## REFERENCIAS


1. Fernández-Nava R. Nombres comunes, usos y distribución geográfica del género *Karwinskia* (*Rhamnaceae*) en México. Anal Inst Biol UNAM Ser Bot 1992;63:1-23.
2. Del Pozo EC. Los efectos paralizantes de la tullidora. Estudios clínicos y experimentales. Gac Med Mex 1965;95:179-182.
3. Escobar A, Nieto D. Aspectos neuropatológicos de la intoxicación con *Karwinskia humboldtiana*. Estudio experimental. Gac Med Mex 1965;95:163-167.
4. Puértolas Márquez MA, Nava-Jiménez O, Medina-López HA, López-Orozco FX, Oyervides-Pinales JF. Polirradiculoneuritis por *Karwinskia humboldtiana*. Informe de seis casos. Rev Med IMSS 1984;22:25-27.
5. Clavijero FX. "Historia de la antigua o Baja California". México D.F., Ed. Porrúa S.A., 3era Ed., 1982; 31-33.
6. Castillo Nájera F. "Contribución al estudio de la parálisis tóxica. Un envenenamiento colectivo con tullidora". En memoria del V Congreso Médico Mexicano, 1920; 1: 240-244.
7. Bustamante-Sarabia J, Olvera-Rabiela J, Nieto-Cañedo L. Intoxicación fatal por tullidora (*Karwinskia humboldtiana*). Comunicación de un caso. Gac Méd Méx 1978; 114: 241-244.
8. Bermúdez MV, Lozano FE, Salazar ME, Waskman N, Piñeyro A. Intoxicación de una familia por *Karwinskia humboldtiana* (Tullidora). Gac Med Mex 1995; 131: 100-106.
9. Dreyer DL, Arai I, Bachman CD, Anderson Jr WR, Smith RG, Daves Jr GO. Toxins causing noninflammatory paralyitic neuropaty. Isolation and structure elucidation. J Am Chem Soc 1975; 97: 4985-4990.

10. Rivas V, Torres R, Waskman N. Dimeric anthracenones from *Karwinskia species*. Planta Medica 1990; 56: 562-563.
11. Waksman N, Ramírez R. Isolation of a new dymeric anthracenone from *Karwinskia parvifolia*. Rev Latinoamer Quim 1992; 23: 25-27.
12. Bermúdez MV, González-Spencer D, Guerrero M, Waskman N, Piñeyro A. Experimental intoxication with fruit and purified toxins of buckthorn (Karwinskia humboldtiana). Toxicon 1986; 24: 1091-1097.
13. Bermúdez-Barba MV. Toxicidad aguda de la Karwinskia humboldtiana en diferentes especies de animales. Tesis doctoral, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, N.L., 1989.
14. Bermúdez MV, Martínez FJ, Salazar ME, Waskman N, Piñeyro A. Experimental acute intoxication with ripe fruit of Karwinskia humboldtiana in rat, guinea-pig, hamster and dog. Toxicon 1992; 30: 1493-1496.
15. Sepúlveda-Saavedra J, Van Der Klei I, Kaiser I, Piñeyro-López A, Harder W, Veenhuis M. Studies on the effect of T-514 on the integrity of peroxisomes in methyltrophic yeast. FEMS Microbiol, Lett 1992; 91: 207-212.
16. Sepúlveda J, González B, Tamez V, Bermúdez MV, Piñeyro A. Ultraestructure of the lesion induced by toxin T-514 isolated from K. humboldtiana in the alveolar region of the lung. Fiftieth Annual Meeting electron microscopy society of america 1992; 640-641.
17. Sepúlveda J, González B, Tamez V, Lozano F, Salazar ME, Bermúdez MV, Piñeyro A. Polimorfonucleares durante la evolución de la lesión inducida por la toxina T-514 en el pulmón de la rata: análisis morfométrico. VIII Enc Reg de Invest Bioméd 1990; 19.
18. Ballesteros R, Flores S, Piñeyro A, Sepúlveda J. Peroxisomicine A-1 induces TNF-α secretion and pmn infiltration in lung microvascular bed of the albino mice (CD-1). Electron Microscopy 1998;4:501-502.

19. Ballesteros R. Factor de necrosis tumoral α y granulocitos neutrófilos en la producción del síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto causado por peroxisomicina A-1. Tesis doctoral. Diciembre 2000.
20. Piñeyro-López A, Martínez L, González-Alanís R. In vitro selective toxicity of toxin T-514 from *Karwinskia humboldtiana* (buckthorn) plant on various human tumor cell lines. Toxicology 1994;92:217-227
21. Piñeyro A. 1995. Europaishen Patentblatt 95/48 (29.11.95). Patent number: 0467407
22. Piñeyro A. 1996. Bioscience patent "Pharmaceutically acceptable anthracene compounds" number 5578646
23. Piñeyro-López A. Patentes: Japonesa No. 2651758. Coreana No. 202320. Canadiense No. 2047550. Mexicana No. 9100290
24. Piñeyro y cols. Protocolo I 1/15 del Ensayo de Fase Clínica I en pacientes con carcinoma avanzado sin tratamiento alternativo.
25. Prevedoros HP, Bradburn NT, Harrison GA. Three cases of anaphylactoid reaction to Haemaccel. Anaesth Intensive Care 1990 Aug;18(3):409-12.
26. Fenwick DG, Andersen GJ, Munt PS. Anaphylactoid reaction to Haemaccel. Anaesth Intensive Care 1995 Aug;23(4):521-2.
27. Chew GY, Phan TG, Quin JW. Anaphylactic or anaphylactoid reaction to Haemaccel? Med J Aust 1999 Oct 4;171(7):387-8.
28. Freeman MK. Fatal reaction to haemaccel. Anaesthesia 1979 Apr;34(4):341-3
29. Lorenz W, Doenicke A, Messmer K, Reimann HJ, Thermann M, Lahn W, Berr J, Schmal A, Dormann P, Regenfuss P, Hamelmann H. Histamine release in human subjects by modified gelatin (Haemaccel) and dextran: an explanation for anaphylactoid reactions observed under clinical conditions? Br J Anaesth 1976 Feb; 48(2):151-65

30. Sitarska E, Kostrzewska E, Konopka L, Sokolowska K. [Effect of gelatin and dextran infusion on the reticuloendothelial system]. Acta Haematol Pol 1979 Oct;10(4):275-81
31. Sirtl C, Salewsky G, Baier J, Lange S, Laubenthal H, Neumann HA. [Effect of colloidal plasma substitutes on liberation of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in human whole blood *in vitro*] Infusionsther Transfusionsmed. 1995 Dec;22(6):332-8.
32. C. Puttermann. Adult respiratory distress syndrome: Current concepts. Resuscitation 1988; 16: 91-105.
33. Anthony R. Dal Nogare. Southwestern Internal Medicine Conference: Adult respiratory distress syndrome. The Am J of Med Sciences 1989; 298: 413-430.
34. Ashbaugh D, Biegelow D, Petty T. Acute respiratory disease in adults. Lancet 1967; 2: 319-323.
35. Rocker G, Wiseman M, Pearson D, Shale D. Diagnostic criteria for Adult Respiratory Distress Syndrome: time for reappraisal. Lancet 1989; 21: 120-123.
36. Articas A, J Carlet, J R Le Gall, C Chastang, L Blanch and R Fernández. 1991. Clinical presentation, prognostic factors and outcome of ARDS in the European Collaborative Study (1985-1987): a preliminary report. In W. M. Zapol and F. Lemaire, editors. Adult Respiratory Distress Syndrome. Marcel Dekker, New York. 37-64.
37. Flein A, Wiener-Kronish J, Niederman M, Matthay M. Patophysiology of the adult respiratory distress syndrome. Acute Lung Injury 1986; 2: 120-123.
38. Zimmerman G, Renzetti A. Functional and metabolic activity of granulocytes from patients with adult respiratory distress syndrome. Am Rev Respir Dis 1983; 127: 290-300.

39. Chollet S, Montravers P, Gilbert C, Elbim C, Desmonts J. Relationship between polimorfonuclear neutrophils and cytokines in patients with adult respiratory distress syndrome. Ann N Acad Sci 1994; 354-366.
40. Sandborg R, Smolen J. Early biochemical events in leukocyte activation. Lab Invest 1988; 59(2): 300-320.
41. Windsor A, Mullen P, Fowler A, Sugerman H. Role of the neutrophil in adult respiratory distress syndrome. Acute Lung Injury 1986; 2: 120-123.
42. Thommasen H, Russel A, Boyho W. Tresient leukopenia associated with adult respiratory distress syndrome. Lancet 1984; 1: 809-812.
43. Lukacs N, Strieter R, Chensue S, Kunkel S. Tnf alpha mediates recruitment of neutrophils and eosinophils during airway inflammation. J Immuno 1995; 154: 5411-5417.
44. Sherry B, Cerami A. Cachectin/Tumor Necrosis Factor exert endocrine, Paracrine and autocrine control of inflammatory responses. J Cell Biol 1988; 107: 1269-1277.
45. Nicola N. Cytokines and their receptors, a Sambroo and Tooze publication at Oxford University Press New York, 1994.
46. Donelly T, Meade P, Jagels M, Cryer H. Cytokine, complement and endotoxin profiles associated with the development of the adult respiratory distress syndrome after severe injury. Critical care Medicine 1994; 22(5): 768-776.
47. Donelly SC. Interleukin-8 and development of adult respiratory distress syndrome in at risk patient groups. Lancet 1993; 341; 643-647.
48. Tamez V. Estudios de toxicidad dérmica de la T-514 (Peroxisomicina A1) aislada del género *Karwinskia* en conejos Nueva Zelanda. Tesis doctoral. Abril 2001.

49. Steven M, Min H, Alan L, William H, Jianyi W, Gerald M, David K, Wayne W, Leah E, Shawkat D. Tumor Necrosis Factor-α plays a central role in Interleukin-2 induced pulmonary vascular leak and lymphocyte accumulation. Cell Immunol 1994;157:170-180.
50. Santoyo M. Efecto de la peroxisomicina A1 sobre el hígado de ratón tratado con clofibrato. Tesis de mestría. Febrero 2002.
51. Michel D, Lui G, Michel W, André C. A mouse model of injury induced by microbial products: implication of Tumor Necrosis Factor. Am J Resp Cell and Mol Biol 1994;10:658-664.
52. Torsten T, Concepción M, Antoni T, Hernan C, Xavier F, Abel M, José-Maria N, Elisabet Z. Comparison of systemic cytokine levels in patients with acute respiratory distress syndrome, severe pneumonia, and controls. Thorax 2000;55:46-52.
53. Falfán V R. Factor de necrosis tumoral: Actividad biológica en neumopatías intersticiales. Rev Inst Nal Enf Resp Mex 2002 15(1):48-53.
54. Song Yong, Shi Yi, Alden H and Xianzhong M. Induction of type II alveolar epithelial cells apoptosis in mouse by lipopolysaccharide does not require TNF-α. Chin Med J 2003;116(4):625-629.
55. Gómez M, Garza L, Waksman N, Piñeyro A. Detección de los metabolitos de la toxina T-514 (Peroxisomicina A1) del género *Karwinskia in vivo* e *in vitro*. Ciencia UANL 2002;5(4):485-492.

# APÉNDICE

## A. Técnica de inclusión en resinas epóxicas

1. Obtener y fragmentar el pulmón con una navaja de bisturíe en trozos de aproximadamente 1 $mm^3$ en una caja de Petri con solución fijadora.
2. Sumergir en solución fijadora de Karnovsky-Ito (Apéndice H) por 30 min a temperatura ambiente o toda la noche a 8 °C.
3. Lavar en buffer de cacodilatos al 0.1 M (Apéndice I) por 5 min, 3 veces.
4. Postfijar en tetraóxido de osmio al 2 % por 30 min.
5. Lavar en buffer de cacodilatos al 0.1 M por 5 min, 3 veces.
6. Contrastar en bloque con nitrato de uranilo al 1 % por 30 min.
7. Lavar en buffer de cacodilatos al 0.1 M por 5 min, 3 veces.
8. Deshidratar en acetona al 30, 50, 70 y 90 % por 5 min en cada una, y en acetona al 100 % por 5 min, 3 veces.
9. Preincluir en acetona-epon 1:1 por 60 min a temperatura ambiente o toda la noche a 8 °C.
10. Incluir en epon puro (Apéndice J) por 60 min a temperatura ambiente, colocar las muestras en moldes y polimerizar a 60 °C por 24-72 h.

**NOTA:** Los bloques se dejan enfriar, se extraen del molde y se rebajan bajo microscopía estereoscópica. Para observar las muestras en el microscopio de luz de campo claro, se cortan en el ultramicrotomo con cuchilla de vidrio y se tiñen con azul de toluidina (Apéndice B). Para observar las muestras en el microscopio electrónico de transmisión, se cortan con cuchilla de diamante, se colocan en rejillas de cobre y se contrastan (Apéndice C).

**B. Tinción de cortes semifinos con azul de toluidina**

1. Obtener varios cortes semifinos de 650 nm de grosor.
2. Colocar los cortes en un portaobjetos limpio.
3. Pegar los cortes al portaobjetos usando una placa caliente.
4. Colocar una gota de azul de toluidina (Apéndice K) sobre los cortes y dejarlos sobre la placa caliente por 10 seg aproximadamente.
5. Lavar cuidadosamente el portaobjetos con agua ultrapura.
6. Secar suavemente el portaobjetos con una gasa limpia.

**C. Contrastación de cortes finos**

1. Obtener varios cortes finos de 100 nm de grosor.
2. Montar los cortes en rejillas de cobre.
3. Colocar las rejillas con los cortes hacia abajo sobre una gota de acetato de uranilo (0.5 g de acetato de uranilo disuelto en alcohol etílico al 50 %), en una caja de Petri limpia.
4. Lavar las rejillas sobre gotas de agua ultrapura por 1 min y dejar secar.
5. Colocar las rejillas sobre gotas de citrato de plomo al 0.4 % (0.04 g de citrato de plomo en 10 ml de agua ultrapura más 3 gotas de hidróxido de sodio para ayudar a disolver).
6. Lavar las rejillas sobre gotas de agua ultrapura por 1 min y dejar secar sobre papel filtro en una caja de Petri cerrada y etiquetada.

**D. Cuantificación de TNF-α por el método de ELISA**

Para determinar el TNF-α en suero y en el sobrenadante del homogenado pulmonar de los ratones se utilizó el kit comercial ID *ELISA*™ Mouse TNF-α (IDEL-MuTa-96) de ID Labs Inc. Este kit es un inmunoensayo enzimático tipo sandwich, con el cual se cuantifican las formas libres de TNF-α de ratón. El modo de visualización es por medio de la enzima fosfatasa alcalina conjugada a streptavidina, a la cual se le agrega un sustrato cromogénico.

Primero se reconstituyeron los siguientes reactivos:

1. Anti-TNF-α de ratón biotinilado con 3.5 ml de diluyente.
2. TNF-α recombinante de ratón con 1 ml de diluyente.

Se desempacó la placa de plástico con 96 pocillos de microtitulación precubiertos con anticuerpo anti-TNF-α de ratón. En los primeros pocillos y por duplicado se dispensaron 100 μl de cada estándar de TNF-α recombinante de ratón que se prepararon a las siguientes concentraciones: 1600 pg/ml, 400 pg/ml, 100 pg/ml y 25 pg/ml, el diluyente se utilizó como blanco (0 pg/ml).

En los siguientes pocillos se dispensaron 50 μl de diluyente y 50 μl de cada una de las muestras problema, todos por duplicado. Las muestras problema fueron los "pools" de suero y de sobrenadante de homogenado pulmonar.

Una vez colocadas todas las muestras se realizó el siguiente procedimiento:

1. Incubar a temperatura ambiente por 1 h. En este paso se une el TNF-α a los anticuerpos unidos a la placa.

2. Dispensar 25 μl de anticuerpo anti-TNF-α conjugado con biotina e incubar a temperatura ambiente por 3 h. Durante este paso, el TNF-α libre se unió a los anticuerpos unidos a la placa y a los anticuerpos conjugados con biotina.
3. Lavar los pocillos con buffer de lavado. Este proceso se realizó en un lavador automático de placas de ELISA previamente programado con 2 ciclos de 5 lavados cada uno, en los cuales se dispensaron 250 μl de buffer de lavado a cada pocillo previa aspiración del contenido de los mismos. El intervalo de tiempo de espera entre ambos ciclos fue de 5 min. Al terminar este proceso se sacudió la placa sobre papel secante para retirar el remanente de buffer. La finalidad de este paso es retirar el anticuerpo conjugado con biotina que no se unió a TNF-α.
4. Dispensar 50 μl de fosfatasa alcalina conjugada con estreptavidina a cada pocillo e incubar a temperatura ambiente por 45 min. En este paso, la estreptavidina se une a la biotina ligada a los anticuerpos unidos a TNF-α.
5. Lavar los pocillos con buffer de lavado igual que en el paso 3. El propósito de este paso es retirar el exceso de fosfatasa alcalina conjugada con estreptavidina que no se unió.
6. Dispensar 200 μl de cromógeno en cada uno de los pocillos y dejar incubar durante 15 min. La finalidad de este paso es revelar la presencia de anticuerpo anti-TNF-α.
7. Colocar la placa en el lector de placas de ELISA y proceder de inmediato a su lectura a una longitud de onda de 490 nm.
8. Realizar una curva de calibración de TNF-α, graficando la absorbancia de los estándares en función de la concentración (Apéndice E, fig. 18).

9. Calcular mediante un análisis de regresión lineal la concentración de TNF-α en las muestras problema, tomando en cuenta un factor de dilución de 2.

## E. Curva patrón de TNF-α

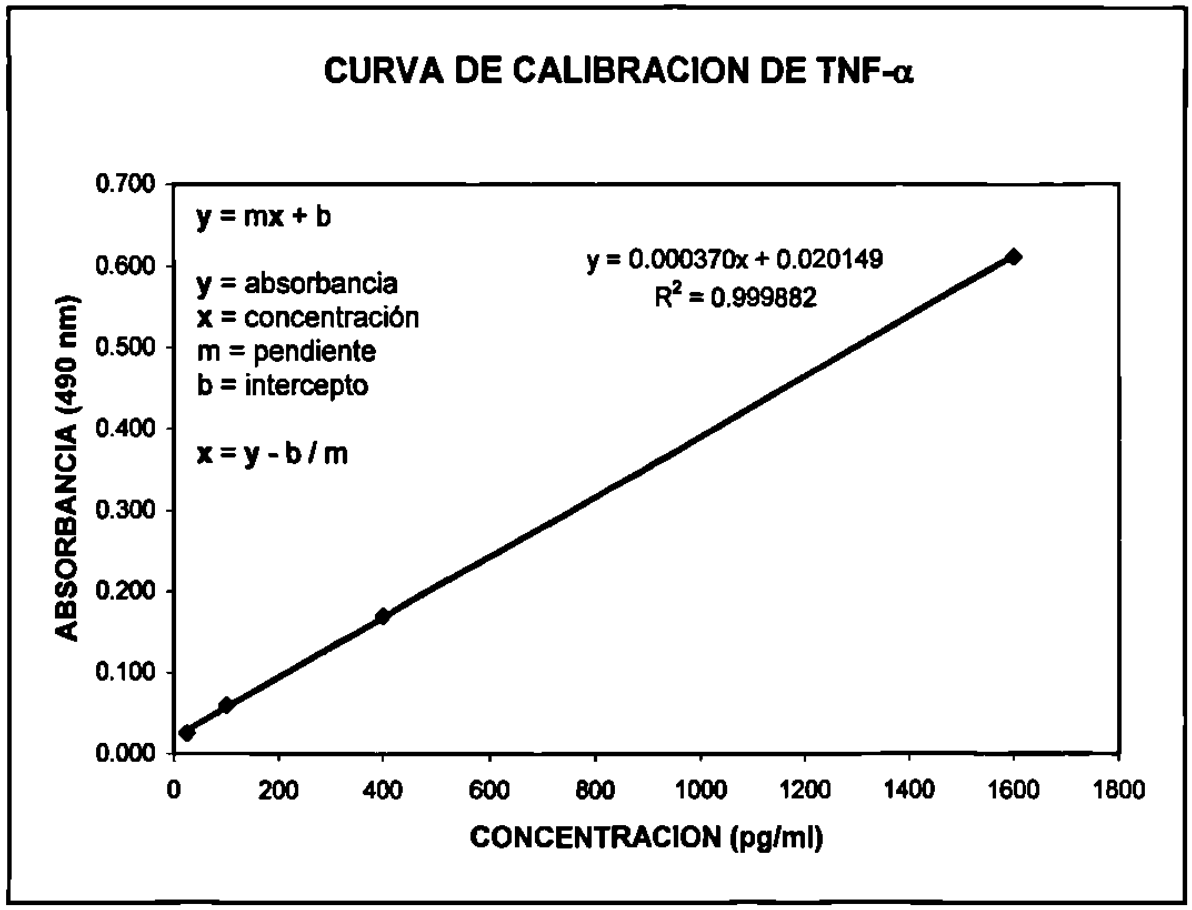


**Figura 18.** Curva patrón de TNF-α, cada punto representa el valor promedio de la absorbancia de cada estándar utilizado y resultan del análisis de 2 determinaciones. Se incluye la ecuación utilizada para calcular la concentración de TNF-α en las muestras problema.

**F. Determinación de la concentración de proteínas por el método de Lowry**

Primero se obtuvo una curva patrón de proteínas, para lograr esto se utilizó albúmina sérica bovina a concentraciones conocidas. La albúmina fue pesada en una balanza analítica y se preparó un estándar concentrado de 2 mg de albúmina en 10 ml de agua ultrapura. A partir de éste se obtuvo una alíquota de 200 μg/ml y posteriormente se obtuvieron 0.4 ml de cada una de las siguientes concentraciones estándar: 20, 18, 16, 14, 12, 10, 8, 6, 4 y 2 μg/ml y se usaron 0.4 ml de agua ultrapura como 0 μg/ml. Se aplicó el método de Lowry que se describe abajo, desde el paso 4 hasta el final.

Se graficó la absorbancia obtenida en función de la concentración de albúmina y de esta manera se obtuvieron 5 curvas de calibración estándar por triplicado. Posteriormente se integraron y se obtuvo el promedio de las 5 curvas con su desviación estándar. Una vez obtenida esta curva patrón de proteínas (Apéndice G, fig. 19) se calculó la concentración de proteínas en los alíquotas de sobrenadante de homogenado pulmonar, usando un análisis de regresión lineal y tomando en cuenta un factor de dilución de 2. Después se obtuvo la cantidad total de proteínas por volumen total del sobrenadante de homogenado. Se utilizaron alíquotas de sobrenadante en una dilución 1:200.

Pasos del Método de Lowry:

1. Tomar 0.5 ml de cada alícuota de sobrenadante de homogenado pulmonar en tubos de ensayo y precipitar proteínas con 1 ml de ácido tricloroacético al 10 %. Dejar reposar por 30 min.
2. Centrifugar a 3000 r.p.m. por 30 min. Decantar el sobrenadante y dejar secar cada tubo de ensayo sobre papel absorbente.
3. Agregar 0.4 ml de agua ultrapura a cada tubo.

4. Agregar 0.4 ml de la solución C (Apéndice L). Reposar por 10 min a temperatura ambiente.
5. Agregar 0.2 ml de una mezcla de Folin-Ciocalteau al 2 N y agua ultrapura. Dejar reposar por 30 min a temperatura ambiente.
6. Medir la absorbancia en el espectrofotómetro de luz-UV a una λ de 660 nm.

## G. Curva patrón de proteínas

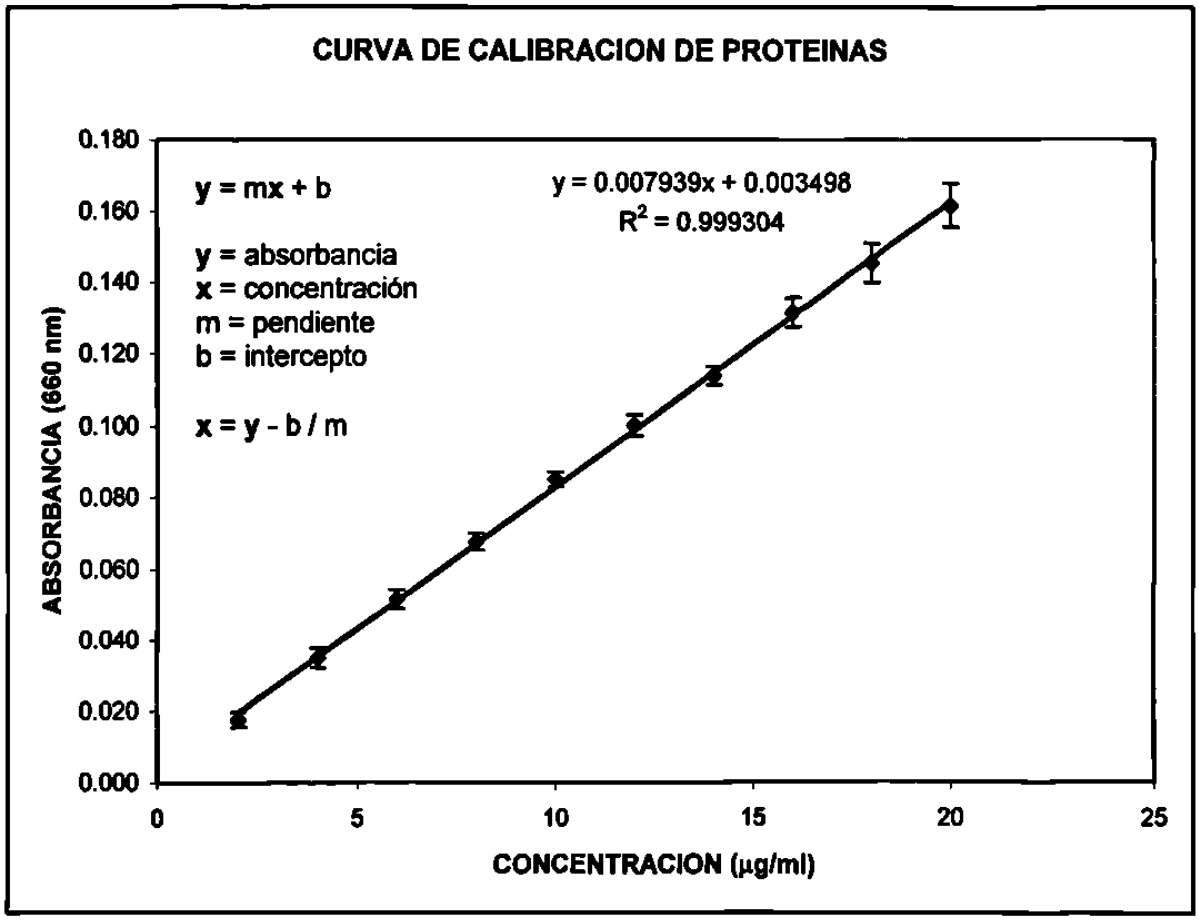


**Figura 19.** Curva patrón de proteínas, cada punto representa el promedio de 5 curvas de calibración con su desviación estándar. Los puntos de cada curva de calibración resultaron del análisis de 3 determinaciones. Se incluye la ecuación utilizada para calcular las concentraciones en las muestras problema.

**H. Preparación de fijador de Karnovsky-Ito**

1. Disolver 16 g de paraformaldehído en 400 ml de agua ultrapura.
2. Calentar sin llegar al punto de ebullición bajo una campana de extracción.
3. Agregar varias gotas de hidróxido de sodio (de 2 a 11 gotas) para quitar la turbidez.
4. Dejar enfriar bajo la campana de extracción.
5. Agregar 400 ml de buffer de cacodilatos al 0.1 M y a pH de 7.2-7.4 (Apéndice I).
6. Agregar 32 ml de glutaraldehído al 25 %.
7. Agregar 0.08 g de ácido pícrico.
8. Mezclar vigorosamente.
9. Se almacena a 4 °C en un frasco de vidrio ámbar.

**I. Preparación de buffer de cacodilatos al 0.1 M**

**Preparar una solución A**

1. Se ocupa un volumen de 200 ml de agua ultrapura.
2. Agregar 8.56 g de cacodilato de sodio y mezclar.

**Preparar una solución B**

1. Se ocupa un volumen de 25 ml de agua ultrapura.
2. Agregar 0.5 ml de ácido clorhídrico.

**NOTA:** Se utilizan los 200 ml de la **solución A** y se le agregan 10.8 ml de la **solución B**, se afora a 400 ml con agua ultrapura y se ajusta el pH a 7.4 con hidróxido de sodio.

**J. Preparación de resinas epóxicas (consistencia suave)**

Para preparar epon suave se mezcla cuidadosamente lo siguiente:

| | |
|---|---|
| Resina | 27 g |
| DDSA | 21.5 g |
| NMA | 8.5 g |
| DMP30 | 1 g |

NOTA: Una vez preparado, se guarda dentro de jeringas en el congelador.

**K. Preparación de azul de toluidina**

1. Agregar 5 g de borato de sodio en 100 ml de agua ultrapura y calentar hasta que se disuelva.
2. Agregar 1 g de azul de toluidina y agitar hasta disolver.
3. Filtrar para usarse.

**L. Preparación de la solución C**

Tartrato de sodio y potasio al 0.6 %, sulfato de cobre al 0.3 %, carbonato de sodio al 30 %, hidróxido de sodio al 0.8 N y agua ultrapura.

**NOTA:** Se tomaron en cuenta las siguientes cantidades para cada tubo:

| | |
|---|---|
| Tartrato de sodio y potasio | 0.033 ml |
| Sulfato de cobre ($CuSO_4$) | 0.033 ml |
| Carbonato de sodio ($Na_2CO_3$) | 0.033 ml |
| Hidróxido de sodio (NaOH) | 0.100 ml |
| Agua ultrapura ($H_2O$) | 0.200 ml |

# RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

**Jaime García Juárez**

**Candidato para el Grado de**
**Maestría en Ciencias con especialidad en Morfología**

**Tesis: CUANTIFICACIÓN DE PMN, LINFOCITOS Y MACRÓFAGOS ALVEOLARES EN EL PULMÓN DEL RATÓN ALBINO TRATADO CON UNA DOSIS TÓXICA DE PA1 EN HAEMACCEL Y SU RELACIÓN CON EL TNF-α**

**Área de Estudio: Morfología**

**Biografía:**

**Datos personales:** Nacido en Guadalupe, Nuevo León, México. El 10 de Agosto de 1970. Hijo del Sr. Francisco García Hernández y la Sra. Josefina Juárez Rodríguez. Actualmente, casado con la Dra. Patricia Galván Gálvez.

**Escolaridad**: Egresado de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León en 1994. Grado obtenido: Médico Cirujano Partero en Mayo de 1997.

**Experiencia profesional:** Instructor de prácticas de la materia de Histología de 1989 a 1993. Servicio Social de Medicina en la Jurisdicción I de la S.S.A. de San Luis Potosí, S.L.P., de Agosto de 1994 a Julio de 1995. Consulta General en Clínica y Maternidad Alba de Abril de 1997 hasta Septiembre de 1999. Participación como profesor en la Aplicación del Exámen de Aptitudes Académicas *The College Board* a los alumnos de primer ingreso a Medicina en 1999, 2000 y 2001. Participación como profesor en el Curso de Capacitación para el Exámen Nacional de Residencias Médicas con el Tema: Tejidos Básicos en 1999, 2000 y 2001. Participación en el XX Congreso Nacional de Investigación Biomédica en Octubre de 2002 y en el XXI Congreso Nacional de Investigación Biomédica en Octubre de 2003. Participación como instructor de prácticas del curso de Histología de Postgrado de Septiembre de 2003 a Febrero de 2004. Profesor de prácticas de Histología de Pregrado desde Septiembre de 1997 y de teoría de Histología de Pregrado desde Septiembre de 2000 hasta la fecha, en la Facultad de Medicina de la U.A.N.L.