

**Introducción:** en el humano, el osteosarcoma (OS) es un tumor maligno primario de hueso, principalmente de huesos largos, siendo las extremidades inferiores las más afectadas. Su diseminación hacia el pulmón reduce significativamente las expectativas de vida de los individuos afectados. Para el mejor entendimiento de las bases celulares del OS en el humano y su posible tratamiento con betasitosterol, diseñamos un modelo de cáncer óseo en el fémur de ratas Sprague Dawley (SD) con benzopireno perifemoral (BZPp), un hidrocarburo altamente genotóxico. **Objetivo:** conocer por histología y microscopía electrónica de transmisión (MET) las alteraciones celulares intramedulares de fémures tratados con BZPp para compararlas con lesiones convencionales intramedulares descritas en humanos con OS. **Material y métodos:** las ratas se manejaron con estricto apego a la NOM-062-ZOO-1999. Bajo anestesia con isoflurano, se aplicaron 300 microlitros de BZPp (25 mg/kg, disuelto en DMSO) a la extremidad izquierda de ratas macho SD (200 g), cada 24 h/4 semanas. Cada dos semanas se estimó su respuesta al tóxico por radiografía y tomografía axial computarizada y cada tres semanas en sangre, midiendo micronúcleos, velocidad de sedimentación de eritrocitos y actividad enzimática de la fosfatasa alcalina y la deshidrogenasa láctica. Para la histología, los fémures (tratados y control), se fijaron en formol a 10% en solución de Sorensen, pH 7.2 y embebidos en parafina, obteniéndose cortes sagitales de 3 micras teñidas (t) con H&E; y Masson. Muestras intramedulares de estos mismos fémures fueron refijadas en glutaraldehído a 2.5%, y luego tetróxido de osmio a 1% en el mismo amortiguador e incluidas en resina epóxica. Cortes semifinos (600-800 nm/t, toluidina) fueron para microscopía de luz y ultrafinos (80 nm/t, acetato de uranilo y citrato de Pb) para MET. **Resultados:** por histología, el hueso cortical del fémur tratado con BZPp se ve íntegro, en cambio el trabecular está adelgazado y fracturado. En el canal medular, hay tejido tumoral maligno que reemplaza y sustituye a la médula ósea sana. Los osteoblastos malignos con aspecto plasmocitoide sugieren la presencia de RER abundante (sin afinidad tintorial) en zonas perinucleares claras, otros tienen núcleos atípicos grandes (cuboides) y otros más son fusiformes; en cortes semifinos, algunos osteoblastos sin membrana nuclear muestran figuras mitóticas atípicas y la formación de múltiples polos mitóticos en la membrana plasmática irregular. Por MET, se aprecian las dilataciones quísticas con ribosomas adheridos del RER abundante en las zonas perinucleares claras de osteoblastos malignos; en los núcleos de estas células cancerosas, la cromatina aparece con una distribución heterogénea atípica (electrodensa, compacta, laxa o rechazada hacia la membrana nuclear con nucléolos conservados de gran tamaño) y en un caso con probables inclusiones lipídicas. **Conclusiones:** la descripción de las alteraciones estructurales y celulares en la médula ósea del fémur de las ratas tratadas con BZPp, estudiadas por histología y/o por MET, revela una neoplasia intramedular similar al OS osteoblástico intramedular del humano.

### 03 Expresión de integrinas durante la regeneración de la punta de los dedos del ratón

David Garcíadiego Cázares,\* María Elena Contreras Figueroa,\*<sup>‡</sup> Sandra Julieta García López,\*<sup>‡</sup> René Fernando Abarca Buis\*<sup>§</sup>  
 \* Instituto Nacional de Rehabilitación «Luis Guillermo Ibarra Ibarra», México. <sup>‡</sup> UITTCyMR.  
<sup>§</sup> Laboratorio de Tejido Conjuntivo.

**Introducción:** la actividad de la matriz ungueal y del blastema de regeneración son claves durante la regeneración de la punta de los dedos. También, el recambio de componentes de la matriz extracelular (MEC) como la colágena, la fibronectina y laminina, entre otros, es un proceso dinámico que es crucial durante la regeneración y cicatrización. Las integrinas son los principales

receptores de la MEC y controlan la proliferación, diferenciación, migración y muerte celular. Sin embargo, aunque se han descrito varios procesos celulares durante la regeneración del dedo, aún no se tiene evidencia concreta del patrón de expresión de las integrinas y su papel durante la regeneración de la punta del dedo. **Objetivo:** determinar el patrón de expresión de las integrinas de la familia  $\beta 1$  durante la regeneración temprana del dedo del ratón, enfocándonos principalmente en la matriz ungueal (MU), el blastema de regeneración (BR) y la placa de crecimiento (PC), para determinar el papel de las integrinas en la regeneración de la punta del dedo. **Material y métodos:** a ratones CD1 de tres días de nacidos se les amputó la punta de los dedos 2, 3 y 4 de la pata derecha y los dedos sin amputar de la pata izquierda sirvieron como controles experimentales. La amputación se realizó a nivel del primer pliegue del cojinete dejando la base de la uña intacta, esta amputación distal permite la regeneración completa a los 28 dpa (días postamputación). Los dedos amputados y no amputados se colectaron a los días 1, 3, 7, 14 y 28. Las muestras se fijaron y procesaron para realizar cortes histológicos de 4  $\mu\text{m}$  de grueso. A los cortes se les realizó tinción de Herovici para determinar el recambio de la colágena. También se les hicieron inmunohistoquímicas para las integrinas (Itg): Itg $\alpha 2$ , Itg $\alpha 6$ , Itg $\alpha 5$  e Itg $\alpha V$ ; así como para Msx1 y Msx2 que son marcadores de regeneración del blastema y la matriz ungueal; y de Sox9, Ihh, PTHrP y Runx2 para evaluar la diferenciación de los condrocitos de la placa de crecimiento. **Resultados:** la expresión de Itg $\alpha 2$  en la región distal del muñón del hueso a los 3 dpa indica su relación con la histólisis y retracción del hueso, posiblemente mediante la activación de metaloproteinasas. La Itg $\alpha 6$  se expresa en la matriz ungueal del dedo sin amputar, pero a los 3 dpa disminuye su expresión en la región proximal, mientras que la expresión de Msx1 y Sox9 aumentan en la matriz ungueal y en el pliegue proximal de la uña; así, la regulación negativa de la Itg $\alpha 6$  en la matriz ungueal podría ser necesaria para la migración celular hacia el lecho ungueal durante la regeneración. A los 3 dpa la expresión de Ihh aumenta drásticamente y con ello la expresión de la Itg $\alpha 5$  únicamente en los condrocitos prehipertróficos, pero a los 7 dpa la Itg $\alpha 5$  se sobreexpresa en todo el cartilago al igual que PTHrP; Runx2 se expresa hasta los 14 dpa cuando se está formando nuevamente el hueso. Finalmente, para la formación del blastema la Itg $\alpha V$ , Msx2 y PTHrP pueden ser importantes ya que se expresan a los 7 dpa en la región del blastema en formación. **Conclusiones:** las integrinas tienen un patrón de expresión diferencial durante la regeneración de la punta del dedo y se relacionan con diferentes procesos: la Itg $\alpha 2$  con la histólisis ósea del muñón, la Itg $\alpha 6$  con la migración celular en la matriz ungueal, la Itg $\alpha 5$  con la diferenciación de los condrocitos y la Itg $\alpha V$  con la formación del blastema.

### 04 Micro-ARNs como biomarcadores moleculares para el diagnóstico de artritis reumatoide

Joel Alejandro Díaz De La Rosa,\* Aleksandra Alarcón Evtoukh,<sup>‡</sup> Daniel Esquivel,<sup>§</sup> David Robles Salas,<sup>¶</sup> Arturo Simoni,<sup>||</sup> Denise Clavijo Cornejo<sup>||</sup>  
 \* Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. <sup>‡</sup> División de Reumatología, Universidad Autónoma Metropolitana, México.  
<sup>§</sup> Universidad Veracruzana. <sup>¶</sup> División de Reumatología, Instituto Nacional de Rehabilitación «Luis Guillermo Ibarra Ibarra», México. <sup>||</sup> Laboratory of Liver Metabolism, The Roger Williams Institute of Hepatology, United Kingdom.

**Introducción:** la artritis reumatoide (AR) es una enfermedad auto-inmune que afecta articulaciones y puede llevar a la discapacidad. A nivel mundial, tiene una prevalencia de 1%, mientras que en México es de 1.6%. Afecta a mujeres mayores de 40 años. Los mecanismos fisiopatológicos de la AR aún no se comprenden com-

pletamente. Sin embargo, los micro-ARN (miARN) pueden ayudar a identificar los genes expresados en esta enfermedad. Los miARN son moléculas de ARN cortas, que varían entre 19 y 25 nucleótidos, que participan en la regulación postranscripcional, influyendo en numerosos procesos biológicos. La desregulación de los miARN puede contribuir a la progresión de múltiples enfermedades. **Objetivo:** evaluar el papel del miR-126 y miR-3,188 en la identificación de la susceptibilidad a la artritis reumatoide en familiares de primer grado con esta enfermedad. **Material y métodos:** se recopilaron datos clínicos, antropométricos y demográficos de cada uno de los tres grupos estudiados: pacientes con AR, familiares y controles. Se recolectaron muestras de sangre periférica para la extracción de ARN y ADN. Se realizaron análisis mediante RT-qPCR utilizando el equipo Rotor-Gene Q 5plex HRM system y el kit RT SYBR Green qPCR Mastermix, que incluye oligonucleótidos prediseñados para el miRNA-126 y miR-3188, empleando el gen RPL27 como referencia. Las muestras se almacenaron en un biobanco a  $-80^{\circ}\text{C}$ . **Resultados:** se analizó una población final de 31 participantes, en su mayoría mujeres: 29 mujeres (93.55%) y 2 hombres (6.45%); 83.87% de los participantes proviene del centro del país, siendo la Ciudad de México la mayor representante con 67.74%. Además, se observó que la mayoría de los padres y abuelos de la población estudiada también eran originarios de la Ciudad de México (93.55 y 45.16%, respectivamente) y del Estado de México (16.13 y 32.2%, respectivamente). Las características demográficas, clínicas y de laboratorio de la población mostraron que los valores de  $p$  no fueron significativos, indicando que las características de los grupos son similares y no introducen sesgos en el análisis de la expresión de miRNA. El análisis de la expresión del miR-126 en sangre periférica mediante RT-PCR en tiempo real no mostró una diferencia significativa ( $p = 0.5256$ ), mientras que el miR-3,188 disminuyó su expresión en el grupo de AR comparado con los controles ( $p = 0.0255$ ), no se encontró diferencia entre el grupo control y los familiares ( $p = 0.5689$ ). **Conclusiones:** la población de estudio, así como sus padres y abuelos, pertenecen principalmente a la zona centro del país, con un mayor número de ellos establecidos en la Ciudad de México. No se encontraron diferencias significativas en los datos demográficos, clínicos y de laboratorio. La expresión del miR-3188 se sugiere como biomarcador en el diagnóstico de AR.

#### 05 Estudio del microsatélite Rep-1 del gen alfa sinucleína en pacientes con la enfermedad de Parkinson idiopática

Arturo Gálvez Rosas,\* Cristian Marroquí Sánchez,\*<sup>‡</sup>  
Rogelio Paniagua Pérez,\*<sup>§</sup> Paul Carrillo Mora,\*<sup>¶</sup>  
José A Martínez Cortez,\*<sup>||</sup> Claudia Hernández Arenas,\*<sup>\*\*</sup>  
Antonio Verduzco Mendoza,\*<sup>‡‡</sup> Alberto Ávila Luna,\*<sup>‡</sup>  
Antonio Bueno Nava\*<sup>‡</sup>

\* Instituto Nacional de Rehabilitación «Luis Guillermo Ibarra Ibarra», México. <sup>‡</sup> Neurociencias Básica.

<sup>§</sup> Servicio de Bioquímica. <sup>¶</sup> Neurociencias Clínicas.

<sup>||</sup> Servicio de Neurología. <sup>\*\*</sup> Servicio de Daño Cerebral Adquirido. <sup>‡‡</sup> Bioterio y Cirugía Experimental.

**Introducción:** la enfermedad de Parkinson (EP) es un padecimiento neurodegenerativo, altamente incapacitante que se manifiesta clínicamente por los síntomas motores como temblor en reposo, bradicinesia, rigidez muscular e inestabilidad postural. Cuando es diagnosticada la EP, en el cerebro del paciente ya se han degenerado más de 70% de las neuronas dopaminérgicas. Por lo tanto, es importante la búsqueda de un biomarcador confiable para el diagnóstico y crucial para la evolución del padecimiento. En el gen de la alfa sinucleína ( $\alpha$ -Syn), se ha identificado un dinucleótido de tipo microsatélite denominado Rep-1 que podría utilizarse como un biomarcador de riesgo en la EP. **Objetivo:** evaluar las variantes del

microsatélite Rep-1 del gen  $\alpha$ -Syn en pacientes con la EP idiopática. **Material y métodos:** se realizó un estudio de casos y controles, donde se reclutaron 15 pacientes con EP en el Servicio de Neurología y 15 controles sin la enfermedad que fueron voluntarios de la consulta externa del Instituto Nacional de Rehabilitación «Luis Guillermo Ibarra Ibarra». Posteriormente se les tomó una muestra de sangre periférica para la extracción de ADN genómico. Para el análisis de la longitud de los fragmentos repetidos Rep-1 se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la genotipificación de los repetidos dinucleótidos se realizó en un secuenciador de ADN ABI PRISM 3500xL, usando estándares GeneScan FAM 500. Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS V23 para Windows. Se realizó estadística descriptiva mediante pruebas de tendencia central, y se revisó la posible asociación utilizando la prueba de  $\chi^2$  y  $t$  de Student. Además, se calculó la probabilidad de riesgo debido al reducido número de pacientes. **Resultados:** se analizaron 30 pacientes; 15 con diagnóstico de EP y 15 controles. El promedio de edad en los pacientes con EP idiopática fue de  $65 \pm 6.4$  años, y de  $61 \pm 6.1$  años en los controles sanos. Por otra parte, en cuanto al género, hubo 5 (33.3%) hombres y 10 (66.7%) mujeres en ambos grupos, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas. El análisis de los fragmentos mostró que el alelo Rep-1 de 265 pb fue el alelo más frecuente en ambos grupos (63.3%), seguido por la variante Rep-1 de 267 pb con una frecuencia de 20% en los pacientes y 23.3% en los controles. Se formaron tres grupos de variantes alélicas; alelo corto (246, 248, y 257 pb), alelo intermedio (265 pb) y alelo largo (266, 270 pb). Donde se pudo observar una mayor significancia de los alelos más largos con los pacientes con EP con una probabilidad de riesgo de 1.37 y una  $p = 0.09$ . **Conclusiones:** la identificación del microsatélite Rep-1 del gen  $\alpha$ -Syn está mostrando una tendencia de los alelos de mayor tamaño ( $> 265$  pb) como un factor de riesgo para presentar la EP idiopática.

#### 06 Implementación del sistema CRISPR/Cas13 para la degradación del RNA mensajero mutante de ATXN7 de la ataxia espinocerebelosa tipo 7

Marco Jácome Del Ángel,\* Mauricio Hernández Somilleda,\*<sup>‡</sup>  
Rocío Suárez Sánchez,<sup>§</sup> José Manuel Hernández Hernández,\*<sup>‡</sup>  
Oscar Hernández Hernández<sup>§</sup>

\* Centro de Investigación y Estudios Avanzados, México. <sup>‡</sup> Genética y Biología Molecular. <sup>§</sup> Medicina Genómica, Instituto Nacional de Rehabilitación «Luis Guillermo Ibarra Ibarra», México.

**Introducción:** la ataxia espinocerebelosa tipo 7 (SCA7) es un raro trastorno neurodegenerativo autosómico dominante caracterizado por ataxia progresiva y deterioro visual. Esta enfermedad ocurre debido a la expansión de repetidos CAG en el gen ATXN7, la cual provoca que la proteína afectada tenga una ganancia de función tóxica, causando el secuestro de diferentes moléculas. Debido a que la SCA7 es una enfermedad incurable, existe la necesidad de desarrollar terapias más efectivas para su tratamiento. Es por esto por lo que este trabajo pretende desarrollar un sistema que degrade el ARN mensajero mutado de SCA7 usando el sistema CRISPR/Cas13 en fibroblastos derivados de pacientes con SCA7. **Objetivo:** implementar un método de degradación del ARN mensajero mutante de ATXN7 utilizando el sistema CRISPR/Cas13a a través de un sistema lentiviral. **Material y métodos:** se utilizaron fibroblastos humanos control (GM03440) y de SCA7 (GM03561) adquiridos del *Coriell Institute for Medical Research*; mediante PCR se analizó la presencia del SNP rs3774729, previamente asociado con la mutación de SCA7 y se confirmó la presencia de la mutación en los fibroblastos de SCA7 GM03561. Se diseñaron y clonaron en un sistema lentiviral crRNAs dirigidos a tres diferentes regiones del