

**ESTANCIA PROFESIONAL – VERANO 2018
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDREICO GÓMEZ**

Dra. Contreras Ramos Alejandra

Alumno: Velazquez Toledano Jazziel

El día 30 de agosto del presente año comencé la estancia profesional en el HIM (Hospital Infantil de México), lugar en el que estaría las siguientes 6 semanas. Recuerdo perfectamente aquella mañana, me sentía nervioso y ansioso por encontrarme por primera vez en un laboratorio fuera de la UAMC, la doctora me recibió cordialmente y de inmediato comenzó a presentarme a todos aquellos que colaboraban con ella, y quienes serían mis maestros y guía durante el verano, conocí a la Dra. Adda quien durante la penúltima semana me impartió un curso de bioinformática, la Dra. Guadalupe quien adquirió el grado en Biología Molecular y me mostró formas alternativas para realizar extracciones de DNA y RNA (Principalmente automatizadas), la laboratorista Lucy quien siempre me mostraba el uso correcto de los aparatos de laboratorio; así mismo, la Dra. Alejandra me presentó a sus estudiantes quienes me hablaron de sus trabajos y en momentos pude colaborar y aprender de ellos, Ricardo que está en su cuarto año de doctorado y estudia la diferenciación sexual en peces, con el objetivo de generar un súper macho YY, Damián quien estudia la maestría en Biomedicina Molecular investiga algunos factores moleculares de las cardiopatías congénitas, Diana quien es estudiante de QFB y realiza su tesis de licenciatura generando cardiopatías congénitas a ratones para posteriormente observar y diferenciar los miocitos por citometría de flujo y realizar inmunofluorescencia, finalmente, quién en este periodo se unió a su equipo investigando algunos miRNAs que regulen la diferenciación celular en el corazón, mi compañero de licenciatura, Luis Edgar.

Al terminar mi primer día, sabía que mi estancia ahí sería fabulosa, desde un inicio y posterior a la presentación, Diana y la Dra. Alejandra me mostraron el correcto manejo de roedores en bioterio, la forma en que deben sujetarse, inyectarse intraperitonealmente y trasladarse de una caja a otra, la importancia de la limpieza de sus cajas y de su identificación sexual. Más tarde volvimos al laboratorio con algunos de los ratones, no sabía exactamente lo que iba a suceder, pero me sentía entusiasmado por aprender, pues en la universidad jamás había trabajado con animales, en ese momento, ya en laboratorio me enseñaron a sacrificar a los ratones por dislocación, pues lo que se trata es evitar que el ratón sufra dolor durante su sacrificio, y no únicamente es por ética, sino también está indicado en las normas mexicanas de trabajo con animales para experimentación; posterior a ello expuse sus órganos y los identifiqué, cuando tuve ubicado el corazón comencé

a perfundirlo evitando que le quedaran coágulos de sangre debido a que lo utilicé para posteriores cortes histológicos. [Fig.1]



Fig.1 Perfusión al corazón de ratón posterior a su sacrificio.

Esa primer semana fue a lo que principalmente me dediqué, a trabajar con roedores para que poco a poco pudiese mejorar mi técnica de manejo y sacrificio. Entre las distintas visitas que realicé al bioterio, hice un nuevo amigo, el Dr. Raúl, quien se percató de mi interés por estos animales, ya que en cada visita veía las distintas cepas con que contaban, los ratones con pelo y sin pelo, como se veían a lo largo de su etapa de crecimiento y sobre todo las condiciones bajo las cuales se encuentran viviendo. Me explicó que el aire que tienen las cajas se encuentra purificado y es por ello que las cajas están conectadas con mangueras a unos tanques, que existe un máximo de roedores por caja según las normas mexicanas, por qué se deben sujetar a los ratones de la cola e incluso me permitió observar otros animales que tienen ahí, como conejos, hámsteres y una rata que la verdad si me daba un poco de miedo tocar, pues según me comentó es de los animales más agresivos y por su tamaño me asustó un poco, medía alrededor de 40 cm de la cola a la nariz, era enorme; pero finalmente y un poco temeroso, la manipulé.



Fig 2. En esta imagen me encuentro sujetando un hámster, debido a que no poseen una larga cola no pueden sujetarse de esa forma, siempre hay que tomarlos de una manera rígida pero que a la vez no se les impida por completo el movimiento y, sobre todo, estar al pendiente de su boca, pues tiene dientes largos que podrían causar alguna herida. Al fondo se observa el Dr. Raúl y en la parte inferior la caja de donde fue tomado el hámster.

La segunda semana estuve trabajando con Ricardo, le ayudé a realizar inmunofluorescencias con algunos anticuerpos mientras el corazón que había obtenido la semana pasada comenzaba a deshidratarse cambiando en diferentes concentraciones de etanol; Ricardo me comentó que a lo largo del desarrollo en los organismos existe 3 etapas de diferenciación sexual, la primera sucede durante la fecundación y recombinación del material genético, pues es ahí cuando se sabe si la carga será XX o XY, la segunda se da algunas semanas después (en humanos) en donde comienzan a formarse los gametos, ya sea ovarios o testículos, y finalmente la tercera diferenciación se da en una etapa cercana al nacimiento, entre el sexto y séptimo mes de gestación, en la cual sucede la diferenciación sexual a nivel cerebral: él lo trabaja en peces, obteniendo así hembras masculinizadas a nivel cerebral o machos feminizados de la misma forma, esto con el objetivo de generar un súper macho, un pez cuya carga genética sea YY y su comportamiento sea masculino, el objetivo de este pez es una posible patente, pues toda la progenie del mismo sería macho, debido a la carga cromosomal.

La función de una inmunofluorescencia es observar un proceso biológico a nivel celular mediante una tinción, en este caso se hizo en células de cerebro de pez con el objetivo de observar si se encontraban en apoptosis o que mensajeros se encontraban predominantes para ver si se diferenciaría normalmente o sería un macho feminizado o hembra masculinizada; las únicas tinciones que hice fueron para evaluar células en apoptosis, cuando se encuentran en este proceso poseen características particulares que nos permiten identificarlas, por lo cual los anticuerpos fungen como reporteros en este caso, evalué 4 componentes apoptóticos, los primeros dos fueron FAS y FASL que son ligandos de muerte en la membrana plasmática, esto quiere decir que otra célula llega, la toca y le dice que es momento de morir, otro anticuerpo iba sobre caspasa 9, la cual es una proteína que logra desencadenar una cadena de caspasas las cuales tienen como objetivo romper y disgregar todos los componentes celulares, y finalmente un anticuerpo que iba sobre Citocromo C, que involucra a la apoptosis intrínseca, la cual se da cuando este citocromo es liberado por las mitocondrias al citosol. Posteriormente se colocan anticuerpos secundarios, los cuales se van a unir a los primarios (anclados Citocromo C, caspasa 9, FAS y FASL), cuando ya se encuentren unidos, el revelado lo observé con un microscopio confocal que ilumina todo en colores con respecto a los anticuerpos unidos, viendo así si se encuentran o no en apoptosis las células.

Mi tercer y cuarta semana fue enfocada a realizar algunas extracciones de DNA, RNA, la realización de PCR, RTPCR y qPCR; técnicas que ya había llevado a cabo en la Universidad, sin embargo, en el hospital me mostraron algunas otras formas de realizarlas, principalmente con la ayuda de máquinas que hacen el trabajo más preciso, eficaz y en menor tiempo, pues mientras yo hago una extracción de RNA e aproximadamente 8 horas, la máquina hacía 30 extracciones en 75 minutos.

Mi quinta semana en el hospital estuve tomando un curso de bioinformática con la Dra. Adda, en el cual aprendí a realizar primers para las PCR, árboles filogenéticos, así como el uso de distintos softwares que me permitían un mejor análisis de resultados, como la expresión en CHIP.

Finalmente la última semana estuve en un congreso de resistencia antimicrobiana, este fue efectuado en el hospital y distintos ponentes me introdujeron al mundo actual de la farmacología, la posible existencia de una pandemia, así como la ineficacia actual de los antibióticos; la Farmacología es un área a la que pienso incluirme este último año de la carrera y sin duda esa semana del congreso me dio un panorama de lo que actualmente se hace, carencias y posibles soluciones a distintas problemáticas. En resumen considero excelente la estancia profesional que realicé, me permitió crecer y perder el miedo a muchísimas cosas, el conocer a las doctoras fue bastante grato, pues ellas me dijeron que existen muchos investigadores prepotentes que únicamente querrán hacerme menos, pues soy alumno de licenciatura, sin embargo que jamás lo permita, que todos comenzamos así, desde abajo, desde la licenciatura y es mejor estar en un lugar donde me sienta cómodo a trabajar con el mejor investigador del mundo que únicamente me trate mal.