate genes*” 2003. *European Journal of Human Genetics* 11, 145–154.
- Strachan, T., Read, A. “*Human Molecular Genetics*”, 3° ed. 2003, Garland Science.
- Sudbery, P. “*Genética Molecular Humana*” 2° edición, 2004. Editorial Pearson Educación.
- Tamarin, R. “*Principles of Genetics*” 7° edición, 2001, Editorial McGraw-Hill.
- Zlotogorski, A.; Marek, D. y col. “*An Autosomal Recessive Form of Monilethrix Is Caused by Mutations in DSG4: Clinical Overlap with Localized Autosomal Recessive Hypotrichosis*” 2006 *Journal of Investigative Dermatology* 126, 1292–1296.

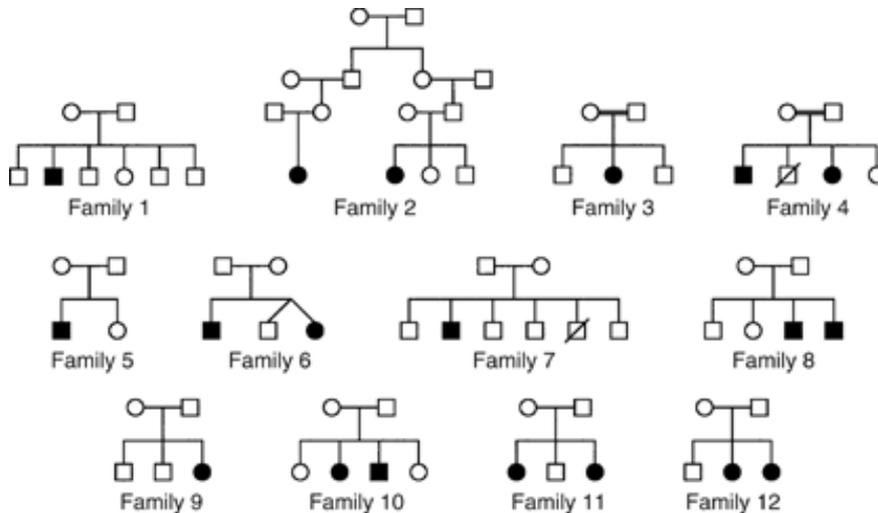
**FIGURA 1:** (Emmert y col. 2002 *J Inv Dermatol* 118, 972-982)

Pedigrées de familias XP (Xeroderma Pigmentosum). (A) Se muestran seis generaciones de una familia consanguínea. El paciente XP96TA (flecha) y su hermano afectado murieron antes de los dos años de edad. Los padres son heterocigotas obligados. (B) Se muestran cuatro generaciones de otra familia XP. El paciente XP65BE (flecha) tiene una hermana no afectada. Los padres son heterocigotas obligados. Cuatro familiares tienen cáncer (MM, melanoma cutáneo, Breast Ca, cáncer de mama, Throat Ca, cáncer de garganta)



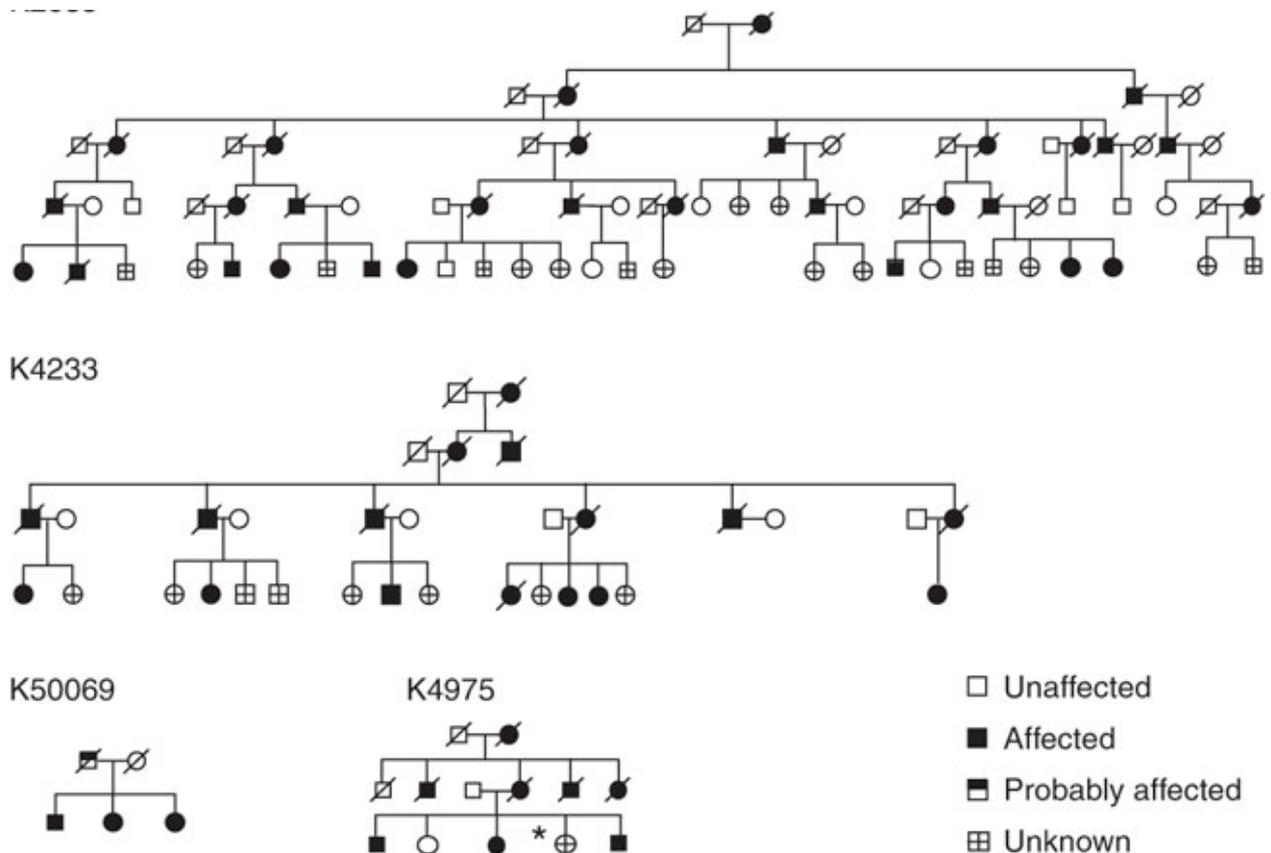
**FIGURA 2:** (Zlotogorski y col 2006 *J Invest Dermatol* 126, 1292–1296)

Monilethrix (Mendelian inheritance in man 158000) es un defecto congénito del pelo que muestra penetrancia completa y expresividad variable. Los individuos afectados tienen pelo normal al nacer, pero en los primeros meses de vida desarrollan pelos frágiles y quebradizos que tienden a cortarse y producen grados variables de alopecia distrófica. La figura muestra los pedigrées de 12 familias judías de Iran, Iraq y Marruecos en las que se registraron rasgos microscópicos de monilethrix y sin evidencia de transmisión vertical.

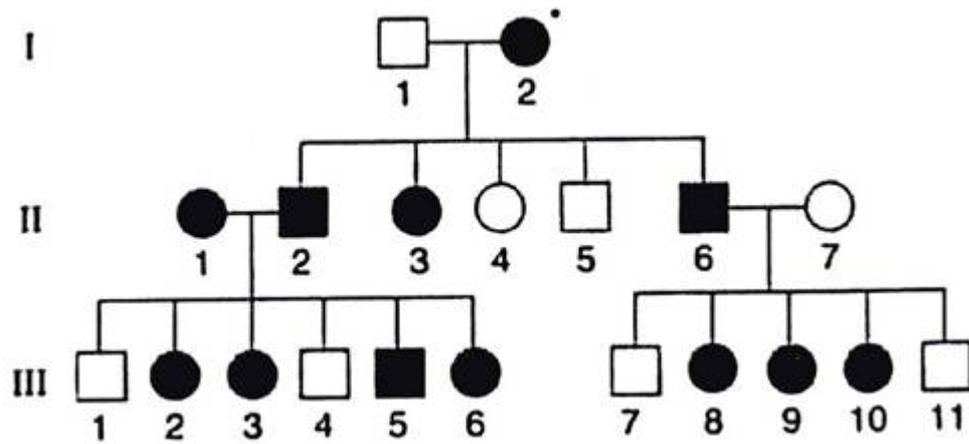


**FIGURA 3** (Padiath y col. ,2006 *Nat Genet* - 38, 1114 – 1123)

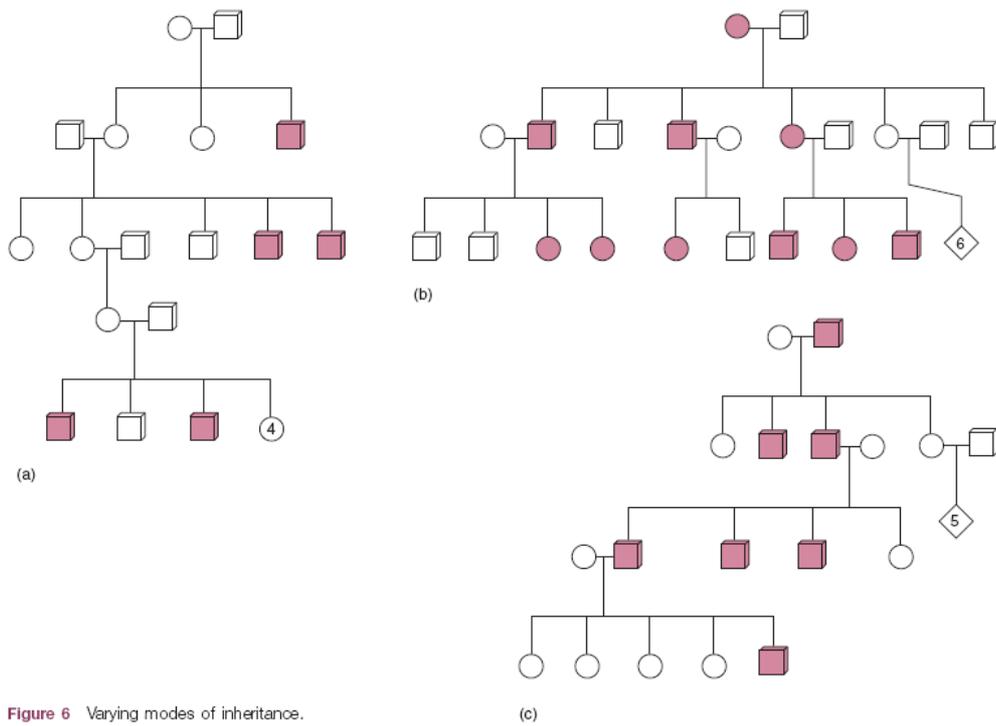
ADLD es una enfermedad neurológica progresiva lenta caracterizada por una dispersión simétrica en la pérdida de mielina en el sistema nervioso central, con un fenotipo similar a la esclerosis múltiple crónica progresiva. En este estudio se identificó una duplicación que causa ADLD. Los individuos afectados portan una copia extra del gen de la proteína de la lámina nuclear, laminina B1, lo que resulta en una dosis génica incrementada en el tejido cerebral de individuos con ADLD.



**FIGURA 4** (<https://instruct.uwo.ca>)



**FIGURA 5** (Tamarin, R. *Principles of Genetics* 7<sup>o</sup> edición, 2001, Editorial McGraw-Hill)  
Pedigrées hipotéticos mostrando distintos patrones de herencia.



**Figure 6** Varying modes of inheritance.

**TP N° 15 – HERENCIA MULTIFACTORIAL.  
 EPIGENÉTICA. OTROS TIPOS DE HERENCIA**

HERENCIA MULTIFACTORIAL. Herencia poligénica y multifactorial. CONCEPTO DE EPIGENÉTICA. Conceptos de genómica y proteómica. OTROS TIPOS DE HERENCIA. Herencia no nuclear, herencia mitocondrial, citoplasmática. Mutaciones dinámicas. Disomía uniparental, imprinting genómico.

**OBJETIVOS**

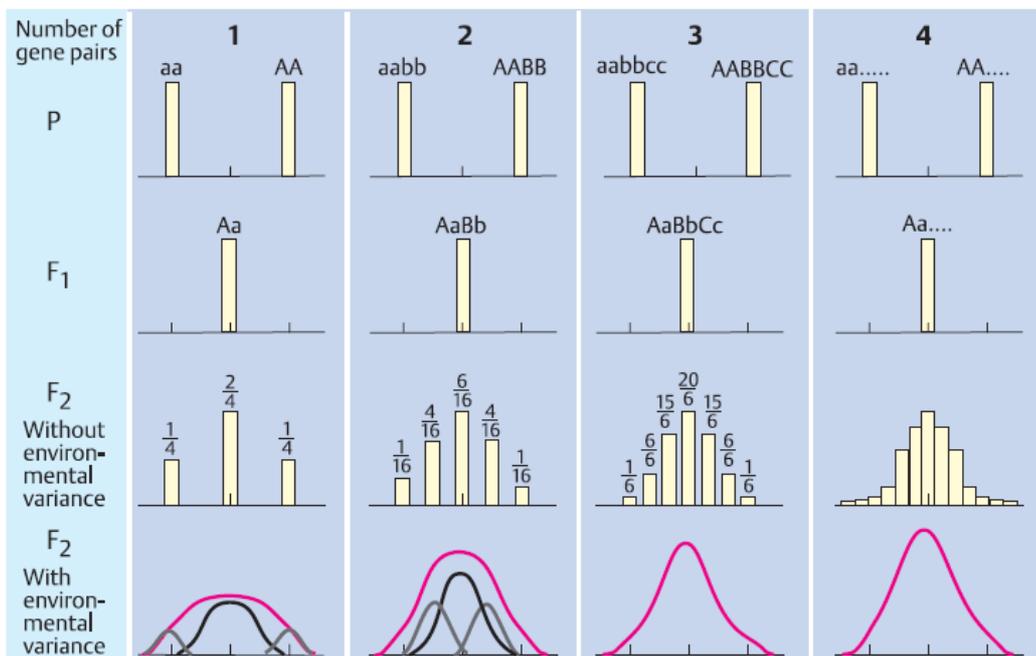
Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:

- Definir herencia poligénica, rasgos cuantitativos, herencia multifactorial.
- Explicar los mecanismos de herencia multifactorial
- Describir el modelo que explica la manifestación de enfermedades multifactoriales.
- Explicar los conceptos de genómica y proteómica.
- Diferenciar los mecanismos de herencia nuclear y citoplasmática.
- Explicar los fenómenos vinculados a la herencia epigenética y sus consecuencias.
- Describir los mecanismos moleculares y genéticos de imprinting y sus consecuencias.
- Comprender y aplicar la ley de Hardy-Weimberg.

Analizar críticamente la literatura científica.

1. “Los fenotipos determinados por múltiples loci con alelos que contribuyen en dosis al fenotipo, se aproximan a una distribución continua. Se dice que este tipo de rasgos exhiben una variación continua, cuantitativa o métrica” (Tamarin, R. “*Principles of Genetics*” 7° edición, 2001, Editorial McGraw-Hill) Explique la figura N°1 y defina “**variación fenotípica continua**”. Dé ejemplos.

**FIGURA 1** (Passarge, E. “*Color Atlas of Genetics*”, 2° ed, 2001. Editorial Thieme)



**B. Distribution of frequency in the F<sub>2</sub> generation with a different number of gene loci**

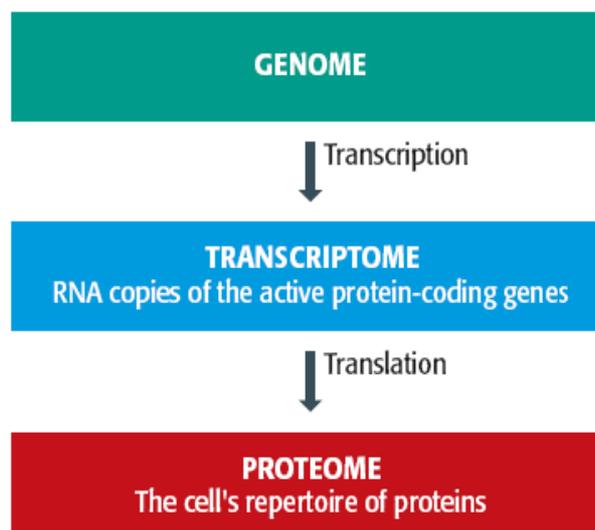
2. Explique qué es la herencia multifactorial, indique sus características y qué la distingue de otros tipos de herencia, estudiados en el TP N° 14. Distinga entre: rasgo poligénico y rasgo multifactorial.
3. La herencia de rasgos cuantitativos o continuos puede dar cuenta de la manifestación de desórdenes o enfermedades multifactoriales *discontinuas*. Explique el modelo del umbral.
4. Explique por qué en las enfermedades **multifactoriales**, los factores de riesgo y, en consecuencia, el umbral de riesgo aumentan con el grado de parentesco. Vea la tabla N° 1.

**TABLA 1** (Turnpenny, P.; Ellard, S. “Emery’s Elements of Medical Genetics”, 13th Ed. 2007, Churchill Livingstone, Elsevier)

Table 9.3 Degrees of relationship	
Relationship	Proportion of genes shared
First degree Parents Siblings Children	{1/2}
Second degree Uncles and aunts Nephews and nieces Grandparents Grandchildren Half-siblings	{1/4}
Third degree First cousins Great-grandparents Great-grandchildren	{1/8}

5. Analice la figura N°2, consulte la bibliografía y defina: genoma, transcriptoma y proteoma.

**FIGURA 2** El genoma, transcriptoma y proteoma. (Brown, T. “Genomes” 3<sup>rd</sup> ed. 2006. Garland Science)

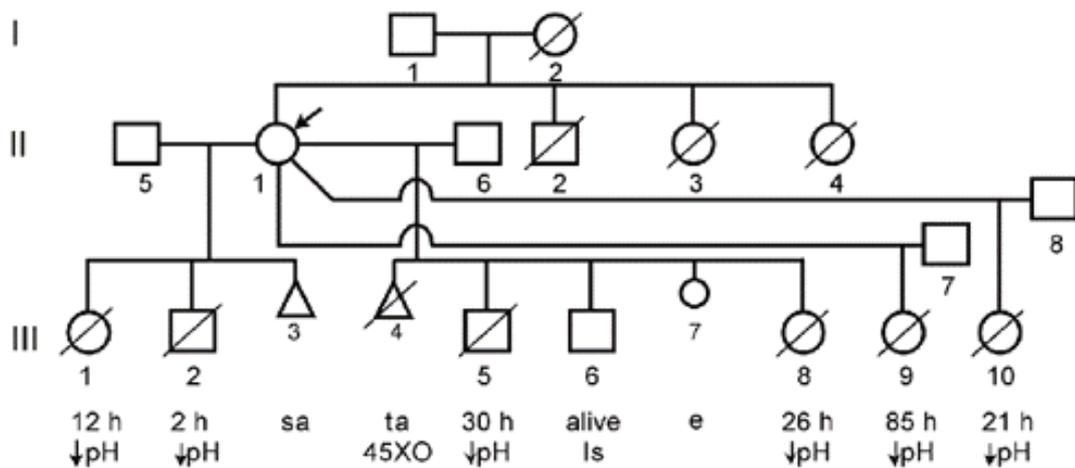


6. La herencia nuclear consiste en la transmisión de genes contenidos en los cromosomas nucleares de padres a hijos. Explique en qué consiste la herencia no nuclear o citoplasmática (vea el TP N° 10, punto 16).

7. Mencione las características de un patrón de herencia mitocondrial. Analice la figura N°3 e identifique las características que enumeró. Repase los conceptos marcados con negrita en la leyenda de la figura.

**FIGURA 3** Herencia maternal de un desorden mitocondrial severo. (McFarland, R.; Clark, K. y col., 2002, Nature Genetics 30, 145 – 146)

Pedigrée familiar: el **propósito** se indica con una flecha. Seis niños murieron de acidosis láctica ( $\downarrow$ pH); se indica el tiempo de muerte luego del nacimiento. Un niño está vivo con Síndrome de Leigh (ls). El individuo afectado había tenido un aborto espontáneo (sa), un aborto terapéutico (ta) llevado a cabo debido a la ausencia de un cromosoma X (**45, X0**), y un embarazo ectópico (e). No hubo exposición intrauterina conocida a drogas o agentes infecciosos.



8. Distinga *homoplasmia* de *heteroplasmia*. ¿Qué relación tienen estos conceptos con la herencia mitocondrial?

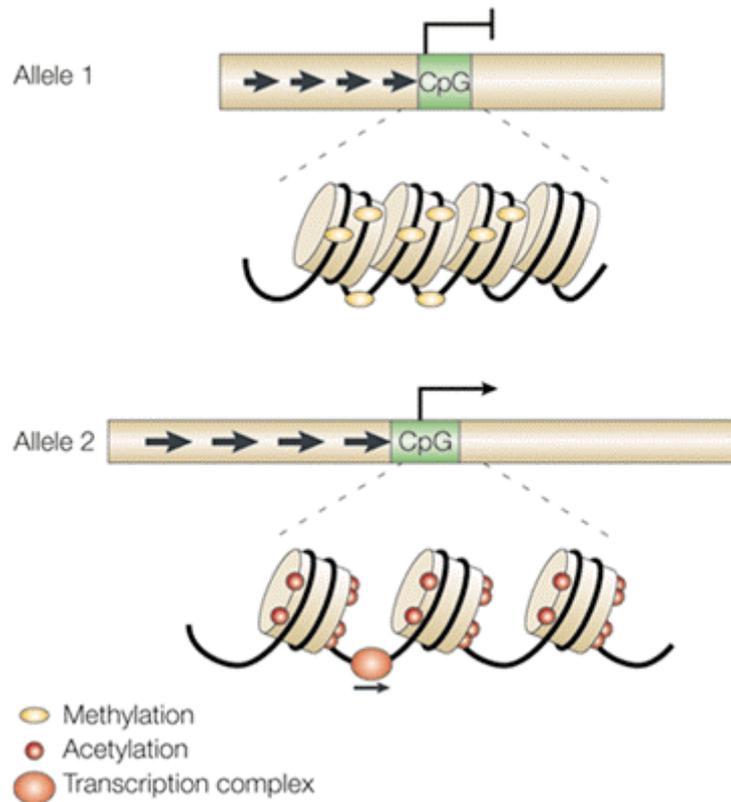
9. Explique el concepto de mutaciones dinámicas y cite un ejemplo.

10. Lea el artículo adjunto “*Epigenética, ciencia de la adaptación biológica heredable*”. Explique qué es la epigenética y cuáles son sus mecanismos moleculares principales.

11. Explique el concepto de imprinting genómico y **en qué difiere** de los patrones clásicos de herencia. Consulte en la guía de TP N° 5, puntos 12 y 13 e indique los mecanismos moleculares que subyacen a los fenómenos de imprinting que se ilustran en la figura 3.

**FIGURA 4** (Reik, W.; Walter, J., 2001, Nature Reviews Genetics 2, 21-32)

La figura muestra un par esquemático de alelos sujetos a imprinting. Se indican las características de los genes con impronta tales como las islas CpG y repeticiones (flechas). La región detallada debajo de los cromosomas destaca los cambios epigenéticos alelo-específicos, tales como condensación nucleosomal por medio de desacetilación y metilación (alelo 1); y descondensación de la cromatina por acetilación y demetilación (alelo 2). La competencia transcripcional del alelo 2 está indicada por la unión de un complejo de transcripción.



12. Consulte la bibliografía y compare los siguientes casos: un individuo que presenta una **disomía uniparental** del cromosoma 15, con un individuo cuyo cariotipo presenta una **delección** en el **brazo largo del cromosoma 15**.

- Explique los términos en negrita.
- Vincule estos casos con el concepto de impronta génica.

13. La ley de Hardy Weinberg es un modelo matemático que permite estimar las frecuencias genotípicas y fenotípicas en una población de una generación a la siguiente, partiendo del conocimiento de las frecuencias actuales. Esta ley requiere que la población en estudio cumpla con ciertas condiciones: que no se vea afectada por migración, que el locus no sea susceptible de selección natural y que el apareamiento con respecto a este locus sea al azar. Si estas condiciones se observan, entonces, para un locus con dos alelos: A y a, existen tres genotipos posibles, cuyas frecuencias se pueden calcular según:

	A	a	
A	AA ( $p^2$ )	Aa ( $pq$ )	$AA = p^2$ $Aa = 2pq$ $aa = q^2$
a	Aa ( $pq$ )	aa ( $q^2$ )	

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

(AA   Aa   aa)

- a. En cierta población africana que cumple con las condiciones de la ley de H-W, la frecuencia de individuos con anemia falciforme es 0,09. ¿Cuál es la frecuencia de portadores?
- b. En una población que cumple con las condiciones de H-W, la frecuencia de individuos con fenotipo dominante para una enfermedad autosómica recesiva, es 0,17. Calcule la frecuencia de heterocigotos y de enfermos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adkinson, L.; Brown, M. “Elsevier’s Integrated Genetics”, 2007. Editorial Mosby.
- Brown, T. “Genomes” 3<sup>rd</sup> ed. 2006. Garland Science.
- Collins, F; Gelehrter, T; Ginsburg, D. “Principles of Medical Genetics”, 2<sup>o</sup> edición. 1998. Editorial Williams & Wilkins. USA.
- Cummings, M; Klug, W. “Conceptos de Genética”, 5<sup>o</sup> edición. 1999. Editorial Prentice Hall, España.
- De Robertis EMF (h), Hib J, Ponzio RO. “Biología Celular y Molecular”.12<sup>a</sup> edición. 2003. El Ateneo. Buenos Aires.
- Kaminker, P. “Epigenética, ciencia de la adaptación biológica heredable” 2007. Arch Argent Pediatr ; 105(6):529-531.
- Lewis, R. “Human Genetics: Concepts and Applications” 7<sup>o</sup> ed., 2007. McGraw-Hill.
- Luque, J. “Texto Ilustrado de Biología Molecular e Ingeniería Genética” 2001. Ediciones Harcourt.
- McFarland, R.; Clark, K. y col. “Multiple neonatal deaths due to a homoplasmic mitochondrial DNA mutation” 2002. Nature Genetics 30, 145 – 146.
- Muller RF, Young ID. “Emery’s Genética Médica”. 10<sup>a</sup> edición. 2001. Marbán Libros. Madrid,
- Nussbaum, R.; McInnes, R.; Willard, H. “Thompson & Thompson Genetics in Medicine”, 7<sup>o</sup> ed. 2007. W.B. Saunders Co.
- Passarge, E. “Color Atlas of Genetics”, 2<sup>o</sup> ed, 2001. Editorial Thieme.
- Pierce, B. “Genética, un enfoque conceptual”, 2<sup>o</sup> edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- Reik, W.; Walter, J. “Genomic imprinting: parental influence on the genome” 2001. Nature Reviews Genetics 2, 21-32.
- Solari, A. J. “Genética humana. Fundamentos y aplicaciones en medicina”, 3<sup>o</sup> edición, 2004. Editorial Médica Panamericana.
- Strachan, T., Read, A. “Human Molecular Genetics”, 3<sup>o</sup> ed. 2003, Garland Science.
- Sudbery, P. “Genética Molecular Humana” 2<sup>o</sup> edición, 2004. Editorial Pearson Educación.
- Tamarin, R. “Principles of Genetics” 7<sup>o</sup> edición, 2001, Editorial McGraw-Hill.
- Turnpenney, P.; Ellard, S. “Emery’s Elements of Medical Genetics”, 13th Ed. 2007, Churchill Livingstone, Elsevier.

## TP N° 16 – TECNOLOGÍA GENÉTICA

TECNOLOGÍA GENÉTICA. Secuenciación del ADN y diagnóstico de desórdenes genéticos. Proyecto Genoma Humano. El ADN recombinante y la clonación. Endonucleasas de restricción. PCR. RFLP. STRs. Dactiloscopia del ADN. Farmacogenética/farmacogenómica.

### OBJETIVOS.

Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:

- Explicar las técnicas que permiten el análisis del genoma.
- Describir las herramientas moleculares utilizadas en la tecnología genética.
- Explicar las diversas aplicaciones de esta tecnología.
- Interpretar el patrón de bandas en una corrida electroforética.
- Aplicar los conceptos referidos al análisis del ADN en situaciones particulares.

1. *La naturaleza extensa de la diversidad genética es ilustrada por las sutiles variaciones fenotípicas entre, y dentro de, diferentes grupos étnicos. Los polimorfismos bioquímicos, no fácilmente perceptibles en el fenotipo, también pueden ser detectados en muchas proteínas normales que existen en varias formas en una población. Tales variantes se explican por la existencia de alelos múltiples a nivel de los genes. El primero de esos polimorfismos en ser claramente definido fue el sistema de grupo ABO. Los análisis genéticos moleculares han revelado un grado sorprendentemente elevado de variación genética. Aproximadamente 1 en 200 pb en el genoma humano es polimórfico. Estas variaciones son particularmente frecuentes en regiones no codificantes del genoma e incluyen cambios en un solo par de bases y variaciones en secuencias repetitivas. Un polimorfismo puede cambiar la secuencia de una proteína cuando está ubicado en regiones codificantes y la sustitución cambia el aminoácido especificado por un codón. Los polimorfismos son heredados de acuerdo con las leyes de Mendel, un rasgo que es útil en estudios de ligamiento o en aplicaciones forenses.*

*Los polimorfismos pueden no tener impacto en el fenotipo, o pueden contribuir a la diversidad de la población sin estar asociados a una enfermedad. Alternativamente, pueden contribuir a la susceptibilidad a una enfermedad, o a su expresión. Un alto nivel de diversidad genética aumenta la habilidad de una población de adaptarse a condiciones ambientales cambiantes, y hace disminuir el riesgo de enfermedades recesivas. (Kopp, P y Jameson, L. "Transmission of human genetic disease" en Principles of Molecular Medicine, 1998, Humana Press.)*

- a. Explique el concepto de *polimorfismo*.

2. *En genética, un **marcador** es cualquier diferencia en el ADN, sin importar cómo se detecte, cuyo patrón de transmisión de generación en generación puede ser trazado. Cada individuo que lleva el marcador, también lleva una extensión de cromosoma a cada lado de él, de modo de marcar una región particular del genoma. Un gen mutante, o alguna porción de un gen mutante, puede servir como marcador genético. En el enfoque "clásico" de la genética, es la expresión en el fenotipo (o la falta de expresión) lo que sirve de base para el análisis genético. Por ejemplo, una mutación que dé lugar a semillas rugosas es un marcador genético, que puede ser identificado por su efecto en la forma de la semilla. En el análisis genético moderno, cualquier diferencia en la secuencia de ADN entre dos individuos puede servir como marcador genético. Y aunque tales marcadores genéticos son generalmente inocuos en sí mismos, permiten conocer la posición de genes que causan enfermedades y que su secuencia de ADN sea aislada, identificada y estudiada.*

Los marcadores genéticos que son detectados por análisis directo del ADN son llamados marcadores de ADN. Éstos son importantes en genética debido a que sirven de puntos de referencia en largas moléculas de ADN, tales como las que componen los cromosomas, lo que permite rastrear diferencias entre los individuos. Usando estos marcadores como referentes, los genetistas pueden identificar las posiciones de genes normales, genes mutantes, rupturas en los cromosomas, y otros rasgos importantes en el análisis genético. (Extraído de: Hartl, D.; Jones, E. “Genetics: Analysis of Genes and Genomes”, 6° ed. 2005. Jones and Bartlett).

a. Explique, a partir de la lectura, el concepto de *marcadores genéticos*. Amplíe su definición consultando la bibliografía.

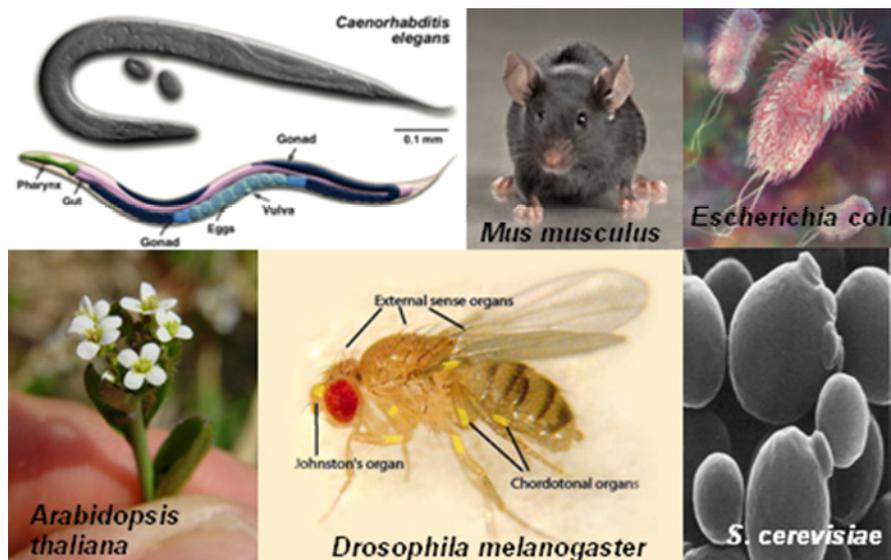
3. Con el avance de numerosas técnicas de biología molecular y genética del desarrollo, se lograron grandes descubrimientos en la caracterización de genomas y en cómo los genes interactúan entre sí en el desarrollo. Para poder aplicar estos conocimientos en los seres humanos, primero se estudiaron “organismos modelos”, entre los que podemos mencionar a *E. coli* (bacteria), *S. cerevisiae* (levadura), *C. elegans* (nematodo), *A. thaliana* (planta), *D. melanogaster* (mosca), *M. musculus* (ratón).

a. Defina organismo modelo.

b. Describa las características necesarias que debe tener un organismo para ser considerado modelo para el estudio genético.

c. Mencione las características específicas de cada uno de los modelos mencionados anteriormente.

d. ¿Por qué es importante y útil conocer los procesos de desarrollo de dichos organismos para comprender y orientar el estudio del desarrollo de otras especies?



4. Existen diferentes métodos que permiten identificar marcadores de ADN, o facilitar el aislamiento de un fragmento particular de ADN de interés.(...) La mayoría de los procedimientos que permiten la separación e identificación pueden ser agrupados dentro de dos categorías:

I. Aquellos que permiten identificar un fragmento de ADN específico presente en un digesto de ADN genómico basándose en el hecho de que secuencias de ADN de hebra simple pueden, bajo ciertas condiciones, formar una molécula bicatenaria con otra secuencia complementaria. Estos procedimientos se basan en la **hibridización de ácidos nucleicos**.

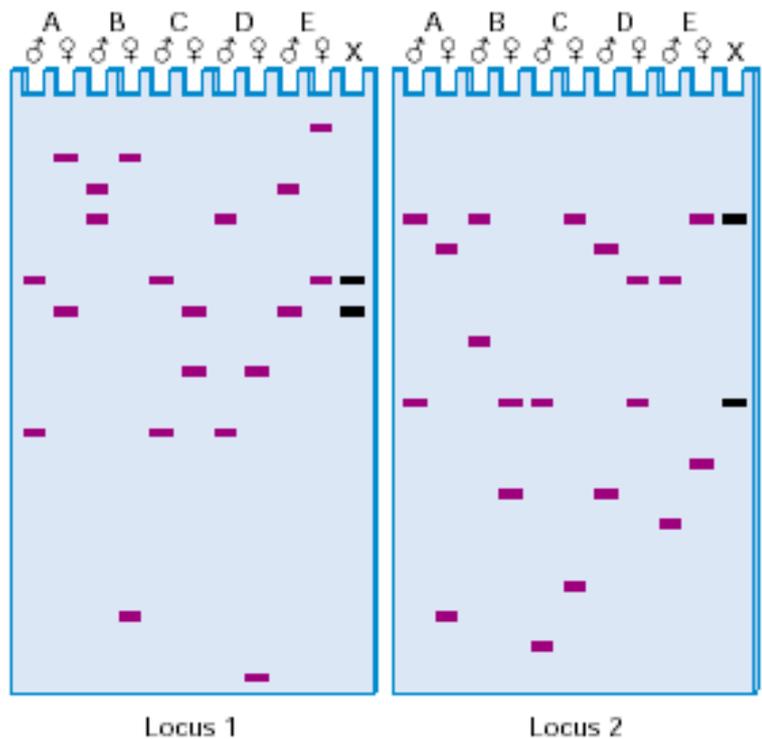
II. Aquellos que requieren previo conocimiento de la secuencia de ADN en los extremos del fragmento de interés para poder, específica y repetidamente, replicar este solo fragmento a partir de un digesto de ADN genómico. Esos procedimientos se basan en la replicación selectiva de ADN (amplificación), por medio de la **Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)**

(Hartl, D.; Jones, E. “Genetics: Analysis of Genes and Genomes”, 6° ed. 2005. Jones and Bartlett)

- a. Consulte su bibliografía: ¿Cómo se obtienen fragmentos de ADN para su estudio? ¿Cómo se separan los fragmentos de ADN genómico para su posterior análisis?
- b. Explique los fundamentos de los principales métodos a los que hace referencia el texto (hibridación y PCR). Distinga entre aquellos procedimientos basados en la hibridación de ácidos nucleicos, y aquellos basados en la amplificación. Elabore un cuadro que resuma sus características.
5. Revise los aspectos fundamentales de la organización del genoma humano. Distinga entre los diferentes tipos de secuencias no codificantes (repetitivas, de copia única, etc.).
6. Entre los distintos tipos de polimorfismos utilizados en el análisis de ADN y sus aplicaciones, se encuentran los siguientes: Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFPLs), Variable Number of Tandem Repeats (VNTRs), Short Tandem Repeats (STRs). En un cuadro comparativo establezca sus diferencias y aplicaciones. Analice el ejemplo que muestra la figura 1.
7. Considere un pedigrée de cáncer de mama familiar, en el cual un fragmento de ADN particular sirve como marcador de una porción de cromosoma que también incluye el gen mutante responsable del riesgo aumentado de cáncer de mama. Construya un pedigrée adecuado e indique el patrón de herencia propio de este caso. ¿Qué procedimiento le podría permitir identificar tal fragmento? ¿Qué importancia tiene la posibilidad de identificar un fragmento como éste?
8. La clonación del ADN permite la producción de múltiples copias de un fragmento de ADN o gen particular. La mayoría de los métodos que permiten clonar fragmentos de ADN comparten algunas características generales. Explíquelas brevemente.
9. ¿Qué es una genoteca? ¿Cómo se identifica en ella un clon portador de un gen de interés?
10. Defina vector y dé ejemplos.
11. El nivel máximo de disección del genoma es la determinación de la secuencia nucleotídica completa de cada cromosoma. Se puede determinar con rapidez la secuencia de nucleótidos de cualquier fragmento de ADN clonado de hasta 800 pb de longitud con una técnica de secuenciación sistemática: el método Sanger o de terminación de la cadena por dideoxi. Explique este método.
12. Busque definiciones de farmacogenética y farmacogenómica.

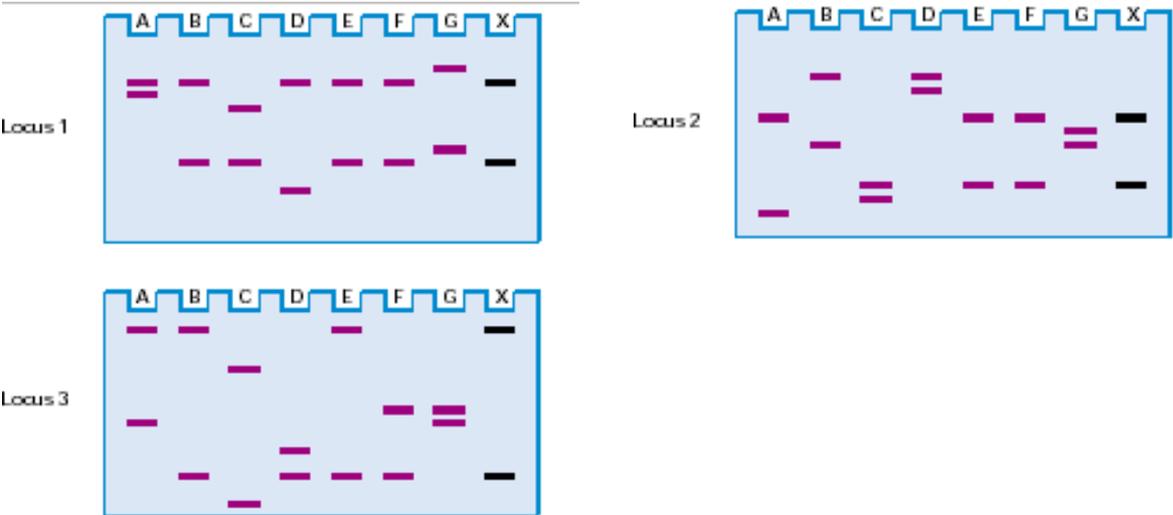
## EJERCICIOS

1. Una víctima de asesinato fue encontrada en avanzado estado de descomposición, por lo que no pudo ser identificada. La policía sospecha que es una de cinco personas que se han informado desaparecidas por sus familiares. Se llevó a cabo un análisis de ADN con tejidos de la víctima (X) y con muestras de las cinco parejas de padres (A a E), usando sondas para dos marcadores de ADN muy polimórficos ubicados en dos cromosomas diferentes (“locus 1” y “locus 2”). El resultado se muestra en el diagrama. (Hartl, “Genetics: Analysis of Genes and Genomes”, Jones and Bartlett)
- a) ¿Cómo interpreta el hecho de que el ADN genómico de cada individuo muestra dos bandas?
- b) ¿Puede Ud. identificar a los padres de la víctima? Explique su razonamiento.

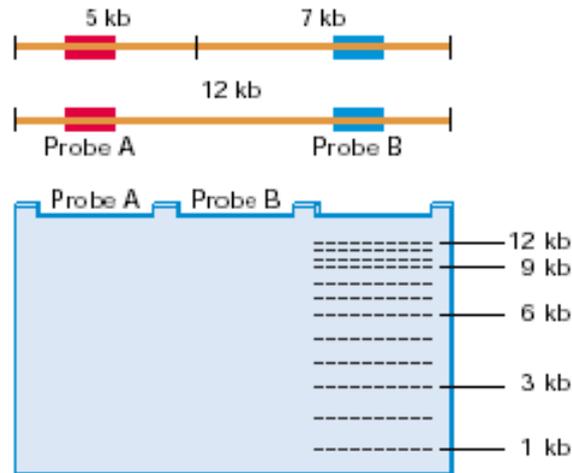


2. Una colilla de cigarrillos encontrada en la escena de un robo presenta suficiente cantidad de células epiteliales bucales adheridas al papel como para permitir que el ADN sea extraído y analizado. La figura muestra los resultados del análisis de tres marcadores (locus 1, 2 y 3) para la evidencia (X) y 7 sospechosos (A a G). (Hartl, "Genetics: Analysis of Genes and Genomes", Jones and Bartlett)

- a) ¿Cuál de los sospechosos puede ser excluido?
- b) ¿Puede Ud. identificar al ladrón? Explique.



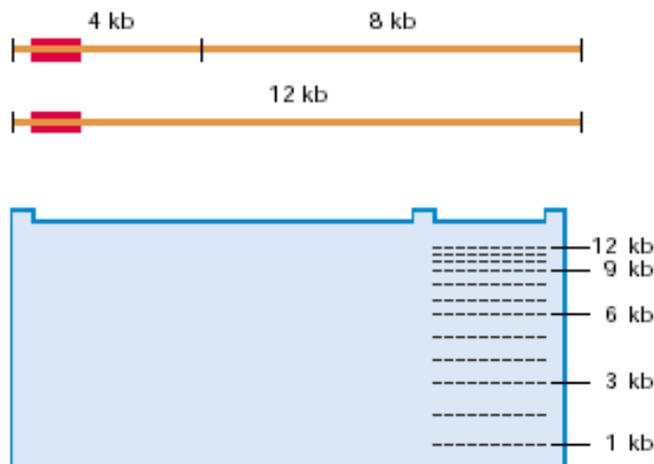
3. El esquema muestra fragmentos de ADN con el sitio de corte para una enzima de restricción y el sitio de hibridación de dos sondas: A y B. Una mezcla de los dos tipos de moléculas fue digerida e hibridada con cada una de las sondas por separado. En el gel que acompaña, indique las bandas que resultarían del uso de cada una de esas sondas (la escala a la derecha indica las posiciones esperadas para fragmentos de 1 a 12 kb). (Hartl, "Genetics: Analysis of Genes and Genomes", Jones and Bartlett)



4. El esquema muestra la posición en que hibridiza una sonda para un análisis de RLFP. (Hartl, "Genetics: Analysis of Genes and Genomes", Jones and Bartlett)

a) Con respecto a este RFLP, ¿cuántos genotipos son posibles?

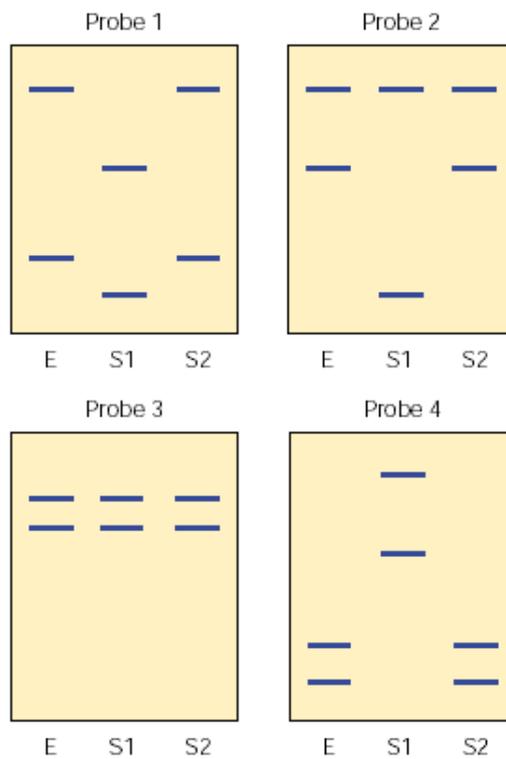
b) En el diagrama del gel, indique los genotipos en la parte superior, y los fenotipos que espera para cada uno.



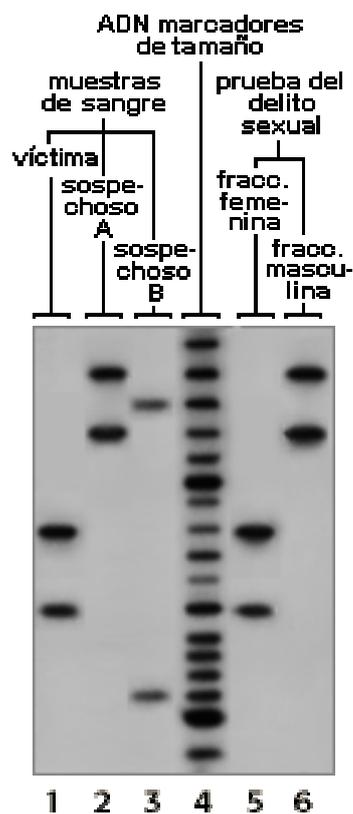
e. En la escena de un crimen, la única evidencia que se encontró del criminal es una pequeña mancha de sangre. Se llevó a cabo el análisis de ADN, usando 4 sondas que reconocen diferentes locus, y se comparó la evidencia (E) con muestras de dos sospechosos (S1 y S2)

a) Basándose en los resultados, ¿puede alguno de los sospechosos ser desvinculado del crimen? ¿Cuál? ¿Por qué? (Cummings, M. "Essentials of Genetics", Prentice Hall)

b) ¿Qué tipo de polimorfismo fue analizado?



7. La figura muestra la parte significativa de la autorradiografía resultante de analizar, con una sonda de locus único, varias muestras de ADN en una investigación de violación. ([http://www.biology.arizona.edu/human\\_bio/activities/blackett/introduction.html](http://www.biology.arizona.edu/human_bio/activities/blackett/introduction.html))

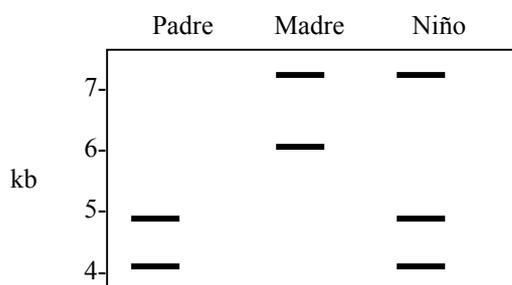


Las muestras de ADN fueron las siguientes:

- (1) muestra conocida de sangre de la víctima
- (2) muestra conocida de sangre del sospechoso A
- (3) muestra conocida de sangre del sospechoso B
- (4) ADN marcadores de tamaño
- (5) fracción femenina de la prueba de ataque sexual
- (6) fracción masculina de la prueba de ataque sexual

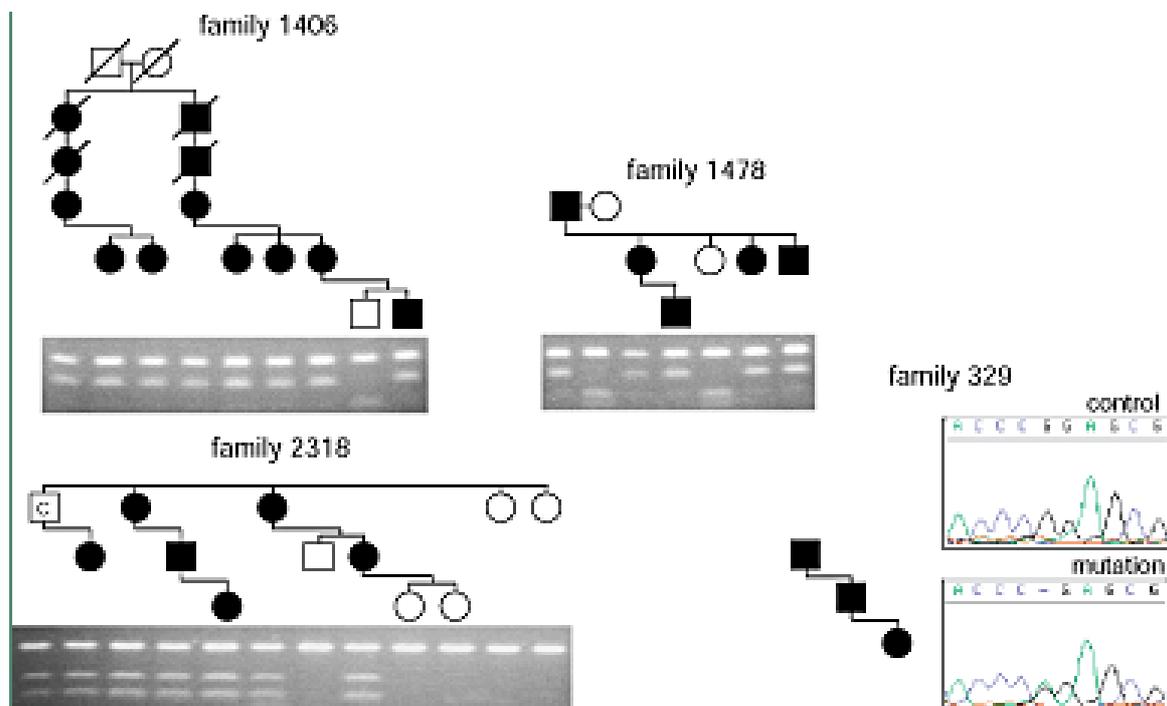
Si fuera Ud. el analista de ADN, ¿cuál sería su conclusión?

6. En una familia con un hijo con síndrome de Down se lleva a cabo un estudio de RFLPs en el cromosoma 21. El polimorfismo estudiado presenta alelos de 7, 6, 5, o 4 kb. El diagrama muestra los resultados del Southern Blot para el niño, su padre y su madre. ¿Podría usted indicar en cuál de los dos progenitores tuvo lugar la no disyunción? ¿Podría indicar en qué estadio de la meiosis? (Collins, Gelehrter, Ginsburg, "Principles of Medical Genetics", 2º ed Williams & Wilkins)



**FIGURA 1**

(White y col., 2000, "Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23" Nature Genetics 26, 345 – 348)



Análisis de la mutación. El cambio (527G→A) del gen FGF23 R176Q encontrado en las familias 1406 y 1478 disrumpe un sitio de corte para AciI, por lo que los primeros fueron diseñados para flanquear la región que contiene la mutación. El análisis de RFLP mostró que la mutación segrega con el haplotipo de

la enfermedad en ambas familias. El producto de PCR control fue digerido en fragmentos de 112 pb, 49 pb y 33 pb, mientras que los alelos mutantes dieron fragmentos de 112 pb y 82 pb, analizados en electroforesis en geles de agarosa. La familia 2318 tiene una mutación R179W (535C→T) que crea un sitio de restricción para BpmI. El análisis de RFLP mostró que el producto de PCR del alelo normal no fue digerido, dejando la banda original de 194pb, mientras que los alelos mutantes fueron cortados resultando fragmentos de 118 pb y 76 pb. La sustitución R179Q (536G→A) en la familia 329 no crea ni destruye un sitio de restricción, pero el cambio que segrega en la familia es detectable por análisis de secuencia

## BIBLIOGRAFÍA

- Collins, F; Gelehrter, T; Ginsburg, D. "*Principles of Medical Genetics*", 2º edición. 1.998. Editorial Williams & Wilkins. USA.
- Cummings, M.; Klug, W. "*Essentials of Genetics*", 5º ed. 2.005. Editorial Prentice Hall.
- Cummings, M; Klug, W. "*Conceptos de Genética*", 5º edición.1.999. Editorial Prentice Hall, España.
- Hartl, D.; Jones, E. "*Genetics: Analysis of Genes and Genomes*", 6º ed. 2005. Jones and Bartlett
- [http://www.biology.arizona.edu/human\\_bio/activities/blackett/introduction.html](http://www.biology.arizona.edu/human_bio/activities/blackett/introduction.html)
- [http://www2.uah.es/biomodel/epb/human\\_bio/problem\\_sets/dna\\_forensics\\_2/07q.html](http://www2.uah.es/biomodel/epb/human_bio/problem_sets/dna_forensics_2/07q.html)
- Jameson, J. L. "*Emery's Elements of Medical Genetics*" 12º ed. 2.004. Churchill Livingstone.
- Jorde L, Carey J Bamshad, M.J. y White R.(2005) *Genética médica*, 3º Edición. Ed. Elsevier. pp. 363.
- Kopp, P y Jameson, L. "*Transmission of human genetic disease*" en *Principles of Molecular Medicine*, 1998, Humana Press.
- Luque, J. "*Texto Ilustrado de Biología Molecular e Ingeniería Genética*" 2.001. Ediciones Harcourt.
- Nussbaum, McInnes, Willard, "*Thompson & Thompson Genetics in Medicine*", 6º ed. 2.001. W.B. Saunders Co.
- Pierce, B. "*Genética, un enfoque conceptual*", 2º edición, 2.006. Editorial Médica Panamericana.
- Solari, A. J. "*Genética humana. Fundamentos y aplicaciones en medicina*", 3º edición, 2.004. Editorial Médica Panamericana.
- Watson, Levine y col. "*Biología Molecular del Gen*", 5º edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- White, K.; Evans, W.; O'Riordan, J.; Speer, M.; Econs, M.; Lorenz-Depiereux, B.; Grabowski, M.; Meitinger, T. Strom, T. (2000) "*Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23*" *Nature Genetics* 26, 345

## TP N° 17 – CICLO CELULAR

CICLO CELULAR. Etapas y sus valores promedio en los distintos tipos celulares. Características de las fases. Regulación del ciclo celular. Proto-oncogenes. Genes de supresión tumoral. Oncogenes. Mitosis y citocinesis. Estrategia general. Mecanismos regulatorios. Descripción. Apoptosis. MEIOSIS. Estrategia general. Descripción. Sinapsis y complejos sinaptonémicos. Quiasmas y recombinación génica. Ventajas evolutivas.

### OBJETIVOS.

Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:

- Explicar el concepto de ciclo celular y sus etapas.
- Explicar los fenómenos moleculares que impulsan y regulan el ciclo celular.
- Describir las etapas de la división celular.
- Explicar la acción e importancia de los proto-oncogenes y de los genes supresores de tumores.
- Definir apoptosis y explicar los mecanismos moleculares que involucra.
- Explicar los eventos citológicos y moleculares de la meiosis, su importancia y consecuencias.

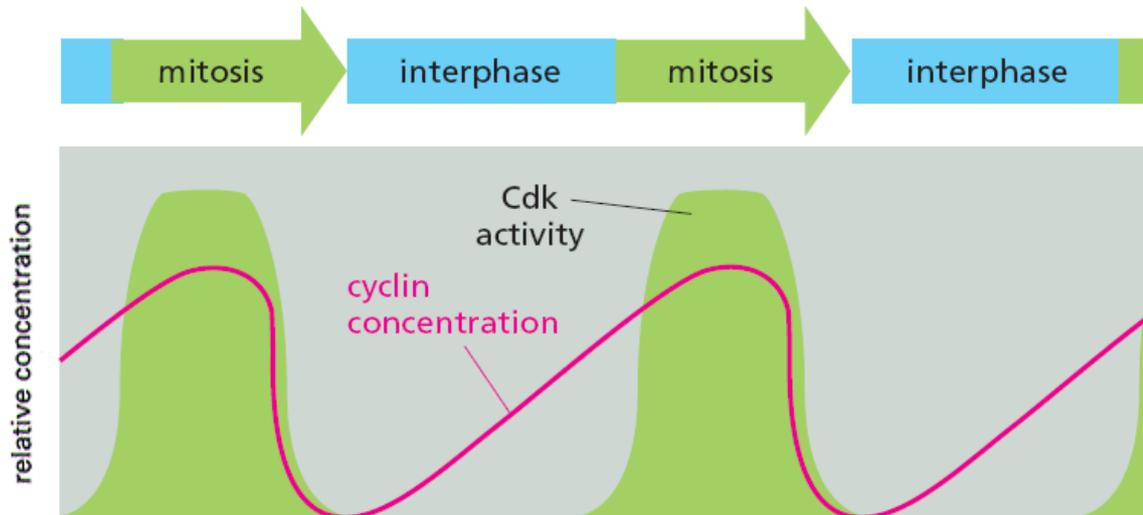
1. “Una célula se reproduce siguiendo una ordenada secuencia de eventos en la cual duplica su contenido y luego se divide en dos. Este ciclo de duplicación y división, conocido como Ciclo Celular, es el mecanismo esencial por el cual todos los seres vivos se reproducen. Los detalles del ciclo celular varían de organismo en organismo y en diferentes momentos durante la vida de un individuo. Aún así, ciertas características son universales, dado que el ciclo debe comprender, como mínimo, un set de procesos que una célula debe llevar a cabo para lograr su tarea más fundamental: copiar y pasar su información genética a la siguiente generación de células. Para producir dos células hijas idénticas, el ADN de cada cromosoma debe ser fielmente replicado, y los cromosomas replicados deben entonces ser segregados con precisión a las dos células hijas, de manera que cada célula reciba una copia entera del genoma. La mayoría de las células también deben duplicar sus otras organelas y macromoléculas; de otro modo, cada vez que se dividen se volverían más y más pequeñas. Así, para mantener su tamaño, las células que se dividen deben también coordinar su crecimiento con su división.” (Alberts, Bray, Hopkin y col. “Essential Cell Biology”, 2<sup>nd</sup> edition, 2003. Editorial Garland Science.)

- a. Explique qué fenómenos deben ser coordinados cuando una célula se reproduce y por qué.
- b. Enumere las diferentes etapas de **ciclo celular** y detalle los fenómenos que ocurren en cada una de ellas.

2. La coordinación y control de los eventos que tienen lugar durante el ciclo celular son llevados a cabo por un conjunto de proteínas regulatorias que aseguran que los procesos celulares relacionados con el crecimiento y división se completen y alternen de manera ordenada.

- a. Describa los principales tipos de proteínas que regulan el ciclo celular.
- b. Defina la función de ciclinas y quinasas dependientes de ciclinas. Explique su interacción.
- c. *Contraste* los papeles de las ciclinas y CDKs.
- d. Elabore un texto para explicar la figura:

FIGURA 1 (Alberts, Bray, Hopkins y col. "Essential Cell Biology", 2<sup>nd</sup> edition, 2003, Garland Science)



3. La fosforilación de proteínas es uno de los mecanismos de regulación molecular más ubicuos en las células, ¿en qué consiste y cómo se revierte? Dé un ejemplo concreto que ocurra durante el control del ciclo celular.

4. Explique los conceptos de punto de restricción y G0.

5. Lea y analice el siguiente párrafo (Tomado de Alberts, Bray, Hopkins y col. "Essential Cell Biology", 2<sup>nd</sup> edition, 2003. Editorial Garland Science.)

“Los organismos unicelulares como bacterias y levaduras tienden a crecer y dividirse tan rápido como pueden, y su tasa de proliferación depende principalmente de la disponibilidad de nutrientes en el ambiente. En contraste, las células en un organismo multicelular deben ser controladas de manera que una célula individual se divida sólo cuando una nueva célula se requiera en el organismo (para permitir el crecimiento tisular o para reemplazar la pérdida celular). Así, para que una célula animal se divida o crezca, o aún sobreviva, los nutrientes no son suficientes. También debe recibir señales químicas de otras células, usualmente sus vecinas.

La mayoría de las moléculas señalizadoras que influyen sobre la división, crecimiento y supervivencia celular son proteínas solubles secretadas por otras células, o proteínas unidas a la superficie de otras células o a la matriz extracelular. Aunque la mayoría actúa positivamente para estimular uno u otro de estos procesos celulares, algunas actúan negativamente para inhibir un proceso particular. Las señales que actúan positivamente pueden dividirse, basándose en su función, en tres clases principales:

- Mitógenos, que estimulan la división celular, principalmente suprimiendo los mecanismos intracelulares que tienden a bloquear la progresión a lo largo del ciclo celular.
- Factores de crecimiento, que estimulan el crecimiento celular (incremento en la masa celular) promoviendo la síntesis (e inhibiendo la degradación) de proteínas y otras macromoléculas.
- Factores de supervivencia, que promueven la supervivencia de la célula suprimiendo la apoptosis.

Estas categorías no son mutuamente excluyentes, muchas señales moleculares tienen más de una de estas funciones. Desafortunadamente, el término “factor de crecimiento” es usado con frecuencia para describir a una proteína con cualquiera de esos roles”.

a. Consulte la bibliografía y describa un ejemplo de cada uno.

b. Explique qué son los **proto-oncogenes**, y los **oncogenes**. Cite ejemplos y relaciónelos con el párrafo del encabezado.

c. Explique qué son los **genes supresores de tumores**; dé ejemplos

6. La mitosis procede a través de una serie de estadios cada uno de los cuales presenta características particulares respecto de la conformación y localización de los cromosomas, entre otros aspectos. Repáselos brevemente.

7. Distinga *mitosis* de *citocinesis*.

8. Si a un cultivo de células en proceso de división se las somete a la acción de la colchicina, una droga que interfiere con el funcionamiento del huso mitótico, ¿en qué fase de la mitosis se verán arrestadas? Fundamente.
9. Para que la segregación ocurra adecuadamente, los cromosomas deben unirse en forma apropiada a los husos mitóticos (TP N° 11). Describa la organización de las **secuencias centroméricas**, su importancia, la formación de los **cinetocoros** y su unión a las proteínas del huso acromático.
10. Explique cómo se define “muerte celular” y en qué circunstancias ocurre. Distinga *necrosis* de *apoptosis*.
11. La apoptosis es mediada por una cascada proteolítica intracelular. Explique sus componentes y fundamentos básicos.
12. Explique el papel de la familia de proteínas intracelulares Bcl-2.
13. Defina los términos **haploide** y **diploide**. Indique qué procesos de división se vinculan con cada uno y por qué.
14. La meiosis presenta etapas caracterizadas por eventos particulares. Descríbalas.
15. Explique cómo ocurren los fenómenos de recombinación y cómo están mediados molecularmente (formación del complejo sinaptonémico, recombinación de sitio específico). Explique la importancia de la recombinación.
16. La meiosis se puede describir como un proceso de división y de diferenciación celular, explique por qué.
17. Las aneuploidías (trisomías o monosomías) son las anomalías cromosómicas más comúnmente identificadas en los seres humanos, apareciendo en al menos el 5% de los embarazos. La mayoría de los conceptos aneuploides perecen in útero, lo que hace de ésta la principal causa de pérdida de embarazos. Aún así, algunos fetos aneuploides sobreviven a término y, como clase, las aneuploidías son la causa más común de retardo mental (Hassold, Hunt, 2001, Nat Rev Genet **2**, 280-291). Explique los eventos de no-disyunción o segregación anormal durante la división celular y sus consecuencias.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, Bray, Hopkins y col. “*Essential Cell Biology*”, 2<sup>nd</sup> edición, 2003. Editorial Garland Science.
- Alberts, Bray, Hopkins y col. “*Introducción a la Biología Celular*”, 2° edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- Alberts, Bruce, Watson y col. “*Molecular Biology of the cell*”, 2° edición, 1989. Editorial Garland Publishing.
- Cooper, G. “*The Cell. A molecular approach*” 2nd ed, 2000. ASM Press/Sinauer Associates.
- De Robertis, Hibb, Ponzio, “*Biología Celular y Molecular*”, 2000. Editorial El Ateneo.
- Hassold, T.; Hunt, P. “*To err (meiotically) is human: the génesis of human aneuploidy*”, 2001. Nat rev Genet **2**, 280-291.
- Lodish, Berk, Matsudaria y col. “*Biología Celular y Molecular*”, 5° edición, 2005. Editorial Médica Panamericana.

## TP N° 18 – MUTACIÓN. GENÉTICA BIOQUÍMICA GENÉTICA Y CÁNCER

MUTACIÓN. Mutágenos, carcinógenos, teratógenos. Mutaciones y reparación. Efectos ambientales. Actividad de la telomerasa y envejecimiento. GENÉTICA BIOQUÍMICA. Defectos en la reparación de nucleótidos y enfermedades hereditarias. Aberraciones genéticas del metabolismo. El papel de las proteínas. Aplicaciones en la práctica médica. Conceptos de: malformaciones únicas o múltiples. Síndromes, secuencias, asociaciones, displasia, disrupción y deformación. GENÉTICA Y CÁNCER. Mutaciones y etiología del cáncer. Tumores. Formas hereditarias del cáncer. Cromosomas y cáncer. El cáncer y el ambiente. Importancia en procesos patológicos.

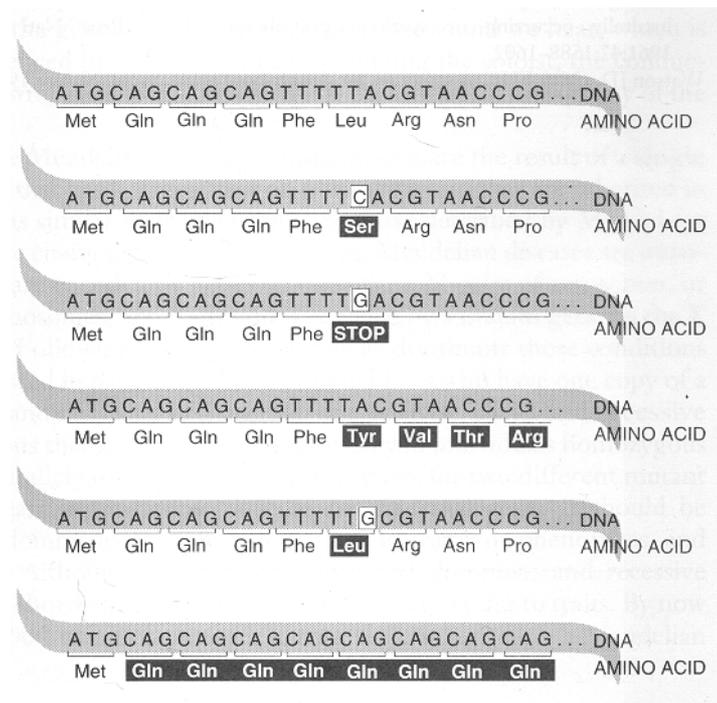
### OBJETIVOS

Al finalizar el trabajo práctico, el alumno será capaz de:

- Definir el término mutación y explicar los fenómenos que lo originan.
- Explicar la base molecular de la patogenicidad que resulta de las alteraciones en el ADN.
- Describir la organización de los telómeros y sus funciones estructurales y vinculadas a la longevidad celular.
- Explicar la relación entre las enfermedades genéticas y las alteraciones en el metabolismo celular.
- Explicar la naturaleza genética del cáncer.
- Describir los fenómenos moleculares y celulares que participan en la aparición de un cáncer.
- Explicar la función de algunos genes en la regulación normal de la proliferación celular y en la generación del cáncer.

1. Defina el término *mutación*. Explique qué son los mutágenos. Elabore un cuadro de los mutágenos más comunes y su acción sobre el genoma.
2. Explique cómo operan los mecanismos de reparación del ADN.
3. Clasifique los distintos tipos de mutaciones según la alteración en la secuencia del ADN. En la figura N° 1, identifique los tipos principales.

**FIGURA 1** (Collins, Gelehrter, Ginsburg, "Principles of Medical Genetics", 2º edición. 1.998. Editorial Williams & Wilkins)



4. En relación con la actividad biológica del producto génico resultante, las mutaciones pueden ser: nulas, de pérdida de función y de ganancia de función. Explique brevemente cada una y cite ejemplos.
5. Explique qué son las mutaciones dinámicas.
6. Defina: heterogeneidad alélica, heterogeneidad génica, heterocigotos compuestos, genes modificadores.
7. Indique la función normal de los telómeros en la integridad y distribución intranuclear de los cromosomas. Repase cómo ocurre la replicación del ADN a nivel de los telómeros. ¿Cuál es la relación entre telomerasa y envejecimiento celular? ¿Cuál es la relación con el cáncer?
8. Las enfermedades genéticas se deben a mutaciones en genes de diferentes clases de proteínas: enzimas, transporte y almacenamiento, estructurales, entre otras. Mencione y explique ejemplos de cada una.
9. Establezca una relación entre genética y metabolismo: ¿por qué se habla de aberraciones o defectos genéticos del metabolismo?
10. ¿Cuáles son los mecanismos de la patogenia en las enfermedades causadas por mutación de una determinada enzima? Mencione y explique brevemente algunos ejemplos.
11. Analice y dé más ejemplos de los siguientes conceptos:
  - Malformación: defecto morfológico de un órgano o región debido a una falla en los mecanismos biológicos del desarrollo (Desarrollo intrínsecamente anormal). Ej: falla en los mecanismos implicados en la fusión de los procesos palatinos, generando la presencia de paladar figurado o hendido como malformación. Dé otros ejemplos de malformaciones únicas o múltiples.
  - Síndrome: anomalías de presentación múltiple con una causa conocida. Ejemplo: síndrome de Down (causa cromosómica).
  - Secuencias: anomalías de presentación múltiple en las que un primer defecto lleva en cadena a la aparición consecuente de los demás. Ejemplo: Secuencia de Potter, en la que el defecto primario es la aparición de una anomalía renal, la deficiencia de la función renal lleva a la disminución de producción de líquido amniótico, hay oligoamnios. El líquido amniótico moldea al pulmón en desarrollo, su disminución provoca hipoplasia pulmonar. El oligoamnios produce además poco espacio para la movilidad fetal. Las articulaciones pueden deformarse o volverse rígidas por la escasez de espacio. Este espacio disminuido moldea los caracteres faciales de una forma particular.

- Asociaciones: son anomalías de presentación múltiple sin relación etiológica (en principio), pero con una frecuencia de aparición conjunta mayor a la esperada por el azar. Ejemplo: Vacter (acrónimo de los lugares que pueden tener anomalías asociadas V: vértebras; A: ano-recto; C: corazón; TE: traqueo esofágico; R: renal).
- Displasia: defecto en el patrón de organización intrínseco de un tejido. Generalmente están causadas por mutaciones en genes que producen anomalías de proteínas estructurales o proteínas con función enzimática. Ejemplo: displasias esqueléticas enfermedades metabólicas de atesoramiento, displasias ectodérmicas.
- Disrupción: defecto estructural por destrucción o interferencia en el desarrollo de estructuras previamente normales. Los factores que las producen pueden ser vasculares, infecciosos, químicos, físicos, enfermedades maternas y también fuerzas mecánicas. **Los agentes teratógenos son disruptivos.**

Ejemplo de disrupción: cataratas congénitas debido al virus de la Rubéola.

- Deformación: forma o posición anormal de una parte del cuerpo causada por fuerzas mecánicas que distorsionan estructuras normales. En general están producidas por fuerzas mecánicas extrínsecas al feto. Ejemplo: Pie bot debido a oligoamnios.

12. Explique la siguiente afirmación: EL CÁNCER ES UNA ENFERMEDAD GENÉTICA. Indique qué elementos le permiten justificar dicha afirmación.

13. Diferentes genes han sido vinculados con la etiología del cáncer. ¿Qué funciones generales en la biología de la célula cumplen las proteínas codificadas por éstos?

14. Indique las diferencias entre: oncogenes, genes supresores de tumores y proto-oncogenes. Dé ejemplos (vea el punto 5 del TP N° 17)

15. Explique la hipótesis del doble impacto en la generación de cáncer por mutaciones en genes supresores de tumores.

16. “Aunque en cualquier paciente individual el desarrollo de un cáncer usualmente no puede ser adscrito a la anomalía en un solo gen heredado, a nivel celular el cáncer es una enfermedad genética. Cada célula humana contiene un programa genético complejo y muy regulado que controla el crecimiento y diferenciación celular normal. El cáncer resulta de la disrupción de este patrón de regulación normal, llevando al crecimiento celular y proliferación descontrolada que es reconocida como tumor maligno” (Collins, Gelehrter, Ginsburg, “*Principles of Medical Genetics*”, 2° edición. 1998. Williams & Wilkins)

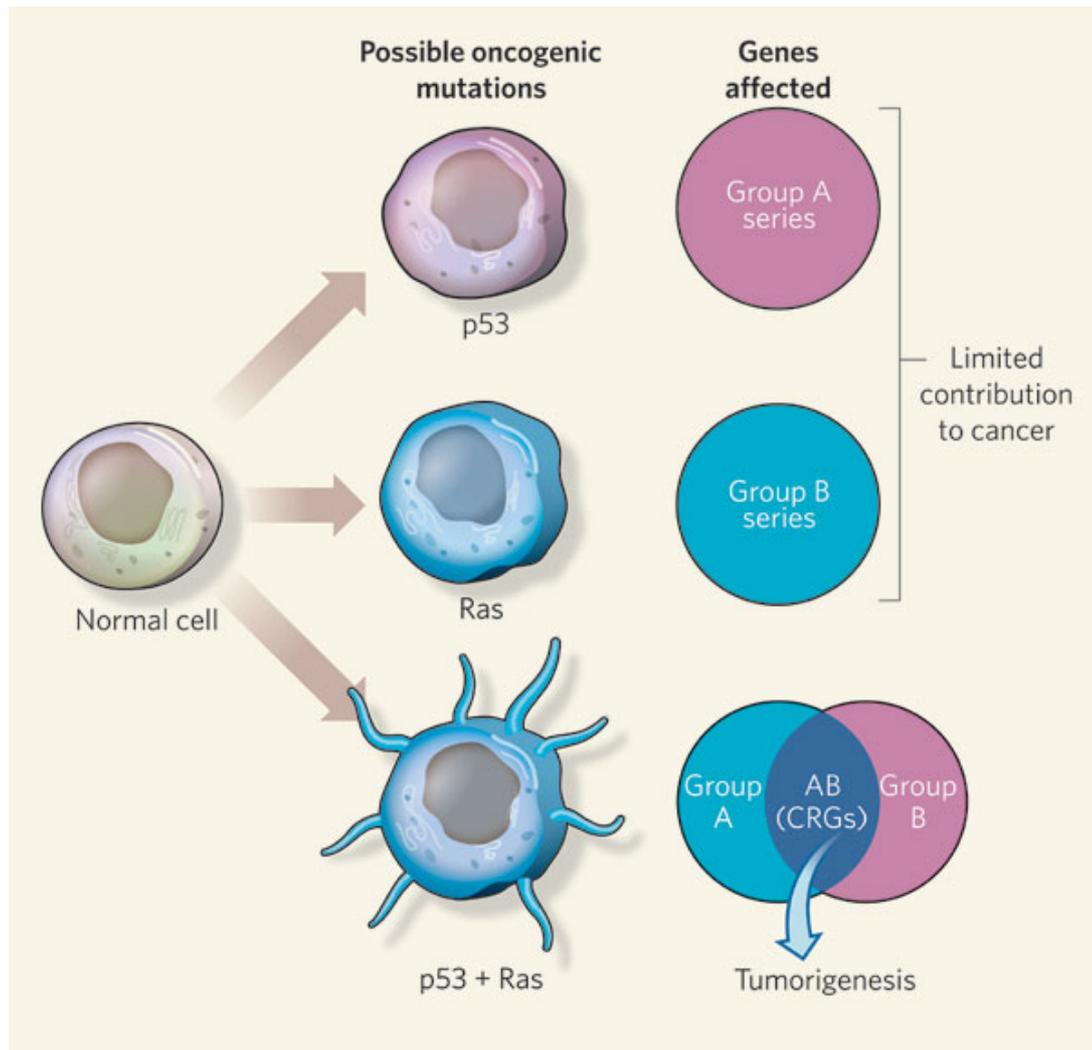
- Explique el papel de la proteína p53 en la etiología de ciertos cánceres y en la apoptosis.
- Explique la relación entre proteína Ras y cáncer (vea el punto 24 del TP N° 7).

17. “Si bien la mayoría de los tumores malignos son de origen clonal (...), esto no debe ser interpretado como que el origen del tumor es una única mutación. Tal como fue anunciada, la hipótesis de las mutaciones múltiples (o de “impactos múltiples”) considera que el establecimiento de un tumor maligno requiere que ocurran sucesivamente un número de mutaciones, no inferiores a dos, en la misma célula.” (Solari, A. J. “*Genética humana. Fundamentos y aplicaciones en medicina*”, 3° edición, 1999. Editorial Médica Panamericana)

“Ha quedado claro que muchos cánceres cargan múltiples mutaciones, la mayoría de las cuales probablemente no tengan efecto significativo en el crecimiento del tumor. La **anomalías cariotípicas** groseras, **inestabilidad** de **microsatélites** generalizada, pérdida frecuente de alelos, y **inserciones** y **deleciones** pequeñas a gran escala, han sido encontradas en los tipos más comunes de cánceres” (Tomlinson, y col., 2002 “*How many mutations in cancer?*” American Journal of Pathology. **160**:755-758)

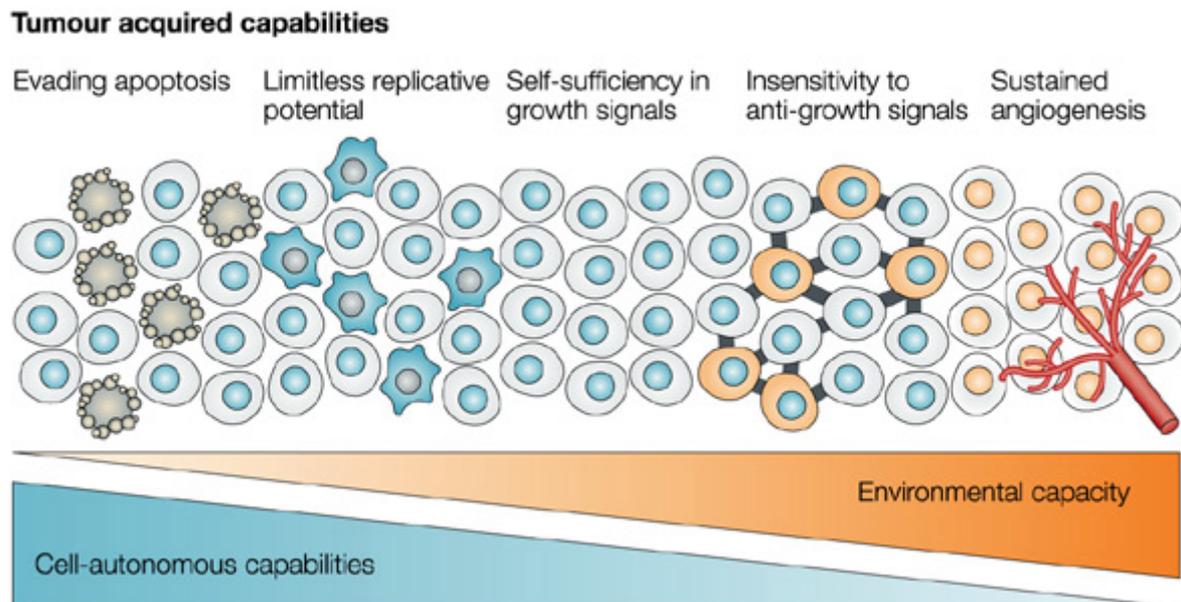
- Explique qué significa “origen clonal” del cáncer.
- Analice las figuras 2 y 3 y explique cómo ilustran los conceptos básicos expresados en los párrafos de arriba.
- Repase y explique los términos marcados con **negrita**.
- Consulte la bibliografía y dé ejemplos de activación de oncogenes por anomalías cromosómicas (ej: translocación).

FIGURA 2. (Luo, Elledge, 2008, "Cancer: Deconstructing oncogenesis" Nature, 453, 995-996)



Las mutaciones oncogénicas en el gen del factor de transcripción p53 y en la proteína GTP asa Ras – que individualmente tienen efecto limitado en la promoción del cáncer- cooperan en transformar células normales en células cancerosas. En este ejemplo, la mutación del gen de p53 afecta la expresión del grupo de genes A y la mutación del gen de Ras modifica la expresión del grupo de genes B. Cuando tanto el gen de p53 como el de Ras están mutados en la misma célula, ambos regulan en forma sinérgica el subconjunto de genes (AB) conocidos como genes de respuesta cooperativa (cooperation response genes, CRGs), que resultan ser mediadores cruciales de la formación de tumores.

FIGURA 3. (Schmit, 2003 “Senescence, apoptosis and therapy-cutting the lifelines of cancer” Nat Rev Cancer 3, 286-295)



Los tumores adquieren una multitud de rasgos que promueven el crecimiento. Algunos de ellos son capacidades celulares autónomas (triángulo de abajo), tales como el escape de la apoptosis o senescencia celular (potencial replicativo ilimitado). Capacidades adicionales no autónomas reflejan la adquisición gradual de propiedades de crecimiento que son proporcionadas por el ambiente del tumor, tales como autosuficiencia de señales de crecimiento e inducción de la angiogénesis (triángulo de arriba). De todas formas, no todas esas capacidades son esenciales para la inducción del fenotipo maligno.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, Bray, Hopkin y col. “*Introducción a la Biología Celular*”, 2º edición, 2006. Editorial Médica Panamericana.
- Collins, F; Gelehrter, T; Ginsburg, D. “*Principles of Medical Genetics*”, 2º edición. 1998. Editorial Williams & Wilkins. USA.
- De Robertis EMF (h), Hib J, Ponzio RO. “*Biología Celular y Molecular*”.12ª edición. 2003.El Ateneo. Buenos Aires.
- Jameson, J. L. “*Emery’s Elements of Medical Genetics*” 12º ed. 2004. Churchill Livingstone.
- Jorde L, Carey J Bamshad, M.J. y White R., “*Genética médica*”, 3º Edición, 2005 Ed. Elsevier.
- Lodish, Berk, Matsudaira y col. “*Biología Celular y Molecular*”, 5º edición, 2005. Editorial Médica Panamericana.
- Luo, J.; Elledge, S. “*Cancer: Deconstructing oncogenesis*” 2008. Nature, 453, 995-996.
- Luque, J. “*Texto Ilustrado de Biología Molecular e Ingeniería Genética*” 2001. Ediciones Harcourt.
- Muller RF, Young ID. “*Emery’s Genética Médica*”. 10ª edición. Marbán Libros. Madrid, 2001.
- Nussbaum, McInnes, Willard, “*Thompson & Thompson Genetics in Medicine*”, 6º ed. 2001. W.B. Saunders Co.
- Schmit, C. “*Senescence, apoptosis and therapy-cutting the lifelines of cancer*” 2003. Nat Rev Cancer 3, 286-295.
- Solari, A. J. “*Genética humana. Fundamentos y aplicaciones en medicina*”, 3º edición, 2004. Editorial Médica Panamericana.
- Tomlinson, I.; Sasieni, P.; Bodmer, W. “*How many mutations in cancer?*” 2002. American Journal of Pathology. 160:755-758.