TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN
BIOLOGÍA CELULAR Y DEL DESARROLLO

(Asignatura optativa del Tercer Curso de la Licenciatura en medicina, duración cuatrimestral, 2 créditos teóricos y 2 prácticos. **Máximo número de alumnos admisibles: 20**)

PROFESORADO DURANTE EL CURSO 2001-2002

Juan Aréchaga Martínez, *Catedrático*
Mª Dolores Boyano López, *Profesor Titular* (Coordinador)
Ana Alonso Varona, *Profesor Titular*
Antonia Alvarez Díaz, *Profesor Titular*
Mª Luz Cañavate Escribano, *Profesor Titular*
Alicia García de Galdeano Zaldivar, *Profesor Titular*
Enrique Hilario Rodríguez, *Profesor Titular*
Carmen de la Hoz Torres, *Profesor Titular*
Gorka Pérez-Yarza Pérez-Irezazabal, *Profesor Titular*
Francisco José Sáez Crespo, *Profesor Titular*
Fernando Unda Rodríguez, *Profesor Titular*
Elena Vecino Cordero, *Profesor Titular*
Jon Arlucea Jaureguizar, *Profesor Asociado*
José A.Uranga Ocio, *Profesor Asociado*

INTERES DE LA ASIGNATURA Y OBJETIVOS DOCENTES

Esta disciplina tiene como finalidad introducir a los estudiantes de medicina motivados hacia la investigación científica en el conocimiento teórico y práctico de una serie de técnicas y aproximaciones experimentales en el área de la Citología, Histología y Embriología modernas. El interés de la asignatura se hace cada vez más actual debido a la progresiva evolución científica de la mayor parte de las especialidades médicas.

PROGRAMA TEORICO

Tema 1.- DESARROLLO HISTÓRICO Y PANORÁMICA GENERAL DE LA ASIGNATURA. La investigación cito-histológica y embriológica en la edad moderna y contemporánea. Avances significativos de su contenido científico en relación con el proceso tecnológico. Estructura general del programa teórico-práctico y desarrollo del mismo.

Tema 2.- FUNDAMENTOS DE MICROSCOPÍA ÓPTICA. Principios básicos de óptica geométrica aplicados a la microscopía. Propiedades físicas de la radiación luminosa e interacciones con la materia. Límite de resolución. Aberraciones de los sistemas ópticos y su corrección.

Tema 3.- MICROSCOPIOS ÓPTICOS ESPECIALES. Microscopía de fondo oscuro. Microscopía de polarización. Microscopía de contraste de fases y de interferencias. Microscopía de luz ultravioleta y de fluorescencia. Recientes desarrollos en microscopía óptica (microscopía confocal, videomicroscopía, microscopía de resonancia magnética, microscopía de infrarrojos,etc.) y futuro de estas técnicas.

Tema 4.- FUNDAMENTOS DE LA MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA. Principios generales de óptica física aplicados a la microscopía electrónica. Interacciones de los electrones acelerados con las muestras biológicas. Estructura general de los microscopios electrónicos.

Tema 5.- TIPOS DE MICROSCOPIOS ELECTRÓNICOS Y TÉCNICAS CUALITATIVAS Y ANALÍTICAS ASOCIADAS. Estructura interna y aplicaciones de los microscopios electrónicos de transmisión (TEM), de barrido (SEM) y mixto (STEM). Técnicas de difracción y de campo oscuro. Microscopía electrónica analítica (Microanális de Rayos X, EELS). Recientes desarrollos en microscopía de alta resolución: microscopía de efecto túnel, microscopía de fuerza atómica, microscopía acústica, microscopía de rayos X, etc. Futuro de estas técnicas.

Tema 6.- PROCESADO DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS PARA SU ESTUDIO MICROSCÓPICO. Origen del material biológico. Examen en fresco. Técnicas de fijación, inclusión y microtomía. Coloración de contraste y montaje de las preparaciones. Importancia de la ausencia de artefactos para la adecuada interpretación de las imágenes.

Tema 7.- TÉCNICAS ESPECIALES DE PREPARACIÓN DE MUESTRAS. Extensiones. Tinción negativa. Desecado al punto crítico. Recubrimiento metálico. Criotécnicas (criofijación, criosustitución, criomicrotomía, criodesecación, criofractura, criomicroscopía). Riesgos personales asociados a las técnicas de preparación de muestras en microscopía.

Tema 8.- CUANTIFICACIÓN Y ANÁLISIS DE IMAGEN EN MICROSCOPÍA. Morfometría, estereología y reconstrucción tridimensional. Densitometría. Interferometría. Colorimetría. Microespectrofotometría. Microfotografía. Tratamiento de imágenes digitalizadas. Microscopía cuantitativa e interpretación de imágenes a microscopía electrónica.

Tema 9.- ESTUDIO DE LAS CÉLULAS Y TEJIDOS VIVOS. Exteriorización y transiluminación de órganos. Cultivos "in vivo". Biología y requerimientos de las células "in vitro". Iniciación, caracterización y mantenimiento de un cultivo celular. Transformación celular y diferencias "in vitro". Contaminaciones más frecuentes, diagnóstico y prevención de las mismas. Bancos de células.

Tema 10.- TÉCNICAS ESPECIALES PARA EL ESTUDIO DE CÉLULAS VIVAS. Cultivo histotípicos y organotípicos. Cultivos en suspensión y en masa. Crecimiento sobre diferentes sustratos. Técnicas de clonado y sincronización celular. Cuantificación del crecimiento celular. Estudios dinámicos (videografía a intervalos). Técnicas de fusión celular y sus aplicaciones. Citometría de flujo.

Tema 11.- BIOLOGÍA CELULAR MOLECULAR. Bases físicas y aplicaciones de las técnicas de centrifugación. Centrifugación diferencial, en gradientes y de flujo continuo. Ultracentrifugación analítica. Análisis y cuantificación de los componentes químicos de las células por métodos bioquímicos (fundamentos y aplicaciones específicas de las técnicas de espectrofotometría, cromatografía y electroforesis). Ensayos enzimáticos. Utilización de radioisótopos.

Tema 12.- APLICACIONES DE LAS TÉCNICAS DE CLONADO MOLECULAR. Creación de moléculas de DNA recombinante. Construcción de bibliotecas de DNA genómico y complementario. Técnicas de hibridación molecular. Transferencia y microinyección de genes. Utilidad de esta metodología en biología celular y del desarrollo.

Tema 13.- DETECCION ESPECÍFICA "IN SITU" DE MOLÉCULAS BIOLÓGICAS. Técnicas citoquímicas. Autorradiografía. Inmunocitoquímica. Hibridación molecular en preparaciones citológicas e histológicas.

Tema 14.- PRINCIPIOS DE EMBRIOLOGÍA EXPERIMENTAL. Instrumentación general. Importancia de las técnicas de esterilización y del animalario. Ventajas e inconvenientes de los mamíferos y de otros vertebrados e invertebrados como modelos para estudiar el desarrollo biológico. Técnicas de cultivo de cultivo de los embriones de mamífero pre y postimplantados. Importancia de las tablas y horarios del desarrollo.

Tema 15.- TÉCNICAS GENERALES DE MICROMANIPULACIÓN EMBRIONARIA. Marcaje de blastómeras y confección de mapas de destino. Microcirugía, trasplantes e injertos. Microinyección de embriones. Creación de líneas celulares continuas a partir de los tejidos embrionarios.

Tema 16.- ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA ORGANOGÉNESIS. Las interacciones celulares durante el desarrollo y el estudio experimental de la inducción embrionaria. Técnicas de disociación, reasociación y cultivo de los órganos embrionarios. Seguimiento del proceso de diferenciación "in vitro" mediante análisis morfológico y molecular.

Tema 17.- MODIFICACIÓN EXPERIMENTAL DEL GENOMA EMBRIONARIO. La partenogénesis artificial, los trasplantes nucleares y su utilidad para el estudio de la impronta genómica. Producción experimental de quimeras y de animales transgénicos. Empleo de células madre embrionarias en la mutagénesis experimental. Implicaciones de estas técnicas en el futuro de la biología y la medicina.

Tema 18.- ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LOS PROCESOS DE REGENERACIÓN. Bases celulares y moleculares del envejecimiento, la muerte y la renovación de los tejidos. Tipos generales de regeneración tisular en invertebrados y en vertebrados inferiores y su abordaje experimental. Usos en investigación y en terapéutica de las células madre en los procesos de regeneración orgánica y tisular.

Tema 19.- TERATOLOGÍA EXPERIMENTAL. Períodos críticos del desarrollo embrionario. Agentes teratógenos físicos y químicos. Los virus y otros microorganismos como causantes de malformaciones congénitas. Uso de los cultivos embrionarios y organotípicos en teratología experimental.

Tema 20.- CANCEROLOGÍA EXPERIMENTAL. Interpretación actual del origen del cáncer. Características generales del crecimiento tumoral. Inducción experimental de tumores. El cáncer como modelo de estudio en biología del desarrollo.

PROGRAMA DE PRACTICAS

Las características especiales de esta disciplina imposibilitan la existencia de prácticas regulares de la misma. Sin embargo, al finalizar la enseñanza teórica (antes es imposible, ya que el alumno desconoce el fundamento científico de las diferentes técnicas) se organizarán a este respecto estancias rotatorias de grupos reducidos en los diferentes Laboratorios del Departamento –donde se llevan a cabo de forma regular u ocasional una gran parte de las técnicas referidas en el programa teórico- para que conozcan de una forma directa su aplicación a proyectos de investigación específicos.

BIBLIOGRAFIA

Desgraciadamente no existen aún obras en el mercado lo suficientemente completas y sucintas para poder ser recomendadas en el estudio de esta asignatura. Sin embargo, los alumnos interesados en alguna técnica en particular pueden solicitarle al profesor el asesoramiento adecuado. Por otra parte, se desea informar sobre el interés de los profesores de nuestro Departamento en elaborar próximamente un texto que se adapte al programa y a los contenidos del curso.

EVALUACION DE LOS ALUMNOS

Un solo exámen final de tipo test con preguntas correspondientes a todos los temas del programa.